مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۱، شماره ۴، سال ۱۳۷۹ (۶۸۷-۶۷۷)

بررسی تغییرات کمی و کیفی قندها طی فرآیند کنسرو تخمیری زیتون با روش کروماتوگرافی باکارآیی بالا

شهرام دخانی، صمد صبوری هلستانی و رضا شکرانی

به ترتیب دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، کارشناس ارشد صنایع غذایی موسسه تحقیقات برنج کشور، و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخ پذیرش مقاله ۷۹/۵/۵

خلاصه

چهار رقم زیتون، کالاماتا، ماری، زرد و فیشمی از شهرستان رودبار تهیه شد. این ارقام با دو روش، تخمیر طبیعی و تخمیر هدایت شده باکشت آغازگر *Lactobacillus plantarum* که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰۰ روز فرآیند شد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصول اندازه گیری شد، شناسایی و اندازه‌گیری قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز با روش کروماتوگرافی باکارآیی بالا انجام گرفت. ارزیابی قندهای ارقام چهارگانه زیتون نشان داد که قند غالب در آنها گلوکز بوده و میزان کل سه قند گلوکز، فروکتوز و ساکارز در حدود ٪ ۲-۱/۵ وزنی - حجمی بود. تغییرات کمی قندهای زیتون یک روند کاهشی را در طول تخمیر نشان داد ولی سرعت مصرف قندها در زیتون‌ها با هم متفاوت بود. تغییرات قندها نشان داد که بیشترین مصرف قند در روش تخمیر طبیعی بود و در کل در رقم کالاماتا مصرف قندهای سه‌گانه فوق در سطح بالاتری انجام گرفت.

واژه‌های کلیدی: زیتون، قند، تخمیر طبیعی، تخمیر اجباری، HPLC، کروماتوگرافی باکارآیی بالا

مقدمه

یکی از روش‌های عمده نگهداری مواد غذایی استفاده از فرآیند تخمیر است که طی آن مواد نگهدارنده طبیعی در ماده غذایی مورد نظر بوجود می‌آید. کاربرد این فرآیند در نگهداری میوه‌ها و سبزیجات علاوه بر افزایش عمر انبارمانی، به محصول تولید شده شرایط مطلوب‌تری برای مصرف می‌بخشد و تولید محصولات جدیدی را از ماده اولیه می‌کند، مانند خیارشور، کلم‌ترش و زیتون تخمیری. بر پایه پژوهش کریتساکیس و همکارش (۱۰) در سال ۱۹۸۷ متوسط ترکیب شیمیایی زیتون، حاصل از بررسی چهار هزار نمونه از شش کشور اروپایی و آفریقایی، بررسی شد که میزان کربوهیدرات موجود در این نمونه‌ها با میانگین ۱۹/۱ درصد وزنی - وزنی برآورد گردید. یک چنین بررسی در مورد زیتون‌های ایرانی نیز صورت گرفته است. نتایج حاصله نشان داد که در هر ۱۰۰ گرم میوه زیتون تولید داخل به طور متوسط ۱۰ گرم مواد قندی وجود دارد. لازم به ذکر است که ترکیب شیمیایی میوهٔ زیتون ممکن است تحت تأثیر عوامل محیطی، ژنتیکی و رشد، تغییرات قابل ملاحظه‌ای داشته باشد. در حالت رسیدگی مقدار آب و روغن میوه‌ها حدود ۹۰-۸۵ درصد وزن گوشت میوه را تشکیل می‌دهند. گلوکز قند اصلی میوه بوده و مقدار کمی فروکتوز، ساکارز، مانوز و گالاکتوز نیز در بعضی از ارقام شناسایی شده است (۱۰). پس از عمل تلخی زدایی با محلول رقیق سود

