

www.mientayvn.com

Dịch tiếng anh chuyên ngành khoa học tự nhiên và kỹ thuật.

Dịch các bài giảng trong chương trình học liệu mở của học viện MIT, Yale.

Tìm và dịch tài liệu phục vụ cho sinh viên làm seminar, luận văn.

Tại sao mọi thứ đều miễn phí và chuyên nghiệp ???

Trao i tr c tuy n t i:

www.mientayvn.com/chat_box_sinh.html

PHẦN I. GIỚI THIỆU

Nguồn gốc của quá trình bảo quản rau quả bằng phương pháp lên men có từ thời cổ đại. Trên thế giới, hầu hết rau quả được lên men với qui mô nhỏ, như trong điều kiện gia đình hoặc bởi những người buôn bán nhỏ. Hiện nay có một số mặt hàng sản xuất dạng này như dưa bắp cải, dưa chuột muối chua và ôliu muối chua. Có ý nghĩa thương mại quan trọng và là tiêu điểm cho seminar này. Có sự gia tăng quan tâm trong phạm vi rộng các loại rau quả lên men khác và nước ép rau quả lên men, đặc biệt ở thị trường Châu Âu (Bảng 2.1); tuy nhiên, các dạng thương mại hầu hết được sản xuất với qui mô nhỏ (Buchenhuskes cùng cộng sự, 1990). Kimchi Hàn Quốc, mang tính truyền thống trong các bữa ăn gia đình, gần đây cũng đã được thương mại hoá (Cheigh & Park, 1994; Fleming cùng cộng sự, 1995a).

Việc nghiên cứu vi sinh vật trong quá trình lên men rau quả sớm bắt đầu vào những năm đầu 1900. Nhiều nghiên cứu vẫn có giá trị đến ngày nay, nhưng có nhiều thay đổi trong quá trình lên men rau quả với qui mô thương mại. Tiêu điểm nghiên cứu gần đây là việc rút bỏ nước muối, là vấn đề có ý nghĩa môi trường, và áp dụng việc cấy men giống điều khiển quá trình lên men để sản phẩm cuối cùng tăng tính vững chắc. Nhiều báo chí đã viết về chủ đề lên men rau quả, và người đọc được chỉ dẫn thêm thông tin về chủ đề này. (Daeschel cùng cộng sự, 1987; Buchenhuskes cùng cộng sự, 1990; Fleming cùng cộng sự, 1995a; Garrido-Fernandez cùng cộng sự, 1995).

Vi sinh vật tiêu biểu của rau quả tươi bị ảnh hưởng lớn bởi vi khuẩn gram âm hiếu khí và nấm men, trong khi mật độ vi khuẩn lactic tạo thành lúc đầu là thứ yếu (Mundt cùng cộng sự, 1967; Mundt & Hammer, 1968; Mundt, 1970; Schneider, 1988). Tuy nhiên, hầu hết rau quả hoặc nước ép của chúng chịu sự lên men lactic tự phát trong điều kiện yếm khí với độ ẩm, nồng độ muối và nhiệt độ được điều chỉnh thích hợp để vi khuẩn lactic có sự cạnh tranh thuận lợi. Sự phát triển của vi khuẩn lactic (Bảng 2.2) phụ thuộc vào thành phần hoá học (môi trường dinh dưỡng, nồng độ muối, pH) và tính chất vật lí (loại rau quả, nhiệt độ môi trường). Môi trường thay đổi trong suốt quá trình lên men, sinh vật chiếm ưu thế

thường là vi khuẩn có đặc điểm đặc biệt và sinh trưởng tốt. Vi khuẩn gram âm sớm bị ức chế trong quá trình lên men bởi muối thêm vào và acid tạo thành nhanh.

Bảng 2.1 Một vài sản phẩm rau quả lên men mang tính thương mại ở Châu Âu, Bắc Mỹ và Hàn Quốc.

| Sản phẩm thương mại chính | Sản phẩm thương mại phụ | |
|---------------------------|-------------------------|---------------------|
| Ôliu | Artisô | Cà chua xanh |
| Dưa bắp cải | Bắp cải | (Cà chua chưa chín) |
| Dưa leo | Capers | Kimchi ^a |
| | Cà rốt | Lupinus beans |
| | Cải bông | Dưa |
| | Cần tây | Ớt ngọt |
| | Cà tím | Ớt cay |
| | Tỏi | Củ cải đường |
| | Đậu xanh | Bắp cải đỏ |
| | | Củ cải |

Trích từ Buchenhiskes, 1993.

^a Sản phẩm có tính thương mại cao ở Hàn Quốc.

Bảng 2.2 Sản phẩm phức tạp của vi khuẩn lactic trong quá trình lên men rau quả.

| Vi khuẩn acid lactic | Dạng lên men | Các sản phẩm chính |
|--------------------------------|------------------|-----------------------------------|
| Hình dạng lactic | | |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | Lên men đồng thể | Lactate |
| L(+) | | |
| <i>Lactobacillus bavaricus</i> | Lên men đồng thể | Lactate |
| L(+) | | |
| <i>Lactobacillus brevis</i> | Lên men dị thể | Lactate, acetate, CO ₂ |
| DL | | |
| <i>Lactobacillus plantarum</i> | Lên men đồng thể | Lactate |
| D(-),L(+), DL | | |
| | Lên men dị thể | Lactate, acetate |

| | | |
|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------|
| D(-),L(+), DL | | |
| <i>Lactococcus lactis</i> | Lên men đồng thể | Lactate |
| L(+) | | |
| <i>Leuconostoc mensesteroides</i> | Lên men dị thể | Lactate, acetate, CO ₂ |
| D(-) | | |
| <i>Pediococcus pentosaceus</i> | Lên men đồng thể | Lactate |
| DL, L(+) | | |

Trích từ Fleming cùng cộng sự (1995a).

Vi khuẩn lactic có khả năng sinh ra các chất có hoạt tính kháng sinh, ức chế vi khuẩn phân huỷ peptides hoặc protein tùy thuộc vào giống loài. Vi khuẩn lactic là loại phổ biến sản sinh ra các chất có hoạt tính kháng sinh cả trong qui mô lớn và nhỏ (Klaenhammer, 1988). Những kết quả báo cáo nghiên cứu trên qui mô lớn, sản phẩm chất có hoạt tính kháng sinh của vi khuẩn lactic được phân lập từ quá trình lên men rau quả tự nhiên biểu thị rằng chất kháng vi khuẩn phân huỷ protein đóng vai trò quan trọng trong quá trình lên men thực phẩm truyền thống về mặt sinh thái học. (Fleming cùng cộng sự, 1975; Daeschel & Klaenhammer, 1985; Anderson, 1986; Daeschel cùng cộng sự, 1990; Harris cùng cộng sự, 1992a; Uhlman cùng cộng sự, 1992; Atrih cùng cộng sự, 1993; Jimenez-Diaz cùng cộng sự, 1993).

PHẦN II. CÁC DẠNG SẢN PHẨM LÊN MEN TỪ VI SINH VẬT.

2.1. DƯA BẮP CẢI

Sự tiến hoá của sản phẩm bắp cải muối chua được biết đến ngày nay là do nghiên cứu của Pederson (1960) và Pederson & Albury (1969). Bắp cải (*Brassica oleracea*) được biết và sử dụng thường ít nhất 4000 năm. Dưa bắp cải là kết quả của sản phẩm từ quá trình lên men lactic tự nhiên của muối, bắp cải đã được thái sợi. Theo người Đức nghĩa của từ acid (làm chua / Sauer) bắp cải (Braut). Đầu

tiên dưa bắp cải được làm từ những lá bắp cải với nguồn giấm chua hoặc giấm công nghiệp (Vaughn, 1985). Sau đó, bắp cải được cắt thành nhiều miếng nhỏ, cho vào thùng và rót dung dịch có tính acid “Nước quả chua” từ còn xanh (chưa chín) nho hoặc nguồn trái cây khác. Thời gian chuyển đổi từ dung dịch có tính acid thành nước dưa muối thì không cố định.

2.1.1. Nguyên liệu

Loại bắp cải (cây trồng) để sản xuất dưa bắp cải thương mại được phát triển một cách đặc biệt. Yêu cầu là bắp cải có màu trắng, hương vị dịu, ngọt, vì nó làm cho sản phẩm tốt hơn. Điểm cần quan tâm là độ rộng lớn và dày đặc ở phần đầu (3.5- 5.5Kg) với số lượng tối thiểu lá xanh ở phía ngoài. Nồng độ đường có thể lên men được khoảng 5%, với nồng độ fructose và glucose xấp xỉ ngang bằng nhau (mỗi loại 2.5%) và lượng đường sucrose thấp (Bảng 2.3).

Thành phần của một vài loại bắp cải có chất diệt khuẩn và nó phụ thuộc vào loại vi khuẩn lactic chiếm ưu thế trong quá trình lên men (Kyung & Fleming, 1994a). Hầu hết những thành phần kim hãm quan trọng là sản phẩm thủy phân đường glucose tạo thành iso thiocyanates, nitriles và thicyanates. Gần đây, hợp chất kim hãm methyl methanethiosulphinates được xem như hợp chất diệt khuẩn chủ yếu trong bắp cải (Kyung & Fleming, 1994b).

Bảng 2.3 Hàm lượng đường khử và không khử trong nguyên liệu bắp cải, dưa chuột và ôliu.

| Thành phần | Hàm lượng (%) | | | |
|-----------------|-------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------|
| | Lá bắp cải ^a | Lõi bắp cải ^a | Dưa chuột ^b | Ôliu ^c |
| Đường không khử | 0.1- 0.4 | 1.3- 2.4 | ND ^d | 0.1- 0.2 |
| Sucrose | 2.0- 2.7 | | | |
| Đường khử | 2.0- 2.1 | 1.0- 1.2 | 1.0- 1.4 | 0.1- 1.1 |
| Fructose | 2.2- 2.6 | 1.1- 1.7 | 1.0- 1.3 | 1.0- 3.0 |
| Glucose | | | | |

^a Trích từ Fleming cùng cộng sự (1988b).

^b Trích từ McCombs cùng cộng sự (1976) và Fleming cùng cộng sự (1988b).

^c Trích từ Garrido- Fernandez cùng cộng sự (1995).

^d ND, không phát hiện (không tìm thấy).