سوزآور، عمل شستشوی زیتون‌ها برای رفع قلیائیت از گوشت آنها صورت می‌گیرد. شستشوی زیتون‌ها باید به درستی انجام گیرد زیرا شستشوی کم باعث باقی ماندن سود سوزآور در گوشت زیتون‌ها می‌شود و نیز شستشوی زیاد باعث شسته شدن و از بین رفتن کربوهیدرات‌های موجود در میوه می‌گردد(۱۰). عمل تلخی زدایی همچنین باعث از بین رفتن موم لایه سطحی میوه زیتون شده، بنابراین نرم شدن میوه را تسهیل نموده و می‌تواند باعث انحلال مواد پلی ساکاریدی - پکتیکی میوه شود(۸). در فرآیند زیتون تخمیری فلور میکروبی سازگار با محیط تخمیر رشد کرده و با مصرف مواد مغذی موجود در ماده اولیه تولید موادی می‌کنند که می‌توانند عامل نگهداری، حفظ و یا ارتقاء کیفیت محصول باشند. معمولاً میکروارگانیسم‌ها برای رشد و فعالیت احتیاج به کربوهیدراتهای منو یا دی ساکاریدی دارند و در این میان بسته به نوع میکروارگانیسم، نوع و میزان مصرف قند متفاوت است. در اکثر تخمیرها کربوهیدراتهای مورد مصرف قندهای ساده موجود در میوه و سبزیجات مانند گلوکز، فرکتوز و ساکارز می‌باشند. در طی زمان تخمیر از مقدار آنها کاسته شده و بر مقدار مواد تولیدی حاصل از عمل تخمیر اضافه می‌گردد. تغییرات فیزیکوشیمیایی دیگری نیز در طول تخمیر انجام می‌گیرد. مثلاً مقدار قندهای احیاء کننده در محلول آب نمک دربر گیرندهٔ زیتون معمولاً کمتر از ۰/۱ درصد می‌باشد. خروج قندها از داخل بافت میوه با ملایمت صورت می‌گیرد. در طول تخمیر قندهای احیاء کننده توسط میکروارگانیزمها مصرف شده و تبدیل به اسید می‌گردند. مقدار کل قندهای احیاء کننده مانند گلوکز، فروکتوز و مانوز در میوهٔ زیتون حدود ۲/۵-۲ درصد وزنی - حجمی میوه زیتون بوده که در پایان دوره تخمیر مقدار آن به ۰/۵ درصد می‌رسد (۷). مقدار ساکارز معمولاً در آب نمک دربرگیرنده زیتون زیاد نیست و فروکتوز و گلوکز در غلظت های پایین در آب نمک موجوداند و طی فرآیند با تغییرات اندکی مواجه می‌شوند. دلیل این تغییرات جزیی این است که تعادلی بین استفاده قندها بوسیله میکروارگانیزمها در هر تیمار و انتشار و نفوذ آنها از میوه به داخل آب نمک برقرار می‌گردد (۶). علاوه بر آن چون تخمیر در یک محیط مایع انجام می‌گیرد، عامل انتشار مواد مغذی می‌تواند دلیل دیگری برای تغییرات میزان قندها باشد، که بستگی به نسبت نفوذ پذیری بافت خارجی میوه و همچنین غلظت قندهای مذکور در محیط مایع خواهد داشت. در تحقیق دیگری (۸) معلوم شده است که مقدار قند احیاکننده موجود در آب نمک دربرگیرنده زیتون نسبت به سایر سبزیجات دیگر کمتر می‌باشد و دلیل آن قابلیت نفوذ پوست زیتون نسبت به سبزیجات دیگر است که عمل عبور و انتشار قندهای فوق را در زمان طولانی‌تری انجام می‌دهند و دلیل آن را پیوند قندها با ملکول‌های پیچیده و کم محلول موجود در گوشت زیتون می‌دانند که هیدرولیز این پیوندها و انتشار مواد هیدرولیز شده میوه به داخل آب نمک را باکندی مواجه می‌کند. در بررسی دیگر (۶) معلوم شد که در تخمیر آب نمکی، زیتون‌هایی که پوست آنها برای افزایش قابلیت نفوذ مواد عمل اوری نشده‌اند و یا نارس هستند در مقایسه با میوه‌های رسیده، قابلیت نفوذ کمتری دارند که این خاصیت می‌تواند بر روند تخمیر اثر مشخص بگذارد. تغییرات اسیدیته قابل عیار سنجی با تعداد باکتری‌های تخمیر کننده ارتباط مستقیم دارد به طوری که هر چه تعداد آنها در طول زمان بیشتر شود مقدار مصرف قند و به دنبال آن تولید اسید افزایش می‌یابد. براساس تجربیات بوبیلو و همکارانش (۱) در سال ۱۹۹۱ معلوم شد که در میان قندها گلوکز سریع تر از فروکتوز مصرف می‌شود و همگام با آن در حین تخمیر همگن‌باعث تولید اسیدلاکتیک می‌گردد (۱).

مواد و روش‌ها

زیتون‌های مورد استفاده عبارت بودند از : کالاماتا : این رقم یک زیتون اصلاح شده است، میوه‌های آن درشت و گوشتی است و برای کنسرو سازی بکار می‌رود. رقم ماری : این رقم از قدیم الایام در ایران کشت می‌شود. میوه‌های آن کشیده و بلند بوده و عمق گوشت میوه‌های آن کم و چسبندگی کوشت به هسته کم است. رقم زرد : این رقم بومی ایران است. شکل میوه به صورت قلبی است که کمی کشیده می‌باشد، عمق گوشت متوسط و اندازهٔ آن نیز متوسط است. رقم فیشمی ، این رقم بومی ایران است. میوه‌های گرد و تخم مرغی شکل تقریباً بزرگی دارد، هستهٔ آن نیز گرد و بزرگ است، وزن میوه‌های آن زیاد بوده ولی میزان گوشت آن کم است. گوشت آن محکم به دیواره چسبیده است. این زیتون‌ها از شهرستان رودبار در استان گیلان تهیه و از هر رقم زیتون به میزان ۵۰ کیلوگرم خریداری شد.

دستگاه‌های مورد استفاده شامل دستگاه‌های خط تولید کنسرو موجود در کارگاه صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان و کروماتوگرافی مایع باکارآیی بالا ساخت شرکت شیمادزو ژاپن که

شامل قسمت‌های زیر می‌باشد سه پمپ با توان تولید فشار بالا و مدل پمپ LC-6A ، گرمخانه برای فراهم آوردن دمای خاص و کنترل دمای ستون، شناساگر ضریب انکسار سنجی، کنترل کننده سیستم، مجموع کروماتوپک (شامل چاپگر، قسمت نرم افزاری و مانیتور)، ستون اندازه گیری قندها، مدل SCR101N به ابعاد ۷/۹ × ۳۰۰ میلیمتر، محل تزریق نمونه با لوپ به ظرفیت حداکثر ۲۰ میکرولیتر، دستگاه سانتریفوژ ۶۰۰۰ دور در دقیقه مدل هیچ ، مواد مورد استفاده شامل استانداردهای قندها با خلوص بیش از ۹۹/۵٪ ، سود سوزآور و رزین‌های تعویض آنیون و کاتیون از کارخانه مرک آلمان.

برای تولید کنسرو عملیات زیر انجام گرفت :

ابتدا بازرسی میوه‌هاانجام گرفت و بعد از نظر اندازه عمل درجه‌بندی انجام شد. آنگاه عمل تلخی زدایی با سود سوزآور در سه مرحله طی سه روز انجام شد و پس از هر مرحله تلخی زدایی، زیتون‌ها آب کشی شدند. از نظر میزان نفوذ سود سوزآور به داخل گوشت زیتون نیز میزان نفوذ آن در طی سه مرحله تلخی زدایی کنترل شد و در مرحلهٔ سوم نفوذ آن به داخل گوشت زیتون کامل شد. سپس در روز چهارم با ۳ تا ۴ بار شستشوی زیتون‌ها با آب معمولی قلیائیت موجود در آنها رفع گردید. تا این مرحله فرآیند برای تمام روش‌ها یکسان بود و از این به بعد برای تولید کنسرو به دو روش اقدام گردید. این روش‌ها شامل تخمیر طبیعی و تخمیر هدایت شده می‌باشد.

تهیه کنسرو زیتون با روش تخمیر طبیعی(۱) :

در این روش چهار رقم زیتون کالاماتا، ماری، زرد و فیشمی به کار برده شدند. در این روش پس از تلخی زدایی، زیتون‌ها به مدت یک هفته در مخزن‌های پلی اتیلنی در باز در محلول ۲ درصد و ۰/۱ درصد اسید لاکتیک، نگهداری گردید. بعد از این مدت آنها را درون شیشه‌هایی به ظرفیت ۴۰۰ گرم ریخته و با محلول ۸ درصد نمک پر کرده و سپس از تونل هواگیری عبور داده شده و عمل دربندی انجام شد. سپس این شیشه‌ها به اتاق تخمیر با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی گراد منتقل شدند.

تهیه کنسرو زیتون به روش تخمیر هدایت شده (۳) :

در این روش نیز چهار زیتون کالاماتا، ماری، زرد و فیشمی به کار برده شدند. برای زیتون‌های تلخی زدایی شده، کنترل pH محلول دربر گیرنده و نیز pH گوشت زیتون‌ها انجام شد. پس از حصول اطمینان به اینکه pH آنها در محدودهٔ مطلوب قرار دارد (۶-۷ pH) ابتدا زیتون‌ها در آب جوش به مدت ۳ دقیقه قرار داده شده و سپس در آب جوشیدهٔ سرد شده، خنک گردیدند. آنگاه در داخل شیشه‌های ۴۰۰ گرمی پر شدند. از طرف دیگر برای پر کردن این شیشه‌ها، کشت لاکتوباسیلوس پلانتاروم *Lactobacillus plantarum* به تعداد ۱۰۰۰ یاخته در هر میلی‌متر مکعب در یک ارلن آماده گردید. در ادامه عمل محلول آب نمک استریل ۸ درصد تهیه شد. پس از افزودن محتویات ارلن کشت مادر به ۱۰۰ لیتر محلول آب نمک، محلول تلقیح شده اصلی بدست آمد. سپس شیشه‌های محتوی زیتون با محلول تلقیح شده پر شده و پس از عبور از تونل هواگیری و همچنین در بندی غیر قابل نفوذ، شرایط بی‌هوازی برای نشو و نمای لاکتوباسیلوس پلانتاروم آماده گردید، این شیشه‌ها نیز برای انجام عمل تخمیر به اتاق تخمیر با دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد منقل شدند. روند تخمیر با گذشت زمان با نمونه‌برداری و انجام آزمایشهای لازم بر روی این نمونه‌ها دنبال و کنترل گردید.

اندازه‌گیری قندهای زیتون :

برای اندازه گیری قندها به وسیله HPLC مراحل زیر اعمال شد (۳). آماده سازی فاز متحرک : برای این کار از آب مقطر دوبار تقطیر شده با pH خنثی استفاده گردید. آنگاه این آب از صافیهای تحت خلاء با منافذی به اندازه ۰/۴۵ میکرون عبور داده شد و عمل هواگیری به مدت ۲۰ دقیقه انجام گرفت و از آن به عنوان فاز متحرک در آزمایش استفاده گردید.

آماده سازی ستون‌های تعویض یون برای نمونه :

ستون‌هایی تهیه شد که یون ها و مواد مزاحم را از نمونه‌ها جدا کند. برای این منظور از رزین‌های تعویض یونی استفاده شد، که شامل دو نوع رزین تعویض کاتیون و رزین تعویض آنیون بودند.

تهیهٔ نمونه از زیتون :

تقریباً ۳۰ گرم زیتون از هر ظرف نمونه، برداشته شد و هستهٔ آنها جدا گردید، سپس گوشت زیتون‌ها در هاون چینی خوب ساییده شده و یکنواخت گردید. یک گرم از گوشت یکنواخت شده وزن شد و به آن ۹ میلی‌لیتر آب مقطر بدون یون اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با دستگاه شیکر یکنواخت شد و با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ گردید، محلول صاف شده فوقانی برای جدا کردن یونها و مواد مزاحم از داخل ستون‌های تعویض یونی

عبور داده شد. نمونه به دست آمده از صافی میلی پور ۰/۴۵ میکرون عبور داده شده و جمع‌آوری گردید و از آن برای تزریق به دستگاه HPLC استفاده شد.

برای تجزیهٔ قندها با روش کروماتوگرافی با کارآیی بالا از سیستم ایزوکراتیک و با یک پمپ با فشار ماکزیمم ۱۰۰PSI و سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷ میلی‌لیتر در دقیقه و دمای ستون جداکننده ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد و با شناساگر ضریب انکسارسنجی بود. ستون مورد استفاده به ابعاد ۷/۹ در ۳۰۰ میلی‌متر از نوع SCR-101N ویژه تجزیهٔ قندها، محافظ ستون، فاز متحرک آب دو بار تقطیر شده بدون یون با pH خنثی و سرعت چارت برابر ۵ میلی‌متر در دقیقه و مکانیزم تفکیک براساس غربالی یونی بود. آزمون به صورت دو تکراره با حجم ۱۰ میکرولیتر از دو نمونه انجام شد نتایج به دست آمده مربوط به سطح زیر منحنی‌ها نمونه و زمان ماندگاری هر منحنی ثبت شد.

تهیهٔ استاندارد قندها :

برای ارزیابی کیفی و کمی قندهای موجود در زیتون استاندارد کمی سه قند، ساکارز، گلوکز و فروکتوز در سه غلظت ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ درصد وزنی - حجمی هر کدام از قندهای خالص به وسیلهٔ توزین مقدار لازم و به حجم رسانیدن آنها با آب بدون یون در بالن ژوژه انجام گرفت. برای هر غلظتی دو تزریق به حجم ۱۰ میکرولیتر انجام گردید و اطلاعات مربوط به آنها ثبت شد و برای تهیهٔ نمودار استاندارد مربوط به هر قند مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین درصد بازیافت قندها :

یک نمونه مشخص گوشت زیتون که میزان قندهای آن اندازه گیری شده بود، انتخاب شد. سه بالن ژوژه ۱۰ میلی لیتری تهیه و در هر کدام دقیقاً میزان ۱ گرم گوشت یکنواخت شدهٔ زیتون ریخته شد. سپس ۱ میلی لیتر از محلول‌های ۱۰۰۰ پی پی ام استاندارد قندهای فروکتوز، گلوکز و ساکارز به ترتیب به ۳ بالن ژوژه اضافه گردید. آنگاه هر سه بالن با آب مقطر بدون یون به حجم رسانیده شدند. سپس تمام مراحلی که برای تهیه نمونه انجام گرفته بود، برای این نمونه‌ها انجام شد. سرانجام از نمونه‌های بدست آمده ۲ تزریق ۱۰ میکرولیتری انجام گرفت و نتایج ثبت گردید (۳).