2.1.2. Công nghệ chế biến

Dưa bắp cải được làm từ phương pháp muối khô bắp cải (Hình 2.1). Bắp cải tự được cắt để loại bỏ phần lá xanh bên ngoài, lá gãy hoặc lá dơ (tới 30% khối lượng). Những phần lõi được cắt bằng máy cắt lõi đảo ngược tức là cắt phần lõi trên đầu của lá. Điều chỉnh dao quay cắt đầu bắp cải thành những miếng nhỏ có kích thước 0.08- 0.16 cm. Tốt hơn là cắt thành sợi dài nhưng độ dày được xác định tùy thuộc vào người sản xuất, máy cắt nhỏ và bắp cải được sử dụng. Bắp cải đã cắt (cũng như món xà lách từ bắp cải) được chuyển bằng băng tải đến những thùng chứa. Tiến trình muối khác nhau. Ở những nơi có phương tiện sản xuất thì bắp cải miếng nhỏ được cân trên dây băng tải và đúng lượng muối (2- 2.5%) được rắc trên bắp cải miếng nhỏ khi khối bắp cải di chuyển dọc băng chuyền đến thùng chứa. Ở những nơi khác, vận chuyển bằng tay thì bắp cải có thể được cân ở mỗi lần vận chuyển hoặc cân định kỳ bắp cải trong thùng chứa để kiểm tra số lượng số lượng chuyển đến thùng chứa. Trong quá trình chế biến, cần quan tâm lượng muối vào được đồng đều. Những cái cào để phân phối những miếng cải nhỏ chất thành đống trong thùng chứa ngấm muối đồng đều. Với những thùng lên men lớn 180 tấn, những tấm thủy tinh được sử dụng để ngăn cách mỗi ngăn khoảng 20 tấn; tuy nhiên, nhiều thùng lên men nhỏ được sử dụng trong sản xuất dưa bắp cải có tính đặc biệt.

Mỗi thùng chứa được đổ đầy đến mức độ thích hợp, phủ một tấm plastic lớn đủ che trên đỉnh thùng chứa. Trong giai đoạn đầu, muối làm cho dịch bào trong rau tiết ra. Trọng lượng dung dịch nước và nước muối ở phía trên nén ép miếng bắp cải nhỏ đi xuống đến khi những miếng bắp cải được ngập hết trong nước muối. Trong thời gian ngắn, điều kiện trong thùng chứa trở nên yếm khí bởi oxy giảm và CO₂ sinh ra do sự phát triển của vi khuẩn lactic.

Nhiệt độ và nồng độ muối NaCl lý tưởng cho quá trình lên men dưa bắp cải khoảng 18⁰C và 1.8- 2.25% NaCl. Điều này được Parmele cùng cộng sự (1927) ghi nhận đầu tiên và Marten et al (1929), và được trình bày chi tiết trong nghiên cứu của Pederson & Albury (1969). Khi gần nhiệt độ và nồng độ muối này thì vi khuẩn lactic bắt đầu hoạt động (Hình 2.2). Thực tế sản xuất thương mại ở Bắc Mỹ không điều khiển nhiệt độ, quá trình lên men xảy ra ở nhiệt độ môi trường xung quanh. Nhiệt độ của quá trình lên men trong lúc đầu liên quan đến nhiệt độ bắp cải nhập vào, có thể thay đổi (từ thấp hơn 10⁰C đến xấp xỉ 30⁰C), phụ thuộc vào thời gian và thời tiết trong năm. Phương pháp ướp muối khô làm cho nồng độ muối không đồng đều trong thùng chứa.(Pederson & Albury, 1969). Quá trình lên men được tiến hành ngắn là khoảng một vài tuần, dài khoảng một năm trước khi bao gói. Ở Bắc Mỹ, dưa bắp cải được dự trữ trong thùng lên men và đóng hộp khi đủ đơn đặt hàng của khách hàng. Đây là đường lối kinh tế để tồn trữ dưa bắp cải nhưng kết quả là làm thay đổi sản phẩm cuối. Nồng độ acid lactic cao trong sản phẩm dưa bắp cải trong quá trình bảo quản có thể làm cho nồng độ muối thay đổi hoặc loãng, làm giảm mùi vị và gây ra sự hư hỏng. Ở Châu Âu, bao bì và thanh trùng sản phẩm cơ

bản dựa
tính acid,
đánh giá
quan, để
phẩm đồng
hương vị
hơn.

trên pH,
hoặc
cảm
tạo sản
nhất hơn,
hài hoà

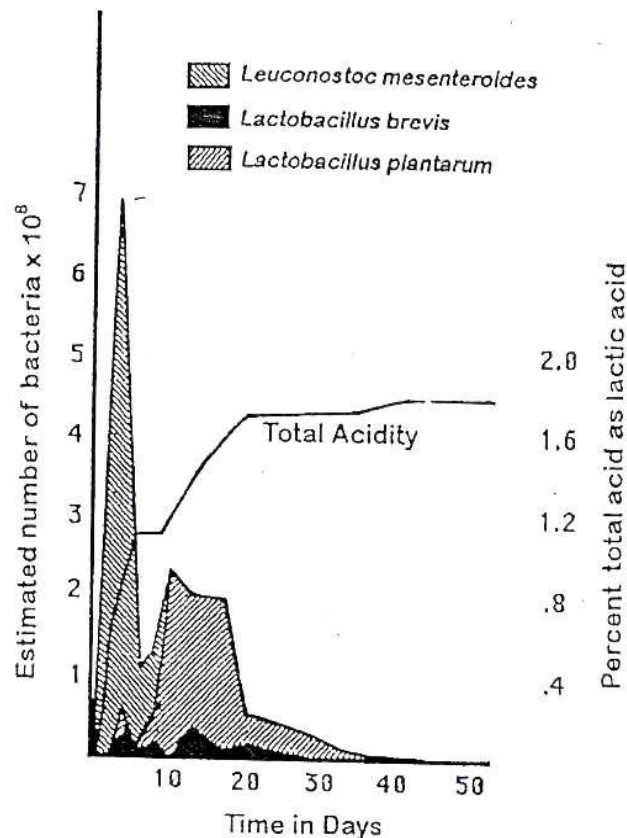


Figure 2.2 Growth of lactic acid bacteria and production of acid during fermentation of sauerkraut salted at a level of 2.25% NaCl and held at 18°C. (Adapted from Pederson & Albury, 1969.)

Dưa bắp cải có thể được bao gói trong những cái hộp, bình thủy tinh hoặc bao plastic (Fleming cùng cộng sự, 1995a). Dưa bắp cải được làm lạnh (đã vô bào bì thủy tinh hoặc plastic) là sản phẩm không có thanh trùng, có thêm chất bảo quản như Natri benzoate (0.1% w/w) và Kali metabisulphite. Có thể làm ổn định dưa bắp cải bằng phương pháp thanh trùng ở nhiệt độ 74 - 82⁰C gần 3 phút. Rót nóng dung dịch vào hộp hoặc lọ thủy tinh có dưa bắp cải, bịt kín và làm lạnh nhanh để tạo môi trường chân không.

Bắt cải tươi



Cắt phần lõi



Cắt miếng nhỏ



Úp muối



Lên men



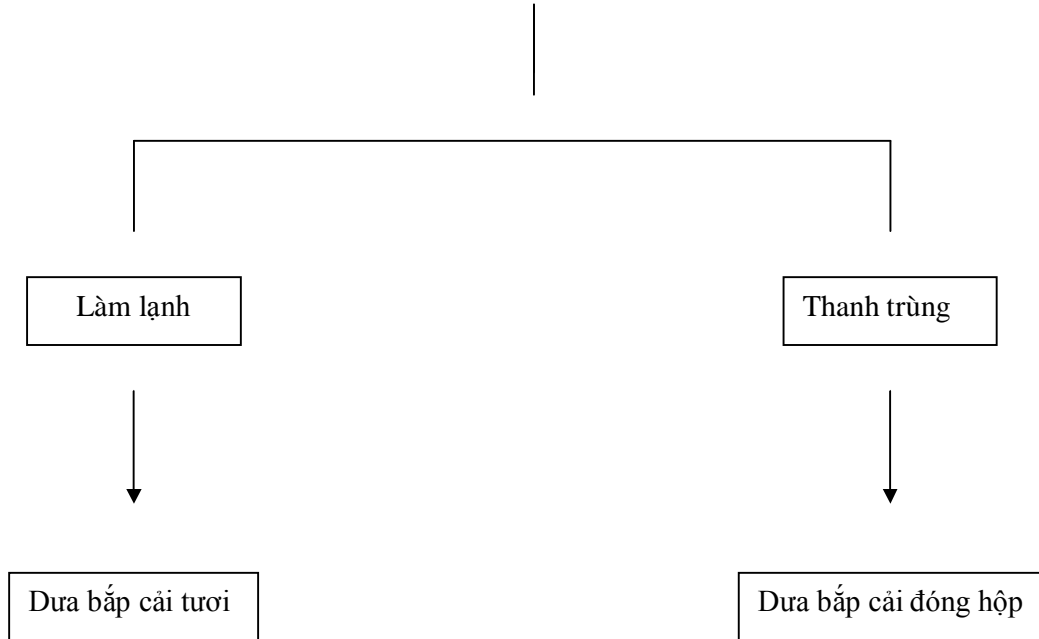
Rút nước ngâm
(Tuỳ theo yêu cầu)



Vô bao bì



Ngâm dưa
(Tuỳ theo yêu cầu)



Hình 2.1 Sơ đồ diễn tả tiến trình chế biến dưa bắp cải

2.1.3 Vi sinh vật trong quá trình lên men

2.1.3.1 Quá trình lên men tự nhiên

Khi bắp cải đã ngâm vào dung dịch nước muối thì những đặc tính của vi khuẩn lên men bắt đầu liên tiếp xảy ra, đầu tiên là nhóm vi khuẩn lên men dị thể hoặc vi khuẩn đồng lên men đồng thể có sinh khí hoặc không sinh khí (Fleming cùng cộng sự, 1988b). *Leuconostoc mesenteroides* là vi khuẩn lên men lactic dị thể lên men đầu tiên. *L. mesenteroides* vượt trội trước tiên bởi vì nó hiện diện ở số lượng cao (Mundt cùng cộng sự, 1967; Mundt & Hammer, 1968; Schneider, 1988), phát triển sớm ở giai đoạn đầu, và có thời gian sinh sôi nảy nở ngắn hơn vi khuẩn lactic khác trong nước ép bắp cải (Stamer cùng cộng sự, 1971). Mặc dù vượt trội nhanh, *L. mesenteroides* chết nhanh trong tiến trình lên men (Hình 2.2), bởi nó nhạy cảm với môi trường acid (McDonald cùng cộng sự, 1990).