روشهای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها :

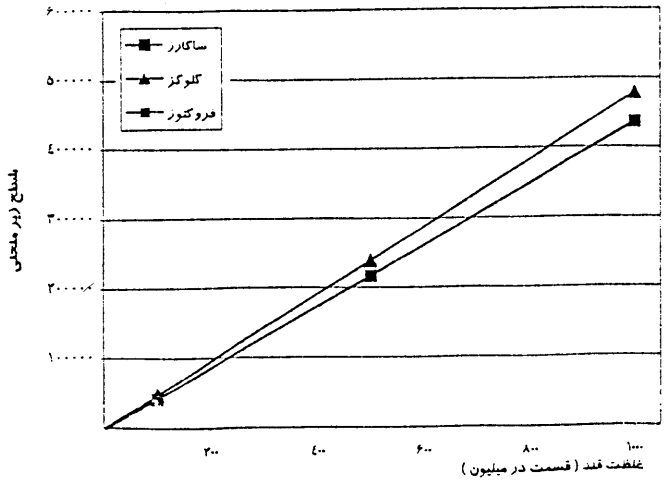
در این تحقیق تمام نمونه برداری‌ها به صورت تصادفی انجام گرفت. عوامل مؤثر بر فرآیند شامل ارقام زیتون و انجام تلقیح با مایع میکروبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و یا تخمیر طبیعی توسط میکروفلور موجود در زیتون و نیز زمان تخمیر مورد بررسی قرار گرفت. در تمام آزمون‌ها از تحلیل واریانس و نیز اثر متقابل میانگین‌ها استفاده شد و آزمون دانکن برای مقایسهٔ میانگین‌های تیمارهای مختلف و سطوح آنها به کار رفت. طرح آماری به صورت طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بود.

نتایج و بحث

پس از تزریق نمونه‌ها به دستگاه HPLC و تهیه منحنی حاصل از تزریق و ضبط آن ابتدا با مقایسه زمان ماندگاری منحنی‌های بدست آمده با استانداردهای قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز شناسایی شده و سپس سطح زیر هر منحنی با توجه به منحنی استاندارد مربوطه (شکل ۱) و با توجه به ضریب رقت که از نمونه گوشت زیتون تا تبدیل آن به نمونه انتهایی محاسبه گردید. غلظت قندهای سه‌گانه در گوشت زیتون در هر مرحله تعیین گردید. درصد بازیافت قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز در این آزمایش تعیین و در جدول شماره ۱ ثبت شد.

تغییرات قند ساکارز :

طبق کارهای انجام شده معلوم شد که مصرف ساکارز در ابتدای واکنش‌های تخمیر به دلیل وجود سایر قندهای منو ساکاریدی قابل توجه نیست و هنگامی مصرف آن آغاز می‌گردد که سایر ترکیبات مصرف شده باشند (۱۱). جدول شمارهٔ ۲ نتایج تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح را برای تغییرات ساکارز نشان

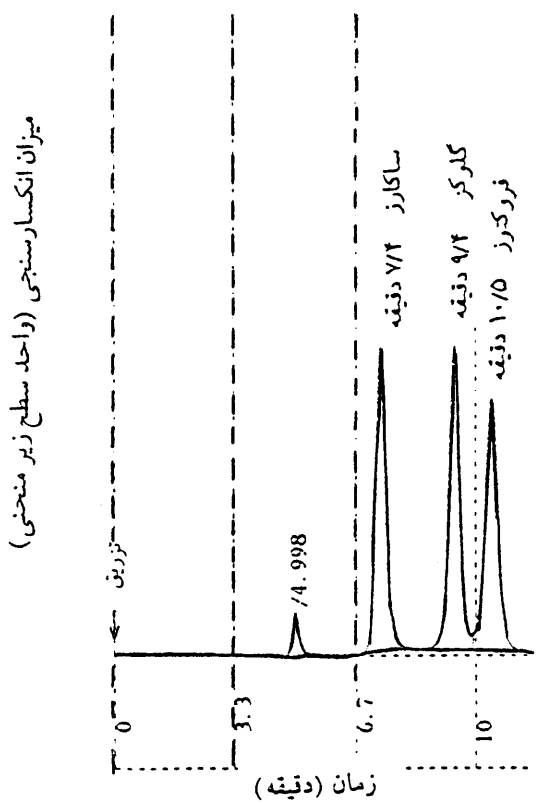


شکل ۱ - منحنی استاندارد ساکارز گلوکز و فروکتوز

می‌دهد و معلوم می‌دارد که در سطح یک درصد خطا، تمام عوامل به صورت معنی‌دار ظاهر شدند. نتایج جدول شماره ۶ تغییرات قند را برای ارقام مختلف نشان می‌دهد و معلوم می‌دارد که بیشترین تغییرات ساکارز را ماری تخمیری و کالاماتای تخمیری داشته‌اند و در یک گروه قرار گرفته‌اند و در حالی که کمترین تغییر مربوط به رقم زرد آب نمکی است، چهار رقم فیشمی آب نمکی، کالاماتای آب نمکی، زرد تخمیری و فیشمی تخمیری تغییرات قند بیشتری نسبت به زرد آب نمکی دارند و همگی در ردهٔ دوم قرار گرفته‌اند، ماری آب نمکی نیز بعد از این گروه قرار گرفته است. از نظر رقم زیتون بیشترین تغییر مقدار قند ساکارز به ترتیب در ارقام ماری، کالاماتا، فیشمی و زرد مشاهده است و از نظر تلقیح ارقام با تخمیر آب نمکی مقدار متوسط ساکارز بیشتری را از دست داده‌اند. شکل‌های ۳ و ۴ به ترتیب مصرف ساکارز را در زیتون‌ها با تخمیر طبیعی و تخمیر هدایت شده (اجباری) نشان می‌دهند که در تخمیر هدایت شده (اجباری) زمان مصرف قند ساکارز زودتر شروع شده است تا در تخمیر طبیعی. در تخمیر هدایت شده (اجباری) مقدار این قند در مدت بیست روز اولیه به نصف رسیده است در حالی که این مقدار کاهش در تخمیر طبیعی در روز چهلم تخمیر اتفاق افتاده است و بسته به رقم و نوع تخمیر، مقدار تغییر ساکارز فرق می‌کند. در هر دو مورد تغییرات قند ساکارز رقم ماری به چشم می‌آید. البته این نکته را نباید فراموش کرد که به دلیل قرار گرفتن زیتون‌ها در یک محیط مایع کم شدن قندهای آن می‌تواند تا حدی مربوط به خروج قند از بافت زیتون باشد.

تغییرات قند گلوکز:

طبق تحقیقات، سریع‌ترین تغییرات قند را گلوکز در فرآیندهای تخمیر از خود نشان داده است (۱۱). جدول ۳ تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح بر مقدار تغییرات قند گلوکز نشان داده شده است. اثر تمام عوامل در سطح یک درصد خطا به صورت معنی‌دار می‌باشد. جدول ۶ مقایسه میانگین ارقام زیتون را از نظر مقدار تغییرات گلوکز در سطح یک درصد خطا در آزمون دانکن نشان داده است و معلوم شد که بیشترین تغییرات به ترتیب برای ارقام کالاماتای آب نمکی و سپس کالاماتای تخمیری و در گروه سوم فیشمی آب نمکی و زرد آب نمکی و در گروه چهارم ۳ رقم ماری تخمیری، زرد آبنمکی و ماری آبنمکی و در نهایت فیشمی تخمیری کمترین تغییر قند گلوکز را داشته‌اند. از نظر رقم بیشترین تغییر مربوط به کالاماتا، سپس زرد، و سرانجام ماری و فیشمی بود که این دو با هم در یک گروه قرار گرفتند. از نظر وجود تلقیح، تخمیرهای طبیعی تغییر بیشتری را در مقدار گلوکز نشان می‌دهند تا تخمیرهای اجباری که در این میان رسیده‌تر بودن میوهٔ کالاماتا می‌تواند اثر بسزایی داشته باشد. شکل‌های ۵ و ۶ به ترتیب مصرف گلوکز را در تخمیر طبیعی و تخمیر هدایت شده (اجباری) برای چهار رقم زیتون نشان می‌دهند که در تخمیر طبیعی هر رقم با آهنگ خاصی گلوکز را مصرف می‌کند در حالی که در تخمیر هدایت شده (اجباری) این مصرف به صورت هماهنگ‌تری مشاهده شد و احتمالاً به این دلیل است که در تخمیر هدایت شده (اجباری) فلور میکروبی مصرف کننده، یکنواخت‌تر و یکدست‌تر بود، در حالی که در فلور میکروبی تخمیر طبیعی در هر زیتون میکروفلور خاص آن زیتون به فعالیت پرداخته و گلوکز را بنا به ذایقه خود مصرف کرده است.



شکل۲-منحنی تهیه شده‌ازقندهای‌موجوددرعصاره‌زیتون‌کالاماتای‌تخمیری‌درروز بیستم تخمیر با دستگاه HPLC در شرایط سیستم ایزوکراتیک، سرعت جریان فاز متحرک ۰/۷ میلی لیتر در دقیقه دمای ستون ۶۰ درجه سانتیگراد با شناسانگر آر-ای-دی

جدول ۱ - درصد بازیافت قندها در نمونه زیتون تهیه شده با دستگاه HPLC

نوع قند	میلی‌گرم قند اضافه شده	میلی‌گرم قند موجوددرنمونه	کل میلی‌گرم قند یافت‌شده‌درنمونه	درصد بازیافت
ساکارز	۱۰۰	۴۴/۷	۱۳۹/۱	۹۴/۴
گلوکز	۱۰۰	۱۳۱	۲۱۹/۱	۸۸/۱
فروکتوز	۱۰۰	۱۳۴	۲۱۸	۸۴

جدول ۲ - تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح بر مقدار مصرف قند ساکارز موجود در میوه زیتون در طول مدت تخمیر به مدت ۱۰۰ روز در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربع‌ها	میانگین مربع‌ها	F
تیمار	۵۲	۱۱۷۷۹۰/۶	۲۲۶۵/۲	۱۰۰/۵۳**
رقم	۳	۱۰۳۵۵/۰۰۳	۳۴۵۱/۶۶۸	۱۵۳/۱۸**
تلقیح	۱	۳۷۰۵/۱۴۳	۳۷۰۵/۱۴۴	۱۶۴/۴۳**
خطای آزمایشی	۱۰۷	۲۴۱۱/۰۳۷	۲۲/۵۳۳	

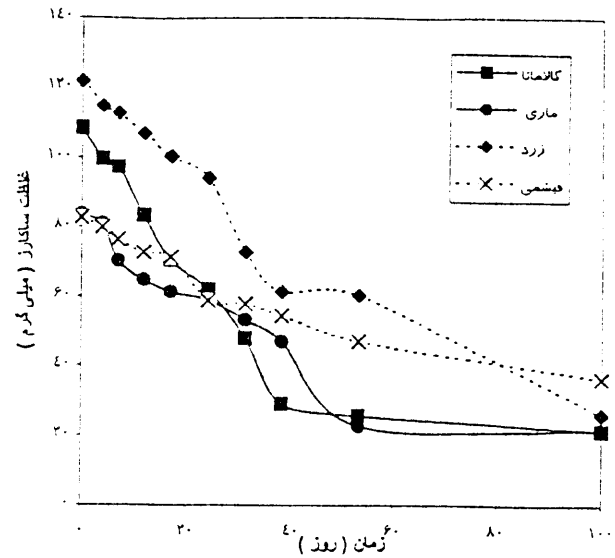
جدول ۳ - تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح بر مقدار مصرف قند گلوکز موجود در میوه زیتون در طول مدت تخمیر به مدت ۱۰۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	مجموع مربع‌ها	میانگین مربع‌ها	F
تیمار	۵۲	۲۰۶۳۴۴۵۳/۵	۳۹۶۸۱۷/۹۹	۱۰۵/۰۱**
رقم	۳	۳۵۰۶۰۸۶/۹	۱۱۶۸۶۹۵/۶	۳۰۹/۲۷**
تلقیح	۱	۵۲۶۲۳۴/۴	۵۲۶۲۳۴/۴	۱۳۹/۲۶**
خطای آزمایشی	۱۵۹	۴۲۳۸۵۴/۷	۴۰۹۸/۲	