L. mensenteroides được đi kèm với *Lactobacillus brevis* và *Lactobacillus plantarum* (Pederson & Albury, 1969). *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus confusus*, *Lactobacillus sake*, *Enterococcus faecalis* (trước đây là *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus lactis* subsp. *lactis* (trước đây là *Streptococcus lactis*), và *Pediococcus pentosaceus* (trước đây là *cerivisiae*) đã được phân lập từ lên men dưa bắp cải hoặc những sản phẩm có liên quan (Pederson & Albury, 1969; Puspito & Fleet, 1985; Yago cùng cộng sự, 1985; Buchenhuskes cùng cộng sự, 1986; Kandler & Weiss, 1986; Harris cùng cộng sự, 1992a), nhưng vai trò của các loại vi khuẩn này trong sự lên men những lần sau chưa rõ.

Trong suốt giai đoạn sinh khí, vi khuẩn lên men lactic dị thể sử dụng đường của bắp cải (đường glucose, fructose và sucrose) tạo thành hỗn hợp acid lactic, acid acetic, ethanol và CO₂ (Fleming cùng cộng sự, 1988b). Fructose được chuyển đổi tạo thành mannitol, ứng dụng dạng này như chất nhận điện tử. (Kandler, 1983). pH giảm nhanh và kết hợp thêm muối NaCl, thì vi sinh vật gram âm bị ức chế. CO₂ thay thế không khí và tạo môi trường yếm khí, ngăn ngừa oxy hoá acid ascorbic và sự sậm màu tự nhiên của dưa bắp cải. CO₂ cũng kích thích sự phát triển của các vi khuẩn lactic khác. Ở giai đoạn cuối của quá trình lên men, vi khuẩn lên men lactic đồng thể *Lb. Plantarum* tạo thành số lượng lớn acid lactic từ hợp chất hydro carbon còn sót lại, pH giảm mạnh. Các tiến trình xảy ra theo hướng đúng thì sẽ đạt được một sản phẩm dưa bắp cải ổn định với mùi vị và hương thơm đặc trưng.

Cả hai tốc độ lên men và tốc độ vượt trội của mỗi giống loài bị ảnh hưởng bởi nồng độ muối NaCl và nhiệt độ lên men. Nồng độ muối tăng thì *L. mensenteroides* bị kìm hãm nhiều hơn là *Lactobacilli* hoặc *pediococci* (Pederson & Albury, 1969; Stamer cùng cộng sự, 1971; Yildiz & Westhoff, 1981). Nếu nồng độ muối hoặc nhiệt độ quá cao, thì vi khuẩn lên men lactic đồng thể phát triển nhanh, kết quả là quá trình lên men lactic dị thể bị rút ngắn, tỉ lệ acid lactic tăng, và màu, mùi vị, cấu trúc kém hơn. (Pederson & Albury, 1953; Gangopadhyay & Mukherjee, 1971). *P. pentosaceus* và *E. faecalis* thì có thể phát triển khi nồng độ muối NaCl hoặc nhiệt độ trên mức bình thường (Pederson & Albury, 1969).

Pederson & Albury (1969) nhận định rằng dưa bắp cải có thể lên men tốt ở nhiệt độ thấp (7.5⁰C). *L. mesenteroides* phát triển tốt ở nhiệt độ thấp hơn vi khuẩn lactic khác trong quá trình lên men bình thường. Kết quả, ở nhiệt độ thấp acid tổng là 0.4% (tính theo acid lactic) được sản xuất khoảng 10 ngày và 0.8 - 0.9% ít hơn một tháng. Tính theo acid này, cùng với sự bão hoà của những miếng bắp cải nhỏ trong nước muối với CO₂ sinh ra do vi khuẩn, là những điều kiện cần thiết cung cấp cho quá trình bảo quản. *Lactobacillus* và *Pediococcus* phát triển rất yếu hoặc không có ở nhiệt độ thấp.

Ở nhiệt độ lớn hơn bằng 32⁰C, quá trình lên men chủ yếu là vi khuẩn lên men lactic đồng thể chiếm ưu thế là *Lb. Plantarum* và *Pediococcus pentosaceus* (Pederson & Albury, 1969). Mùi vị và hương thơm dưa bắp cải xấu đi và bắp cải bị acid hoá do hai giống vi khuẩn lên men lactic đồng thể tạo thành acid lactic với hàm lượng lớn. Dưa bắp cải lên men ở nồng độ cao thì dễ bị sậm màu do đó nên vô hộp nhanh sau quá trình lên men.

Khi sản xuất ở 18 - 20⁰C, acid tổng cuối cùng khoảng 1.6 - 2.3% (tính theo acid lactic) thì sản phẩm (pH khoảng 3.5 hoặc thấp hơn). Tỷ lệ acid không bay hơi trên acid bay hơi (acid lactic / acid acetic) thường là 3:1 đến 5:1 (Trail cùng cộng sự, 1996). Quá trình lên men được hoàn thành 2 tuần đến 2 tháng, phụ thuộc vào số lượng vật chất có thể lên men, nồng độ muối, nhiệt độ, và sự ưa thích của người sản xuất.

2.1.3.2. Sự nuôi cấy men giống

Việc cấy men giống vào trong chế biến sản phẩm dưa bắp cải tránh được việc dựa vào những vi khuẩn tự nhiên có trong nguyên liệu tươi và có thể làm cho tính chất và giá trị của sản phẩm tăng cao. Tuy nhiên sự phát triển của men cấy vào thì khó điều khiển để phát triển bình thường và dễ xảy ra quá trình lên men tự phát nếu nguyên liệu không qua thanh trùng, gây ảnh hưởng đến cấu trúc.

Trong một thế kỷ qua đã thực hiện nhiều phương cách để áp dụng việc nuôi cấy men giống vào dưa bắp cải lên men. (Báo cáo và ghi nhận của Pederson & Albury, 1969). Năm 1920 - 1930, *Lc.lactis* subsp. *lactis* (*Streptococcus lactis* trước đây) được phân lập từ các sản phẩm sữa thì được làm men giống cho dưa

bắp cải (Brunkow cùng cộng sự, 1925; Pederson, 1930a,b). Trong tất cả các trường hợp không cấy men giống thì sản phẩm dưa bắp cải tốt hoặc tốt hơn. Tuy nhiên, Pederson (1930a) đã thất bại việc phân lập *Lc. Lactis* subsp. *lactis* từ bắp cải lên men và ông ta xem chất lượng dưa bắp cải được cải tiến là có cấy men giống. Khi vi sinh vật của dưa bắp cải ổn định hơn thì *Lc. Lactis* subsp. *lactis* được thay thế bằng vi khuẩn lactic khác được tách ra trong quá trình lên men.

Trong nhiều trường hợp, việc tiêm chủng độc lập hoặc pha trộn men giống *L. mensenteroides*, *Lb. Brevis* và *Lb. Plantarum* một ít, nếu chất lượng sản phẩm được cải tiến hơn so với không cấy men giống (Keipper cùng cộng sự, 1932; Lopez cùng cộng sự, 1954; Narbors & Salunkhi, 1969; Yago cùng cộng sự, 1985). Tuy nhiên, đôi khi việc cấy giống cũng làm cho chất lượng dưa bắp cải tốt hơn (Pederson, 1930a,b; Buchenhuskes cùng cộng sự, 1986). Trái lại, đôi lúc cũng nhận thấy bất lợi cho khi cấy men giống với *Lb. Plantarum* vào bắp cải. (Pederson, 1930a,b; Pederson & Kelly, 1938; Buchenhuskes cùng cộng sự, 1986).

Stamer (1986) đã đánh giá nước ép bắp cải đã lên men với giống đơn thuần chủng vi khuẩn lactic. Nước ép đã lên men bởi *L. mensenteroides* thì được mùi thơm hài hoà và thích thú, trong lúc đó lên men bằng *P. pentosaceus* thì thô và giống như giấm. *Lb. Plantarum* và *P. pentosaceus* sản xuất sản phẩm có vị chán ngắt, cấu trúc bị khiếm khuyết, và đã đánh giá không thể chấp nhận.

Harris cùng cộng sự (1992a) nhận thấy ở giai đoạn đầu của quá trình lên men dưa bắp cải thì vi khuẩn sinh ra độc tố và đã tìm thấy 2 giống *Lc. Lactis* subsp. *lactis* sản xuất nisin. Sử dụng mô hình nước ép dưa bắp cải lên men, nhiều tác giả chứng minh rằng lượng nisin thích hợp có thể ức chế được *Lb. Plantarum* nhạy cảm với nisin, trong lúc *L. mensenteroides* đề kháng nisin phát triển đạt được mật độ tế bào lớn nhất (xấp xỉ 5×10^8 cfu / ml) (Harris cùng cộng sự, 1992b). Breidt cùng cộng sự (1993) phân lập biến thể của giống *L. mensenteroides* đề kháng được nisin ở mức độ cao và sử dụng những giống này trong quá trình lên men dưa bắp cải cùng với nisin tinh khiết ở mức độ cao (Breidt cùng cộng sự, 1995). Nhận thấy rằng quá trình lên men lactic dị thể phát triển và làm chậm quá trình lên men lactic đồng thể. Choi cùng cộng sự, (1990) đã sử dụng nisin ở mức

độ thấp trong quá trình lên men Kimchi đã làm giảm bớt tỉ lệ sản phẩm acid trong quá trình lên xảy ra tự nhiên. Mức độ nisin cao và không thêm men giống đề kháng nisin thì số lượng vi khuẩn gram dương giảm, vi khuẩn gram âm vượt trội và giảm hư hỏng cho sản phẩm.

L. mesenteroides sản xuất D(-) acid lactic, là chất con người không thể chuyên hoá được và không cho phép sử dụng vào sản phẩm cho lứa tuổi thiếu nhi và trẻ nhỏ ăn (WHO, 1974). Ở Đức, giống *Lb. bavaricus* được dùng để sản xuất dạng L(+) acid lactic trong sản phẩm dưa bắp cải, một sản phẩm bán chủ yếu trong cửa hàng thực phẩm dinh dưỡng (Lucke cùng cộng sự, 1990).

2.1.4 Hao hụt và hư hỏng của dưa bắp cải

Một số vấn đề hư hỏng làm ảnh hưởng đến dưa bắp cải. Bao gồm sự bạc màu (sự oxy hoá), giảm tính acid, có vị và mùi lạ (mùi mốc, mùi men và mùi ôi), có tính nhớt, bắp cải bị mềm, và dưa bắp cải có vết hồng, tất cả nguyên nhân là do sự phát triển hiếu khí của nấm mốc và nấm men. Khắc phục những vấn đề này bằng cách đảm bảo hoạt động yếm khí.

Hao hụt xảy ra trong nhiều năm là dưa bắp cải bị mềm hoặc bị nhớt. Bị mềm là kết quả của sự tạo thành dextran bởi *L. mesenteroides*. Tuy nhiên, dextran được sản sinh ra bởi enzyme dextransucrase, được tạo thành bởi đường sucrose. Phân tử đường sucrose được phân cắt ra thành đường fructose và glucose và glucose được thêm vào để làm cho chuỗi dextran phát triển. Mức độ đường sucrose trong bắp cải (Bảng 2.3) có thể thấp hơn một vài loại polysaccharide ngoại bào khác, có thể được sản xuất bởi một vi sinh khác hơn *L. mesenteroides*. Sự tạo thành chất nhớt trong dưa bắp cải chưa bao giờ được nghiên cứu hoàn toàn. Bắp cải có tính nhớt do hoạt tính của pectinolytic là sự hao hụt lâu dài, nhưng ít phổ biến.

2.2 DƯA CHUỘT MUỐI CHUA

2.2.1 Nguyên liệu

Dưa chuột (*Cucumis sativus*) đã được trồng hàng ngàn năm (Vaughn, 1985). Dưa chuột cho nhiều dạng muối chua trên thị trường, chúng được lựa chọn

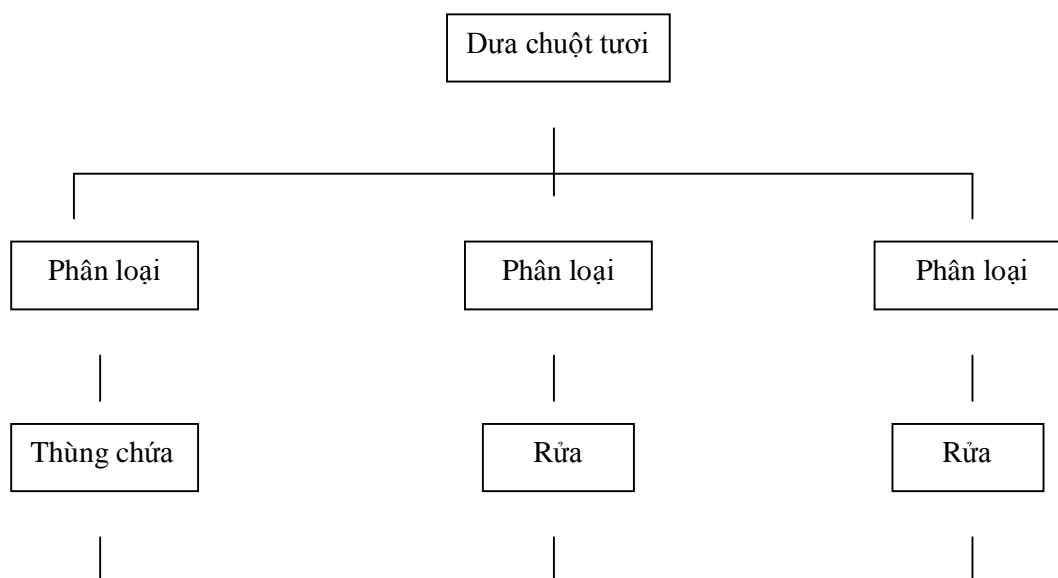
theo hình dạng đều đặn và cấu trúc vững chắc. Dưa chuột làm muối chua được thu hái lúc chưa chín. Dưa chuột chín hoàn toàn thì không phù hợp bởi chúng quá lớn, màu sắc và hình dạng thay đổi, có nhiều hạt già, và phần lớn là quá mềm. Dưa chuột được phân loại để loại bỏ tất cả những dưa chuột dập hoặc gãy, bị hỏng hoặc bị dập nát. Việc phân loại bằng máy phân loại dựa vào đường kính dưa chuột. Dưa chuột muối chua được phát triển từ Canada đến Mexico và được nhiều nhà chế biến chấp nhận trên nhiều năm. Nếu vận chuyển từ nơi xa, dưa chuột tươi được giữ lạnh hoặc ngâm trong nước muối để phân phối ở nơi xa hơn. Hợp chất hydro carbon có thể lên men chủ yếu trong dưa chuột muối chua là đường fructose và glucose (Bảng 2.3). Acid malic có thể hiện diện với nồng độ đủ gây ra vấn đề (xem bên dưới) khi chuyển đổi tạo thành acid lactic và CO₂ theo đường hướng lên men malolactic.

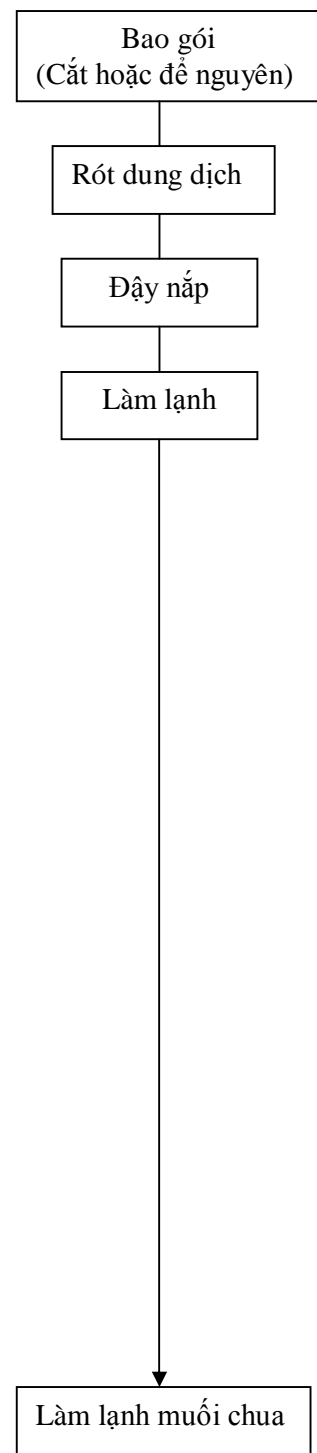
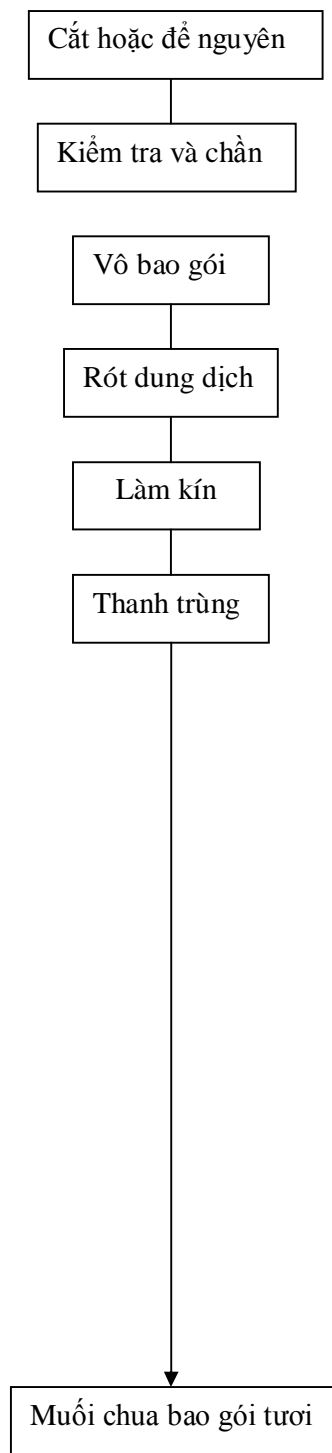
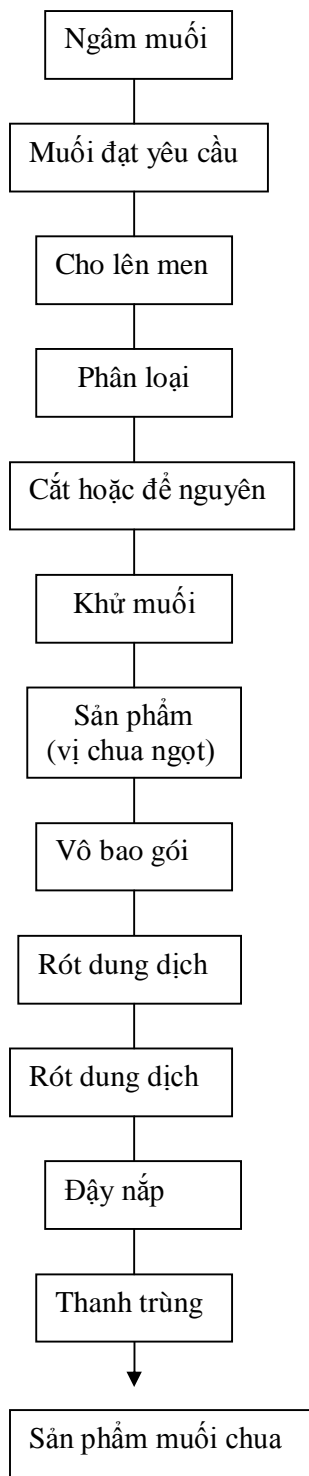
2.2.2. Công nghệ chế biến

Dưa chuột muối chua được bảo quản bằng phương pháp lên men (40% sản phẩm ở Mỹ), phương pháp thanh trùng (40%), phương pháp làm lạnh (20%) (Fleming cùng cộng sự, 1995a), như phát hoạ ở hình 2.3.

2.2.2.1 . Làm lạnh với thì là

Làm lạnh với thì là muối chua được giới thiệu ở Bắc Mỹ năm 1960 (Fleming cùng cộng sự, 1995a). Chúng tạo cho dưa chuột có mùi vị tươi và cấu trúc rắn chắc.