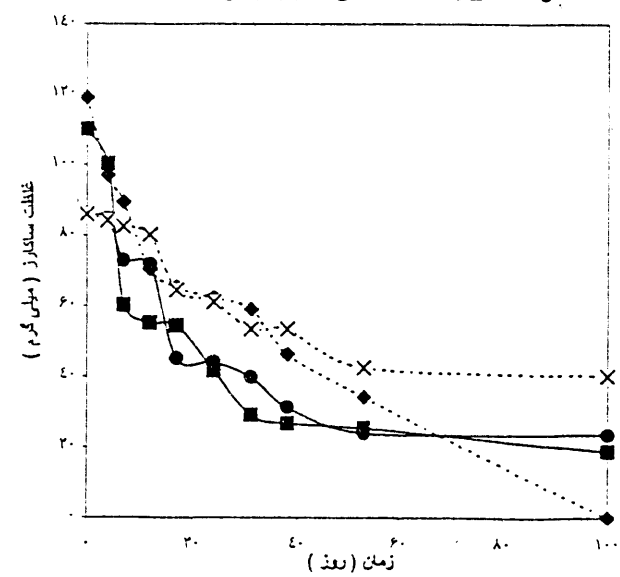
جدول ۴ - تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح بر مقدار مصرف قند فروکتوز موجود در میوه زیتون در طول مدت تخمیر به مدت ۱۰۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربع‌ها	میانگین مربع‌ها	F
تیمار	۵۲	۲۵۰۷۶۲۳/۱	۴۸۲۲۳/۵	۱۱۳/۷۸**
رقم	۳	۱۳۶۱۶۹/۳	۷۸۷۲۲/۱	۱۸۵/۷۴**
تلقیح	۱	۱۱۶۳۸۵/۲	۱۱۶۳۸۵/۲	۲۷۴/۵۹**
خطای آزمایشی	۱۵۹	۴۵۳۵۱/۴	۴۲۳/۸	