Vi sinh vật phát triển không đáng kể trong quá trình muối chua này và được ngăn chặn bằng cách thêm giấm ăn có nồng độ thấp, hoá chất bảo quản như Natri benzoat, và phương pháp làm lạnh ($<5^{\circ}\text{C}$).

Muối chua làm lạnh không có tính acid có thể được tìm thấy ở một vài thị trường đặc biệt. Muối chua được thực hiện bằng cách ngâm dưa chuột trong nước muối NaCl 5% với thì là, tỏi. Nước muối dưa chuột được tồn trữ và lên men ở $3 - 7^{\circ}\text{C}$, nơi mà lên men lactic chậm sản sinh acid tổng (tính theo acid lactic) khoảng 0.3 - 0.6% ở cuối tháng thứ 3. (Fleming cùng cộng sự, 1995a). Tại nhiệt độ và nồng độ muối thấp thì *L. mesenteroides* đóng vai trò quan trọng hơn so với dưa chuột lên men khác.

2.2.2.2 Muối chua bao gói tươi (thanh trùng)

Muối chua được thanh trùng đã được giới thiệu ở Mỹ năm 1940, nghiên cứu của Etchells & Jones (1942) và sau đó là Monroe cùng cộng sự (1969). Dưa chuột bị acid hoá với giấm ăn (0.5 - 0.6%) đến pH xấp xỉ 3.7, men giống được thêm vào, và “nước giấm” được thanh trùng đến nhiệt độ tâm là 74°C trong 15 phút. Nồng độ muối có thể thay đổi từ 0 - 3%, nồng độ đường thay đổi theo từng loại muối chua. Nhiều người tiêu thụ thích bao gói tươi hơn lên men chua bởi mùi vị hài hoà của acid acetic (giấm ăn).

2.2.2.3 Muối chua lên men

Muối chua lên men, thỉnh thoảng được gọi là sản phẩm muối hoặc “chính công” là muối chua được ngâm trong nước muối và trải qua quá trình lên men lactic hoàn toàn. Dưa chuột phân loại theo kích thước, quả hư hỏng và hoa được loại bỏ. Hoa có mức độ nhiễm vi sinh vật cao (Etchells cùng cộng sự, 1958) làm cho enzyme làm mềm (poly-galacturonase) mô của dưa chuột.

Dưa chuột tươi được cho vào trong bể nước muối lớn, mở cửa bồn lên men, là kiểu lên men tự nhiên. Nồng độ độ muối ban đầu trong nước ngâm khoảng 5 - 8%. Quá trình lên men thực hiện ở nhiệt độ xung quanh khoảng 15 - 32⁰C. Nước muối bị acid hoá với acid acetic đến pH = 4.5 hoặc có CO₂ sinh ra và tốc độ phát triển của vi khuẩn lactic nhanh. Nồng độ CO₂ cao là nguyên nhân làm trương và phồng lên của mô dưa chuột (gọi là “sự phồng hộp” hoặc “sự phình ra”). Costilow cùng cộng sự (1977) đã phát triển phương pháp loại CO₂ quá mức từ nước ngâm dưa chuột. Nước dưa được acid hoá với acid acetic dưới pK_a của bicarbonat và không khí (hơn bình thường) hoặc N₂ (đáng kể) tạo áp lực lên thùng lên men, làm cho việc loại CO₂ có hiệu quả. Việc loại bỏ này xảy ra trong suốt quá trình lên men. Khi sử dụng thông gió, Kali sorbat (0.035%) hoặc acid acetic (0.16%) được thêm vào nước dưa để ngăn ngừa sự phát triển của nấm mốc và mềm quả (Gates & Costilow, 1981; Potts & Fleming, 1982).

Với nồng độ muối vừa phải (5%) và nhiệt độ (20 - 27⁰C) tiến trình lên men nhanh và hợp chất hydro carbon lên men được không còn, acid lactic hình thành nhiều. Nói chung, quá trình lên men hoàn thành 2 - 3 tuần. Xấp xỉ 1.1% acid lactic hiện diện sau quá trình lên men, với pH cuối cùng khoảng 3.3 - 3.5.

Muối chua sau khi lên men, được khử muối và chế biến với nhiều sản phẩm phụ gồm đường và nguồn muối chua, thì là đã chế biến, và gia vị. Mùi vị có thể thay đổi, phụ thuộc vào lượng đường, giống men và gia vị thêm vào. Acid lactic bị loại bỏ trong giai đoạn khử muối và thường được thay thế bằng acid acetic. Mặc dù không đòi hỏi, đôi khi muối chua lên men được thanh trùng ở nhiệt độ thấp để tăng thời gian bảo quản.

2.2.3. Vi sinh vật trong quá trình lên men

2.2.3.1. Quá trình lên men tự nhiên

Các yếu tố ảnh hưởng đến mật độ vi sinh vật trong lên men dưa chuột bao gồm nồng độ muối và nhiệt độ nước ngâm, những nguồn dinh dưỡng để lên men, số lượng và loại vi sinh vật hiện diện ở giai đoạn bắt đầu lên men. Tốc độ của quá trình lên men phụ thuộc vào nồng độ của muối và nhiệt độ nước ngâm.

Trong suốt giai đoạn đầu của quá trình lên men, vi khuẩn, nấm mốc và nấm men có thể bị phân lập với số lượng lớn. Bình thường cuối giai đoạn đầu là 2 - 3 ngày và đôi khi dài khoảng 7 ngày. Trong suốt thời gian này, vi khuẩn lactic và quá trình lên men và nấm men oxy hoá gia tăng nhanh và vi sinh vật không cần thiết bị giảm thiểu và cuối cùng biến mất toàn bộ, là kết quả của sự gia tăng nhanh chóng của acid tổng và giá trị pH của nước dưa giảm (Fleming cùng cộng sự, 1995a). Tiến hành giảm pH xuống 4.5 bằng acid acetic thì các vi khuẩn gram âm bị kìm hãm và vi khuẩn acid lactic phát trên mùi vị.

Vi khuẩn lên men lactic dị thể phát triển không đáng kể trong suốt quá trình lên men dưa chuột. Những vi khuẩn như *L. mesenteroides* thường bị kìm hãm bởi nồng độ và nhiệt độ nước dưa cao, và pH giảm nhanh. Quá trình lên men sơ khai hoàn thành bởi vi khuẩn lactic *P. pentosaceus*, *Lb. Brevis* và *Lb. Plantarum*.

Nhiều giống nấm men được phân lập trong suốt giai đoạn đầu của quá trình lên men, mặc dù đây là lĩnh vực không thể xác định đặc tính triệt để. Nấm men lên men được phân lập gồm *Hansenula anomala*, *H. subpelliculosa*, *Saccharomyces bailli*, *S. delbruckii*, *S. rosei*, *Torulopsis holmli*, *T. lactis-condensii*, và *T. verstilis* (Etchells cùng cộng sự, 1961). Giống có tính oxy hoá được tìm trong dưa chuột lên men bao gồm *Candida krusei*, *Debaromyces hansenii*, *Pichia ohmeri*, *Rhodotorula spp.* và *Saccharomyces roussinii* (Etchells & Bell, 1950).

2.2.3.2 Quá trình lên men có điều khiển

Quá trình lên men ở nồng độ muối thấp là rất cần thiết. Trong lĩnh vực chế biến loại sản phẩm muối chua ở Mỹ, dung dịch muối sử dụng có chức năng quan trọng. Nồng độ muối thấp sẽ giúp cho sản phẩm dưa chuột lên men đạt kết quả tốt. Nồng độ muối của nước ngâm trong thùng thấp được đề xuất (Fleming cùng cộng sự, 1988a). Dùng nitrogen tinh khiết vào thùng lên men để duy trì yếm khí bề mặt ở đỉnh thùng. Bằng cách thêm calcium vào nước dưa, nồng độ muối thấp hơn có thể duy trì cấu trúc cứng chắc của sản phẩm muối chua. (Buescher cùng cộng sự, 1981; Fleming cùng cộng sự, 1987; Guillou cùng cộng sự, 1992).

2.2.3.3. Cách cấy men giống

Sử dụng việc cấy men giống vào dưa chuột lên men đã được giới hạn. Kết quả nghiên cứu của Pederson & Albury (1961) cho thấy cấy vào sản phẩm dưa chuột vi khuẩn *E. faecalis*, *L. mesenteroides*, *Lb. Brevis* và *P. pentosaceus*. *Lb. plantarum* chịu được độ acid cao vì vậy chúng phát triển chiếm ưu thế ở giai đoạn sau của quá trình lên men dưa chuột. Thực hiện sát trùng dưa chuột trước khi cấy men giống, để làm giảm vi khuẩn cạnh tranh. Etchells cùng cộng sự (1964) sử dụng phương pháp chân bằng nước nóng (66-80°C) hoặc tia bức xạ gamma (0.83 - 1.0 MRad) để đạt được mục tiêu này. Etchells cùng cộng sự (1973) chọn *Lb. plantarum* bền acid cấy vào dưa chuột đã rửa sạch, tẩy trắng và acid hoá. Chất đệm natri acetat được sử dụng lượng nhỏ vừa phải để pH giảm dần và hợp chất hydro carbon lên men hoàn toàn. Thanh trùng môi trường là rất cần thiết bởi vì sản phẩm CO₂ và bọt hình thành. Vi khuẩn lên men đồng thể tạo CO₂ là vấn đề đầu tiên làm rối trí; tuy nhiên, McFeeters cùng cộng sự (1984) chứng minh rằng *Lb. plantarum* có thể sản xuất CO₂ từ sự phân huỷ của acid malic thành acid lactic (quá trình lên men malolactic). Dưa chuột chứa đủ acid malic (0.2 - 0.3%) dẫn đến nguyên nhân gây cho dưa chuột bị trương phồng (McFeeters cùng cộng sự (1982)). Dựa vào biểu đồ chọn môi trường, Breidt & Fleming (1992) nhận thấy rằng hầu hết vi khuẩn lactic trong dưa chuột muối chua chiếm ưu thế hơn tiến trình lên men malolactic. Daseschel cùng cộng sự (1984) đã tách ly dạng malolactic âm của *Lb. plantarum*. Dạng này đôi khi có thể có ưu thế trong quá trình lên men dưa chuột và ngăn chặn CO₂ sinh ra.

Lên men dưa chuột không có NaCl chỉ đạt được kết quả trong phòng thí nghiệm nhưng khi ở điều kiện sản xuất quy mô thương mại thì không đạt được. Để đạt được điều này, quả được chân (3 phút ở 77°C) và ngâm trong dung dịch đệm calcium acetate cùng với cấy *Lb. Plantarum* vào. Dưới điều kiện quy mô nhỏ thương mại thì dưa chuột bị trương và mất đi sự cứng chắc bởi vì không kiểm soát được sự nhiễm vi sinh vật sau khi chân.

Sản phẩm chất diệt khuẩn lactic được phân lập từ quá trình lên men dưa chuột (Fleming cùng cộng sự, 1975; Daeschel & Klaenhammer, 1985; Daeschel

cùng cộng sự, 1990); tuy nhiên, đến ngày nay, chúng sử dụng không thành công như nuôi cấy men giống.

2.2.4. Hao hụt và sự hư hỏng của dưa chuột muối chua

Hầu hết sự hư hỏng của dưa chuột trong quá trình lên men là do hoạt động của vi sinh vật, enzyme gây hư hỏng tạo thành, dẫn đến sự mềm mại, clostridia hấp thụ acid lactic để phát triển, sản sinh mùi lạ, hoặc CO₂ sinh ra không đáng kể do thịt quả bị méo mó hoặc tạo thành hình vồng mào bị bốc ở bên trong. Việc mô bị phá hoại và sự hao hụt cấu trúc hoặc độ cứng là do hoạt động của enzyme cellulolytic và enzyme pectino-lytic, nói chung là mất mát về giá trị kinh tế. Sự hao hụt được biết như hư hỏng “ sự phồng lên” hoặc “ sự phình ra” có thể khắc phục bằng cách bổ sung thêm một số chất gia vị khác.

Quá trình lên men thứ yếu với nấm men có thể xảy ra khi đường còn lại và vi khuẩn lactic đã bị kìm hãm ở pH thấp. Sau đó, khi pH và muối quá cao hoặc acid hoá thấp, vi khuẩn clostridia và propionic có thể phát triển, dẫn đến hư hỏng. (Fleming cùng cộng sự, 1989). Nhiều thùng lên men tồn trữ ngoài trời với bề mặt lộ ra và dưa chuột bị đim xuống bởi sức nặng của nắp đậy. Việc phơi dưới ánh nắng mặt trời (tia UV) làm giảm sự phát triển nấm men oxy hoá, nấm mốc và vi khuẩn trên bề mặt. Khi thùng lên men yếm khí, có thể ngăn ngừa hư hỏng bằng cách duy trì pH thấp và đáp ứng đầy đủ về số lượng và chất lượng muối.

2.3. ÔLIU LÊN MEN

Ôliu được chế biến theo nhiều dạng bao gồm đóng hộp, lên men, trích ly dầu ôliu. Ôliu thay đổi theo nhiều dạng đáng kể, chúng bán ở dạng nguyên, tách hạt, nhồi (ớt, tiêu, bột tiêu, quả hạnh nhân, vv...), cắt đôi, cắt thành bốn, cắt lát mỏng, nghiền, hoặc hỗn hợp của ôliu và nụ bạch hoa ngâm. Ôliu lên men tạo thành khối là dạng chế biến khác ở Địa Trung Hải, trong lúc đó sản xuất chủ yếu ở Mỹ là ôliu chín đóng hộp (không lên men). Chi tiết hơn về tiến trình sản xuất ôliu được nghiên cứu bởi Cruess (1958), Vaughn (1985), Ferguson và các cộng sự (1994) và Garrido- Fernandez cùng các cộng sự (1995).

2.3.1. Nguyên liệu

Những năm trước đây việc sản xuất oliu ở Địa Trung Hải ở đỉnh cao (Tây Ban Nha, Thổ Nhĩ Kỳ, Ý, Morocco và Hy Lạp) sản phẩm oliu được tiêu thụ với số lượng lớn. Tiểu bang của California ở Mỹ sản xuất đứng hàng thứ sáu (Garrido- Fernandez cùng các cộng sự, 1995). Một số lượng lớn những loại oliu được sử dụng cho sản xuất oliu thương mại. Trên thế giới, phổ biến nhất là những loại Gordal (*olea europaea regalis*), Clemente (cũng được biết như Gordal Sevillano, Sevillano hoặc Sevillana) và Manzanilla (*olea europaea pomiformis*). Loại Ascolano và Misson cũng được sử dụng tại California (Ferguson cùng các cộng sự, 1994). Mỗi loại có một hình dạng, kích thước đặc thù.

Ôliu là quả nhỏ, tách bỏ hạt, có vị đắng mạnh, hình cầu kéo dài. Phenolic gluco-side oleuropein là hợp chất chủ yếu tạo vị đắng của quả oliu. Oleuropein phải được loại bỏ hoặc bị thủy phân để tạo sản phẩm ăn được. Loại bỏ được bằng cách hoà tan trong nước hoặc nước muối hoặc thủy phân trong dung dịch NaOH loãng (1-2%). Trong suốt quá trình chín, màu sắc thay đổi từ xanh sang tím hoặc đỏ, và cuối cùng là màu đen. Màu xanh tươi của oliu tạo thành bởi sự hiện diện của chlorophyll; chlorophyll giảm và anthocyan tạo thành là kết quả của sự đổi màu. Thịt quả chiếm 70-90% trọng lượng. Đường glucose là hợp chất hydro carbon có thể lên men chủ yếu với lượng đường fructose và sucrose ít hơn.

Hợp chất phenolic tạo thành xấp xỉ 1-3 % khối lượng thịt quả. Hầu hết những hợp chất này là ortho- diphenol, nó đóng vai trò quan trọng trong lên men như tiến trình làm sậm màu oliu chín. Nồng độ hợp chất phenolic giảm gần một nửa trong quá trình lên men chín tự nhiên.

2.3.2.Công nghệ chế biến

Các công đoạn chế biến cơ bản cho sản phẩm oliu được chỉ ra trong hình 2.4. Theo phương pháp chế biến truyền thống, những thùng gỗ tròn được sử dụng cho quá trình lên men. Hiện nay, hầu hết oliu được lên men trong bể bê tông được phủ một lớp parafin hoặc màng plastic ở phía trên hoặc thùng có nhuộm thép (sức chứa là 10.000- 20.000 lít).

2.3.2.1.Ôliu được xử lí dung dịch kiềm trong nước muối (Loại oliu chín đen hoặc chín xanh ở California)

Sản xuất chín đen đóng hộp là phương pháp phát triển ở California năm 1990 (Ghi nhận của Vaughn, 1985; Ferguson cùng các cộng sự, 1994).

Ôliu có màu xanh đến màu đỏ anh đào được thu hái vào những tháng mùa thu. Khi không đủ những thùng chứa để chế biến tất cả ôliu cùng một thời điểm, thì ôliu được tồn trữ yếm khí trong nước muối (phương pháp truyền thống), dung dịch acid loãng (90% sản xuất công nghiệp sử dụng hiện nay). Phương pháp truyền thống đòi hỏi nuôi ăn trong nước muối ở nồng độ ban đầu là 5.0 – 7.5% NaCl, hoặc 20 – 30⁰ salometer. (Dung dịch muối bão hoà (26.5%) là 100⁰ salometer). Sau vài ngày, thêm muối vào để tăng nồng độ đến 7.8 – 9%. Đôi lúc ôliu cần đục lỗ đều nhau trên da của chúng để làm giảm sự co nguyên sinh ở tế bào quả trong suốt quá trình ngâm nước muối. Quá trình lên men lactic tĩnh, giúp cho bảo quản quả đến khi chế biến. Nồng độ acid lactic có thể đến 0.4 – 0.45% trong 4-5 tuần.

Trong công đoạn tách nước muối khó điều khiển để loại ra vì vậy cần phải nắm vững phương pháp. Dung dịch acid chứa 0.7% acid lactic, 1 % acid acetic, 0.3% natri benzoate và 0.3% kali sorbat có thể sử dụng thay cho nước muối. Hiện nay hơn 90% khu công nghiệp ở California sử dụng phương pháp acid hoá để tồn trữ ôliu. Lên men lactic không xảy ra dưới điều kiện này và ôliu tốt hơn một cách đáng kể trong nước ngâm tồn trữ quả.