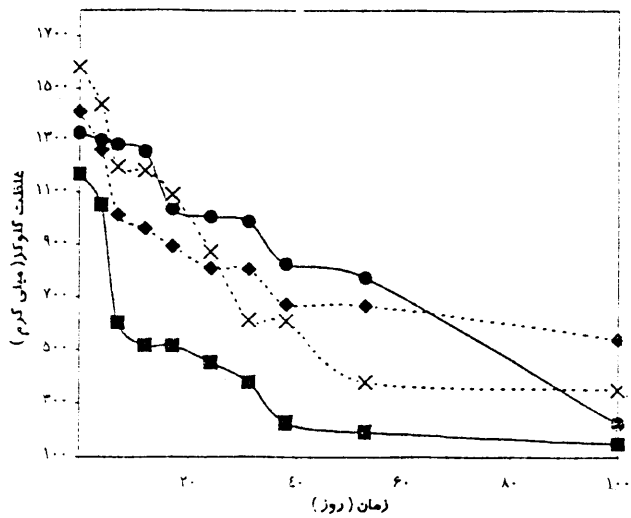
در تمام جداول فوق ** معنی‌دار در سطح ۱٪



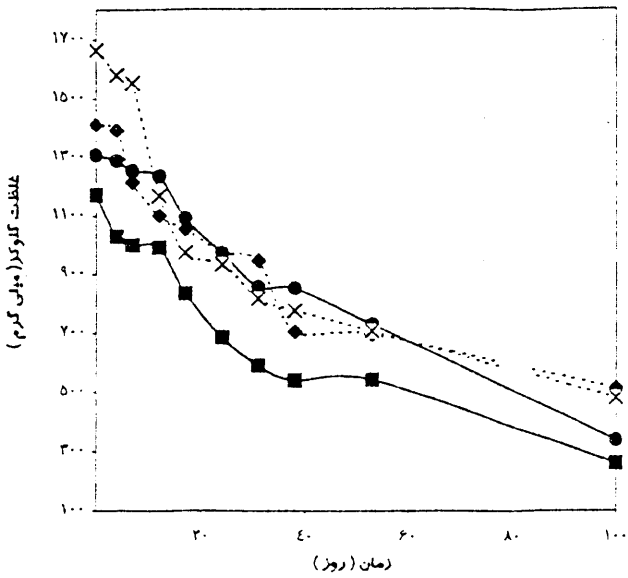
شکل ۳ - تغییرات ساکارز طی تخمیر طبیعی



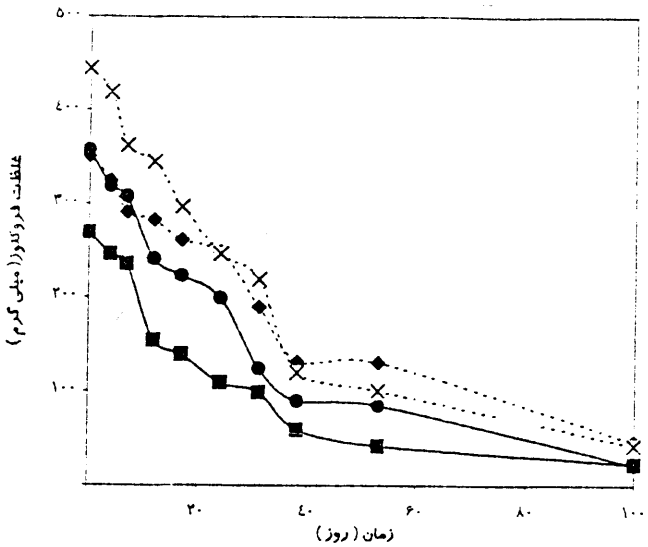
شکل۴- تغییرات ساکارز طی تخمیر اجباری



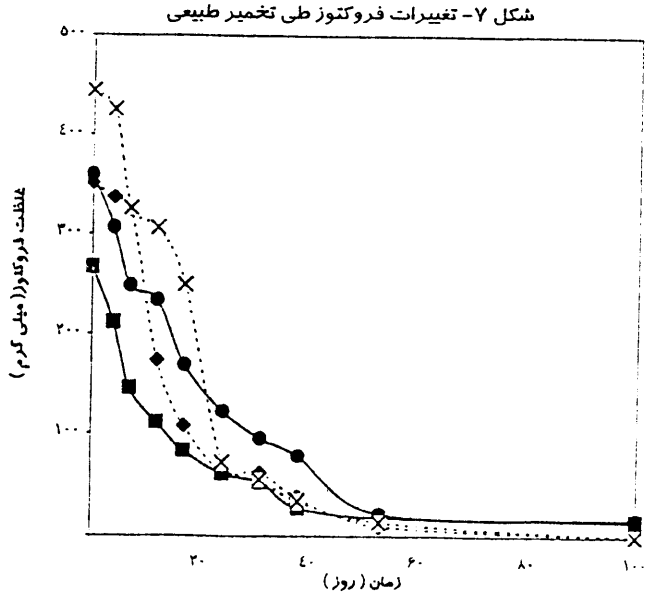
شکل ۵- تغییرات گلوکز طی تخمیر طبیعی



شکل ۶- تغییرات گلوکز طی تخمیر اجباری



شکل ۷- تغییرات فروکتوز طی تخمیر طبیعی



شکل ۸- تغییرات فروکتوز طی تخمیر اجباری

جدول ۵ - تغییرات مقدار قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز و درصد کاهش در میوه زیتون برحسب میلی گرم در صد گرم گوشت میوه زیتون در روزهای اول و آخر (روز صدام) تخمیر اندازه گیری شده با HPLC

نوع محصول	ساکارز			گلوکز			فروکتوز		
	روز اول	روز آخر	درصد کاهش	روز اول	روز آخر	درصد کاهش	روز اول	روز آخر	درصد کاهش
کالاماتای آب	۱۰۷	۲۱	۸۰	۱۱۶۸	۱۴۹	۸۷	۲۶۹	۲۳	۹۱
نمکی	۱۱۱	۲۲	۸۰	۱۱۷۳	۲۵۸	۷۸	۲۶۷	۱۵	۹۴
کالاماتای تخمیری	۸۴	۲۱	۷۵	۱۳۲۷	۲۲۴	۸۳	۳۵۷	۲۲	۹۴
ماری آب نمکی	۸۶	۲۴	۷۲	۱۳۰۹	۳۳۶	۷۴	۳۵۲	۱۷	۹۵
ماری تخمیری	۱۲۲	۲۶	۷۹	۱۴۰۹	۵۴۶	۶۱	۳۵۰	۴۶	۸۷
زرد آب نمکی	۱۲۰	۰	۱۰۰	۱۴۱۳	۵۱۰	۶۴	۳۵۱	۰	۱۰۰
زرد تخمیری	۸۴	۳۸	۵۵	۱۵۷۹	۳۵۴	۷۸	۴۴۴	۴۳	۹۰
فیشمی آب نمکی	۸۷	۴۲	۵۲	۱۶۶۴	۴۷۸	۷۱	۴۴۴	۰	۱۰۰
فیشمی تخمیری									

جدول ۶ - نتایج آزمون مقایسه میانگین به روش دانکن و سطوح مربوط به سه قند ساکارز، گلوکز و فروکتوز

رقم زیتون	میانگین و سطح آزمون دانکن برای ساکارز	میانگین و سطح آزمون دانکن برای گلوکز	میانگین و سطح آزمون دانکن برای فروکتوز
کالاماتای آب نمکی	۶۴/۵۳ B	۵۲۵/۲ E	۱۳۷/۷ E
کالاماتای تخمیری	۵۲/۱۰ D	۷۶۳/۶ D	۹۹/۴ F
ماری آب نمکی	۵۶/۴۲ C	۱۰۰۳ B	۱۹۶/۸ C
ماری تخمیری	۵۲/۲۲ D	۹۹۳/۹ B	۱۶۵/۳ D
زرد آب نمکی	۸۷/۰۹ A	۹۰۵/۴ C	۲۲۵/۶ B
زرد تخمیری	۶۴/۲۲ B	۱۰۰۲ B	۱۴۶/۷ E
فیشمی آب نمکی	۶۳/۷۳ B	۹۳۲/۴ C	۲۵۹/۴ A
فیشمی تخمیری	۶۴/۷۳ B	۱۰۶۵ A	۱۹۲/۴ C

تغییرات قند فروکتوز :

نتایج جدول ۴ نشان دهنده تحلیل واریانس اثر سطوح مختلف رقم و تلقیح بر روی تغییر مقدار فروکتوز در سطح یک درصد خطا می‌باشد و بیان می‌کند که اثر تمام عوامل به صورت معنی‌دار ظاهر شده است. در جدول ۶ مقایسهٔ میانگین‌های مقدار فروکتوز ارقام زیتون مشخص شده است که در مجموع مقدار تغییر به ترتیب در کالاماتای تخمیری در رده اول و در رده دوم دو رقم کالاماتای آبنمکی و زرد تخمیری و در رده سوم ماری تخمیری و در رده چهارم دو رقم فیشمی تخمیری و ماری آب نمکی و در رده‌های پنجم و ششم به ترتیب زرد آبنمکی و فیشمی آب نمکی قرار گرفته‌اند. اگرچه از نظر تغییرات فروکتوز ارقام کالاماتا در ردهٔ اول، ماری و زرد در رده دوم و فیشمی در رده سوم قرار گرفت و همچنین از نظر نوع تخمیر، تخمیر هدایت شده (اجباری) بیشترین تغییر را در فروکتوز میوه‌ها بویژه ارقام زرد و فیشمی ایجاد کرد و مقدار آن را به

حد صفر رسانید که این نتایج با نتایج کار مونتانا و همکارانش در سال ۱۹۹۳ (۱۱) مطابقت دارد.