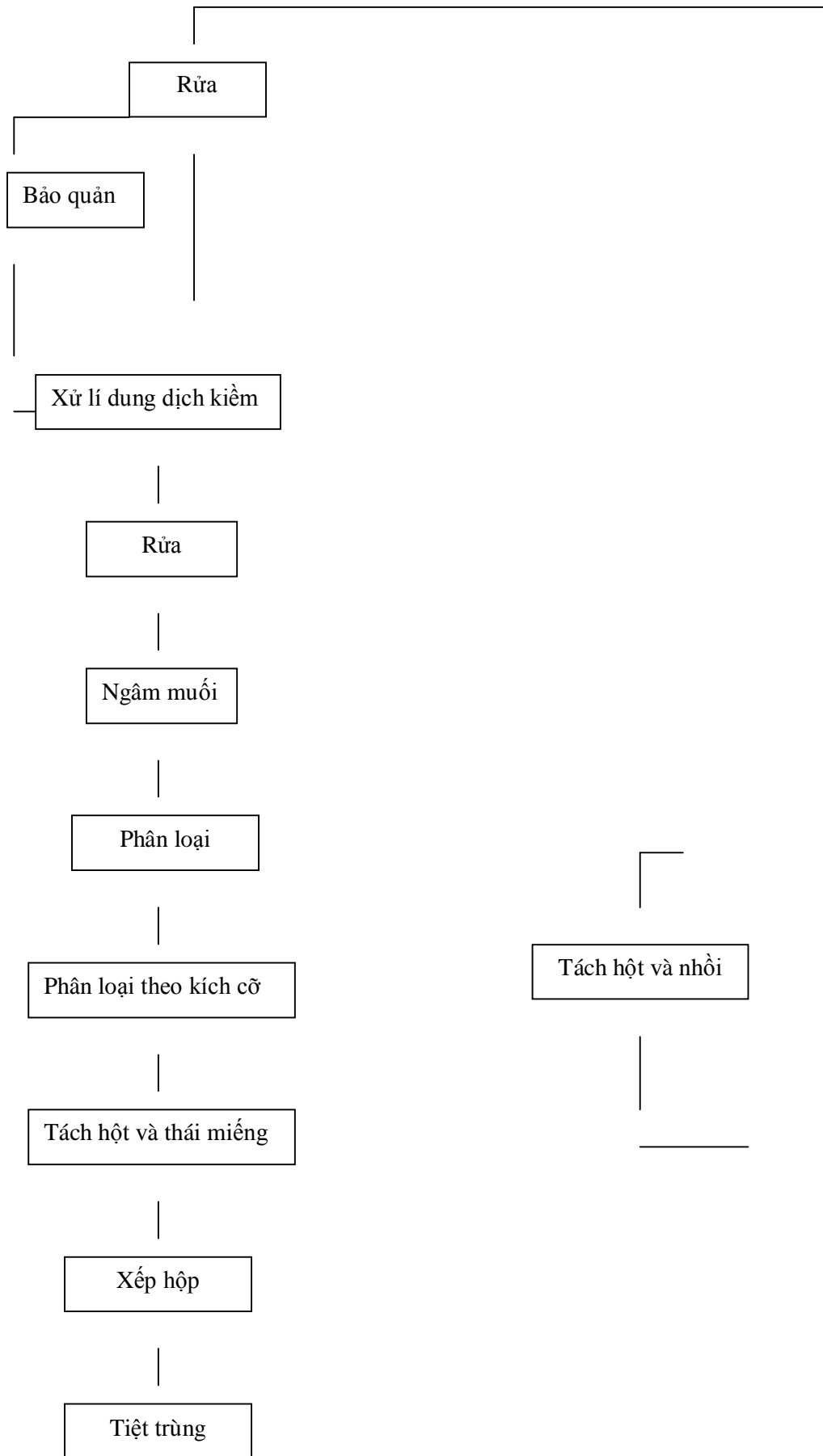
Phương pháp làm lạnh thì ít phổ biến bởi chi phí tồn trữ đắt tiền. Sự thâm màu bên trong ở nhiệt độ thấp hơn 5⁰C. Tồn trữ ôliu bằng phương pháp điều khiển khí quyển (2% O₂) ở 5 hoặc 7.5⁰C có thể giữ được 9 – 12 tuần, ít giảm chất lượng (Ferguson cùng các cộng sự, 1994).

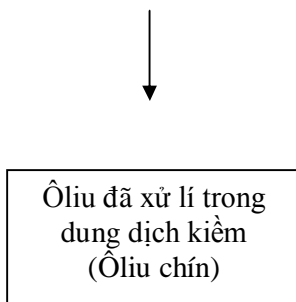
Nếu ôliu được thông khí trong suốt quá trình xử lí dung dịch kiềm, hợp chất phenolic tự nhiên kết hợp với oxy và polymer, tạo thành sắc tố đen. Xử lí dung dịch kiềm thích hợp và ôliu lộ ra ngoài không khí hoặc làm thông khí nước và dung dịch kiềm xử lí thì màu đen phát triển một cách đáng kể.

Ôliu tươi

Rửa
Trắng 22

Xử lí dung dịch kiềm





Hình 2.4 Quy trình sản xuất ôliu với ba phương pháp chế biến.
(Trích từ Garrido- Fernandez, 1995)

Hầu hết màu hình thành nhanh ở pH khoảng 8.0 – 9.5. Khi thêm calcium chloride ở nồng độ thấp (0.1- 0.5%) thì cải thiện được độ bền màu.

Dung dịch kiềm được loại bỏ bằng cách thay nước mỗi ngày hai lần trong 3- 4 ngày và trộn với không khí nén hoặc khuấy trộn. Nước rửa thì được thay thế bằng nước muối loãng (0.8- 2.5% NaCl) cho hơn 2- 4 ngày. Ôliu đã phân loại sau đó xếp vào ngăn (tùy ý), vào hộp và chế biến nhiệt. Độ bền màu của ôliu lớn nhất khi pH khoảng 7.0 – 7.5. Sau đó vô bao gói, 2 –2.5% dung dịch nước muối được thêm vào hộp trước khi chế biến nhiệt trong 50 – 60 phút ở 116 –121⁰C dưới áp suất. Năm 1919, một vụ ngộ độc botulinum xảy ra ở California liên quan đến sản phẩm ôliu California đóng hộp. Vấn đề này làm thay đổi quan niệm chủ yếu về chế độ xử lí cho sản phẩm đóng hộp có độ acid thấp. Từ đó quá trình xử lí nhiệt cho sản phẩm được áp dụng (Ferguson cùng cộng sự, 1994)

Sản xuất ôliu chín xanh, ôliu chỉ xanh hoặc vàng rom được sử dụng và tránh không khí nghiêm ngặt trong suốt quá trình xử lý dung dịch kiềm. Quá trình ngâm và vô hộp giống như ôliu chín đen. (Ferguson cùng cộng sự, 1994).

2.3.2.2 Ôliu xanh xử lý dung dịch kiềm trong nước muối (Sevillian hoặc Spanish- loại ôliu xanh)

Quả có màu xanh đến màu vàng rom sau khi thu hái cho xử lý dung dịch kiềm ôliu xanh. Những ôliu này đã chín đến điểm, cùi quả được tách để dàng từ quả có hạt nhưng màu của quả chưa bị sậm màu. Ôliu đã xử lý dung dịch kiềm thì hầu hết chất đắng bị phá huỷ, rửa sạch để loại bỏ chất kiềm, và sau đó ngâm nước muối để lên men lactic hoàn toàn hoặc một phần. Ôliu đã trải qua quá trình lên men hoàn toàn được xem là Sevillian hoặc Spanish- các loại ôliu. Ôliu lên men một phần phải được bảo quản bằng cách thêm acid hữu cơ, tiệt trùng, thêm chất bảo quản, hoặc làm lạnh.

Dung dịch kiềm pha loãng (1.3 – 3.5%) được xử lý ở 12 – 21⁰C khoảng 5-12 giờ. Nồng độ dung dịch kiềm và thời gian thay đổi theo độ chín của quả, nhiệt độ chế biến và công nghệ sản xuất riêng lẻ. Xử lý dung dịch kiềm dừng lại trước khi nó thấm vào đến hạt quả (khoảng 2/3 đến 3/4) giữ lại một lượng nhỏ chất đắng của cùi quả để tạo hương vị cho sản phẩm cuối cùng. Sau khi xử lý dung dịch kiềm, ôliu được rửa với nước lạnh một hoặc nhiều lần để loại bỏ chất kiềm. Trong quá trình rửa, có thể thêm vào dạng HCl thực phẩm hoặc acid mạnh khác để trung hoà một phần dung dịch kiềm.

Ôliu xử lý dung dịch kiềm được ngâm muối 10 -13% NaCl. Để ngăn ngừa sự co nguyên sinh, ban đầu sử dụng nồng độ muối thấp rồi thêm muối mỗi ngày để đạt mức độ mong muốn. Tuy nhiên, nồng độ muối thấp thì dễ bị hư hỏng do sự phát triển của clostridia. Muối được thêm vào trong suốt quá trình lên men để duy trì nồng độ muối 5 -6%. Có thể tăng lên 7% hoặc cao hơn ở giai đoạn cuối quá trình lên men để tránh sự phát triển của vi sinh vật gây hư hỏng. Nhiệt độ thích hợp cho quá trình lên men là 24 - 27⁰C. Ở cuối quá trình lên men pH khoảng 3.8- 4.4, 0.8- 1.2% acid tính theo acid lactic (Ferguson cùng cộng sự, 1994). Quá trình lên

men hoàn thành trong 3- 4 tuần hoặc có thể dài hơn, tùy thuộc vào nhiệt độ, nồng độ muối và mật độ vi khuẩn lactic ban đầu.

Ôliu được vô bao gói bằng lọ thủy tinh (thường trong một mô hình xác định), những lọ này được rót dung dịch nước muối xấp xỉ 7% và được bịt kín. Lên men ôliu xanh có thể xếp ngăn và nhồi ớt đỏ dạng sợi để thấm nhiều trong nước muối. Củ hành nhỏ và những quả hạnh nhân cũng được nhồi vào đó. Ôliu đã nhồi có thể giữ được nhiều tuần trong 8% nước muối trước khi bao gói. Nếu quá trình lên men đã hoàn thành, pH < 3.5 và nồng độ NaCl > 5% sẽ thích hợp để bảo quản. Phương pháp thanh trùng được sử dụng khi quá trình lên men không hoàn toàn hoặc theo mong muốn của người chế biến thực phẩm. Một vài người chế biến thực phẩm thanh trùng ở 60°C hoặc sử dụng nước muối nóng ở 80 – 82°C. Thực tế ngăn chặn sự phát triển của vi khuẩn.

2.3.2.3 . Ôliu chín đen tự nhiên không xử lý (phong cách Hy Lạp)

Ôliu phong cách Hy Lạp, phổ biến ở Hy Lạp, Thổ Nhĩ Kỳ và những nước Bắc Phi, được làm từ ôliu đã muối chua khi chúng đã chín hoàn toàn đến màu tím hoặc đen nhưng trước khi chúng quá chín. Áp dụng phương pháp không xử lý dung dịch kiềm và chất đặng chỉ lọc qua một phần vào trong nước muối. Bởi điều này, chúng có vị quả và duy trì một vị hơi hơi đắng. Chúng có thể bảo quản bằng phương pháp lên men trong nước muối, bằng tiệt trùng hoặc thanh trùng hoặc thêm vào chất bảo quản.

Ôliu được cho vào thùng chứa và được che phủ với 6 – 10% nước muối. Quá trình lên men xảy ra bởi hệ thống phối trộn hợp thành của coliform, nấm men và *lactobacillus* spp. Acid tổng cuối cùng của nước muối thường thấp hơn 5% với pH khoảng 4.3 – 4.5 (Garrido- Fernandez cùng các cộng sự, 1995). Tuy nhiên, dưới một vài trạng thái, ôliu chín đen tự nhiên lên men hoàn toàn, thì acid tổng cao bằng 0.8 – 1.0%. Quá trình lên men tạo thành acetic do nấm men chịu muối, nếu nồng độ muối ở 10%. Nếu không giữ yếm khí, một lớp nấm mốc, nấm men và vi khuẩn tạo thành trên bề mặt của nước ngâm, nguyên nhân là do đường và acid giấm, pH của nước muối tăng. Sự hư hỏng có thể từ sự phát triển của clostridia, vi khuẩn propionic, và có thể là vi sinh vật làm giảm sulphate.