طبق پژوهش های انجام شده (۶) معلوم گردیده است که در تخمیر زیتون هرچه فعالیت یاخته‌ها بیشتر باشد، سرعت مصرف قندهای احیای بالاتر است. کلاً مقدار قندهای احیا کننده در ارقام زیتون در حدود ۳-۲/۵ درصد بوده است و معمولاً تا روز پنجاهام تخمیر به سرعت از مقدار آنها کم می‌گردد و در روزهای صدم آزمایش، به حد ۰/۶ درصد می‌رسد (۱). رشد یاخته‌های تولید کننده اسید در زیتون کمتر از سایر سبزیجات است چون نفوذ قند از بافت زیتون کندتر صورت می‌گیرد تا سایر سبزیجات و نیز میوه‌های رسیده عموماً رشد یاخته‌ها را به دلیل قابلیت نفوذ پوستشان نسبت به مواد مغذی بیشتر تشویق می‌کنند (۶). مصرف کربوهیدراتها عموماً در روز دوم بعد از تلقیح شروع می‌شود، گلوکز و فروکتوز به وسیله لاکتوباسیلوس پلانتاروم مصرف شدند، اما در ابتدا، مصرف گلوکز سریعتر از مصرف فروکتوز بود، در حالی که مصرف ساکارز تا روز ۳۶ تخمیر قابل توجه نبود (۱۱). طبق تحقیقات (۶) درصد متابولیزه شدن قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز به ترتیب در حد ۲۷، ۹۰ و ۹۳ درصد قند اولیه بودند که در این ارزیابی درصد کاهش قندهای سه گانه محاسبه و نتایج آن در جدول شمارهٔ ۵ آمده است. تخمیر وقتی پایان یافت که قندهای احیا شده از بین رفته بودند. براساس پژوهش‌های انجام شده دیگر بر روی قند احیا شده زیتون (۴ و ۱۱) معلوم شده است که مقدار این قندها در کل در حدود ۳-۲/۵ درصد وزنی - حجمی است و بیشترین تغییر را در این میان فروکتوز و سریع‌ترین تغییر را گلوکز داشته است ولی ساکارز بعد از کم شدن دو قند فوق مصرف شده است و حدوداً از اواسط دوره تخمیر، تغییرات آن چشم‌گیر بوده است، اگرچه در ابتدای فرایند، سرعت مصرف گلوکز بیشتر از فروکتوز بود (۶ و ۱۱) و تخمیر هنگامی به پایان می‌رسد که مقدار قند احیا شده به حداقل مقدارش برسد و یا تمام شود (۵) که نتایج فوق با پژوهش‌های انجام شده تطبیق دارد.

REFERENCES

1. Bobillo. M and V.M.Marshall. 1991. Effect of salt and culture aeration on lactate and acetate production by *Lactobacillus plantarum*. Food Microbiol. 8(2): 153-160.
2. Brenes-Balbuena. M., P.Garcia-Garcia and A.Garrido-Fernandez. 1992. Phenolic compounds related to the black color formed during the Processing of ripe olives. J.Agric. Food Chem. 40(7): 1192-1196.
3. Dokhani. S., B.Ooraikul., M.Palcia and D.Hadziyev. 1988. High performance liquid chromatographic analysis of sugars in raw and processed potatoes. Iran Agricultural Research J. 7:23-36.
4. Duran. M.C., P.Garcia., M.Brenes and A. Garrido. 1994. Induced lactic acid fermentation during the preservation stage of ripe olives from hojiblanca cultivar. J.Appl. Bacteriol. 76(4): 377-382.
5. Duran. M.C., P.Garcia., M.Brenes and A. Garrido. 1994. *Lactobacillus plantarum* survival in aerobic, directly brined olives. J.Food. Sci. 59(6): 1197-1201.
6. Fernandez Diez. M.J. 1971. "The olive in biochemistry of fruits and their products". Academic Press. New York. 348 pp.
7. Garcia-Garcia. P., M. Duran-Quintana., C.Del., M.Brenes-Balbuena and A.Garrido-Fernandez. 1992. Lactic fermentation during the storage of Alorena cultivar untreated green table olives. J.Appl. Bacteriol. 73(4): 324-330.
8. Goupy. P., A.Fleuriet., M.J. Amiote and J.J.Macheix. 1991. Enzymatic browning, oleuropein content, and diphenol oxidase activity in olive cultivars (*Olea europaea* L.). J.Agric. Food Chem. 39: 92-95.

9. Jimenez. A., R.Guillen., C.Sanchez., F.Fernandez-Bolanos and A.Heredia. 1995. Changes in texture and cell wall polysaccarids of olive fruit during "spanish green olive" processing. J.Agric. Food Chem. 43(8): 2240-2246.

10. Kiritsakis. A and P.Markakis. 1987. Olive oil: A review. Advances in Food Research. 31: 453-482.

11. Montano. A. A.H.Sanchez and A.De Castro. 1993. Controlled fermentation of spanish-type green olives. J. of Food Sci. 58(4): 842-844 & 852.

Qualitative and Quantitative Change of Sugars in Processed Olives During Fermentation by HPLC

S. Dokhani, S. SABURI- HELESTANI AND R. SHOKRANI

Associate Professor, Former M.Sc. Student , and Assistant Professor, Department of Food Sci. and Technology, Faculty of Agriculture, Isfahan Univ. of Technology, Iran.

Accepted July 26, 2000

SUMMARY

Four cultivars of olive, Kalamata, Marri, Zard and Fishmi, obtained from Roodbar city were treated with two methods, natural and controlled fermentation with *Lactobacillus plantarum* as a starter culture at 25 ± 1 °C for 100 days. HPLC analysis experiments were conducted during the whole study. Individual sugar, sucrose, fructose and glucose was determined by HPLC. The results indicated that glucose was significant ($P<0.01$) among sugars. The amount of total sugars was 1.5-2% (w/v). Quantitative changes of sugars in olives showed a decreasing pattern with different rates during fermentation. This research showed that the highest change in sugar consumption occured in natural fermentation and mostly in C.Kalamata.

Key words: Olive, Sugar, Fermentation, HPLC