2.3.2.4 Ôliu được ướp muối

Ôliu ướp muối kiểu Hy Lạp là ướp muối với muối dạng đá khô và trở nên khô hơn khi trải qua quá trình lên men. Ôliu chín quá được rửa sạch trong 2 – 3 ngày. Sau đó chúng được đặt trong thùng với lớp muối xen kẽ. Sản phẩm giữ khô một phần bởi nồng độ muối cao.

2.3.3. Vi sinh vật trong quá trình lên men

2.3.3.1. Quá trình lên men tự nhiên

Cũng như quá trình lên men dưa bắp cải và dưa chuột, quá trình lên men của ôliu dựa trên vi sinh vật có trong nguyên liệu hoặc những thùng chứa để tồn trữ sản phẩm. Không giống với bắp cải và dưa chuột, nấm men có vai trò quan trọng trong quá trình lên men ôliu. Nước muối cung cấp môi trường tốt cho vi khuẩn lactic phát triển, với đường glucose, fructose và maltose là nguồn hợp chất hydro carbon chính có thể lên men được. Phenol diệt khuẩn, bao gồm thủy phân hoặc không thủy phân oleuropein, cũng hiện diện ở mức độ cao và có thể đóng vai trò trong việc xác định loại vi sinh vật chiếm ưu thế trong quá trình lên men. (Fleming cùng các cộng sự, 1969, 1973; Juven cùng các cộng sự, 1971; Ruiz-Barda cùng các cộng sự, 1991; Ciafardin cùng các cộng sự, 1994). Không giống với các loại rau quả có thể lên men khác, ôliu xử lý dung dịch kiềm làm giảm bớt số lượng vi sinh vật lúc đầu và pH của giai đoạn đầu quá trình lên men tăng khoảng 7.5- 8.5. Thêm vào đó, xử lý dung dịch kiềm và rửa bằng nước sạch có thể lọc đường từ ôliu ra ngoài làm giảm chất dinh dưỡng và giảm hàm lượng đường. Vi khuẩn lactic trong quá trình lên men ôliu tìm thấy tương tự như trong quá trình lên men rau quả khác. Vi khuẩn sinh khí không đáng kể so với vi khuẩn lên men lactic đồng thể.

Nói chung quá trình lên men ôliu xảy ra ba giai đoạn đặc thù, đôi khi xem giai đoạn hư hỏng là giai đoạn thứ tư. (Garrido - Fernandez cùng cộng sự, 1995). Một số lượng lớn vi sinh vật hiện diện trong suốt giai đoạn đầu của quá trình ngâm. Những vi sinh vật này hiện diện tốt trên quả như là trong thùng lên men. Phần lớn vi sinh vật này là vi khuẩn gram âm (*Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Aeromonas* spp.) tốt như một vài nấm mốc, và sẽ bị tiêu diệt

dưới điều kiện yếm khí. Thành viên của nhóm coliform - aerogenes (*Enterobacter cloacae*, *Citriobacter spp.*, *Klebsiella aerogenes* và *Escherichia coli*) cũng hiện diện dưới mức độ cao trong suốt giai đoạn đầu của quá trình lên men. Vi sinh vật có khả năng chiếm ưu thế trong suốt hai ngày đầu của quá trình lên men và dần dần biến mất trong suốt giai đoạn hai của quá trình lên men. Bởi vì nhóm vi khuẩn này nhạy cảm với pH thấp, nói chung chúng biến mất theo sau sự giảm pH bởi sự nhân lên của vi khuẩn lactic. Ở giai đoạn đầu số lượng của coliform và bacilli xuất hiện chậm hơn quá trình lên men rau quả khác, giữ được lâu đến 10 - 14 ngày. Vi khuẩn lactic ở giai đoạn đầu của quá trình lên men này là giống genus *Pediococcus*, *Leuconostoc* và *Lactococcus*.

Để làm giảm sự phát triển của vi sinh vật gram âm trong giai đoạn đầu, pH có thể giảm xấp xỉ 6.0 đến khi có sủi CO₂ hoặc bằng cách thêm acetat, lactat, hoặc dạng HCl thực phẩm.

Giai đoạn hai của quá trình lên men được xác định là quá trình lên men bắt đầu ở pH = 6.0 và tiếp tục pH = 4.5 vi khuẩn gram âm về cơ bản bị biến mất. Giai đoạn này có thể 10 - 15 ngày, được xác định bởi sự phát triển của lactobacilli (trừ *lactobacillus plantarum* và *Lb. Delbrueckii*) và nấm men. Số lượng lớn lactobacilli tiêu biểu đạt được 7 hoặc 10 ngày sau khi ngâm. Sau đó, số lượng giữ nguyên hoặc giảm chậm khoảng 60 - 300 ngày của quá trình lên men. Với kỹ thuật lên men hiện đại, ban đầu mật độ không lactic bị giảm và *Pediococcus*, *Leuconostoc* và *Lactococcus spp.* Những vi sinh vật này có thể quan trọng nếu nồng độ muối giảm.

Giai đoạn ba của quá trình lên men bắt đầu khi pH giảm đến 4.5 và kết thúc khi hợp chất hydro carbon để lên men không còn nữa. Vi khuẩn có ưu thế hơn là *Lb. Plantarum*, với mức độ thấp của *Lb. Delbrueckii* được tách ra. Thêm vào đó, nấm men lên men và oxy hoá cũng được tìm thấy ở mức độ cao vừa phải trong giai đoạn lên men này. Nấm men lên men sản phẩm, ethanol, ethyl acetate, và acetaldehyde, là những chất xây dựng mùi cuối cùng của sản phẩm. Thêm vào đó, chúng sinh một lượng vitamin, có thể thúc đẩy sự phát triển của *Lb. Plantarum* (Ruiz- Barba & Jimenez- Diaz, 1995).

Mật độ nấm men thuộc nhiều loại khác nhau. *Hansenula anomala*, *Candida Krusei*, *Saccharomyces chevalieri*, *Candida parasitopsis* và *Hansenula subpelliculosa* thì có ảnh hưởng lớn trong một vài quá trình lên men (Ghi nhận của Garrido - Fernandez cùng cộng sự, 1995), trong lúc Marquina cùng cộng sự (1992) cho rằng tính vượt trội của *Pichia spp.*, tốt như *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis* và *Rhodotorula mucilaginosa*. Việc phân bố nấm men trong quá trình lên men là chưa rõ ràng; tuy nhiên, chúng có vai trò tạo ra đặc tính cảm quan riêng biệt của sản phẩm ôliu lên men.

Nấm men oxy hoá có thể có hại bởi chúng sử dụng acid lactic và pH nâng lên, dẫn đến hư hỏng.

2.3.3.1 . Cách cấy men giống

Hầu hết các nhà chế biến không cấy vào thùng lên men với giống men thuần chủng nhưng sử dụng thêm 1- 2 lít nước muối lên men từ sự lên men hoạt hoá vào 200 lít nước muối ngâm mẫu ôliu mới (Ferguson cùng cộng sự, 1994). Hoạt tính tiêu biểu của nước ngâm này là pH = 4.0 với hơn 10^6 cfu / ml *Lb. Plantarum*, cho quá trình lên men mới bắt đầu tốt.

Năm 1930, Cruess lần đầu tiên đề nghị sử dụng nước muối ngâm lên men thông thường như chất môi cho nước ngâm ôliu mới. Năm 1937, ông đề nghị sử dụng *Lb. Plantarum* là một men nuôi cấy. *Lb. Brevis*, *Lb. fermenti*, *Lb. Buchneri* và *L. mensenteroides* cũng được sử dụng như sự nuôi cấy men mang tính thực nghiệm; tuy nhiên, số ít trong chúng chiếm ưu thế hơn vi sinh vật tự nhiên. Etchells cùng cộng sự (1996) đã sử dụng như sự nuôi cấy thuần chủng và pha trộn giống tiêm chủng *Lb. Plantarum*, *Lb. Brevis*, *P. pentosaceus* và *L. mensenteroides* sốc nhiệt (74⁰C trong 3 phút) và ôliu không xử lí nhiệt với nồng độ muối thấp (5 - 6%). Sự nuôi cấy có thể chiếm ưu thế trong hệ thống sốc nhiệt nhưng không trong ôliu không xử lí nhiệt. *Lb. Plantarum* vượt trội khi cấy phối trộn hai hoặc ba giống

Lb. Plantarum LPCO10 nguyên thủy được tách ra từ ôliu xanh lên men và dẫn đến sản xuất ra hai vi khuẩn: plantaricins S (pIS) và T (pTI) (Jimenez - Diaz cùng cộng sự, 1993). Sự kết hợp các loại vi khuẩn bao gồm vi khuẩn lactic, vi

khuẩn propionic và clostridia có kết quả ức chế sự phát triển của vi khuẩn gây hư hỏng. Ruiz - Barba cùng cộng sự (1994) chỉ rằng giống này sản xuất chất diệt khuẩn, nhưng không bắt nguồn từ vi khuẩn trái dấu của nó, có thể vượt trội trong lên men ôliu - đề nghị rằng sản xuất vi khuẩn có thể sản xuất trong sự phát triển nuôi cấy men giống cho ôliu.

2.3.4. Hao hụt và hư hỏng của ôliu lên men

Sau quá trình lên men, ôliu được tồn trữ trong nước ngâm. Do đó, điều chỉnh để acid hoá và nồng độ muối thích hợp là quan trọng để ngăn ngừa hư hỏng.

Được gọi là giai đoạn lên men thứ tư xảy ra trong quá trình tồn trữ ôliu và không đáng kể. Ôliu được dự trữ trong nước ngâm lên men với muối thêm vào xấp xỉ 8% đến khi đem bán. Nếu ôliu không được muối trong một thời gian, hoặc nếu pH cuối cùng quá cao (> 4.0), *Propionibacterium* spp. có thể phát triển, tạo thành acid acetic và acid propionic tại phí tổn của acid lactic. Nếu giai đoạn này được tiếp tục, thì có thể thấy được pH của nước ngâm gia tăng nhanh, theo đó là sự phát triển của clostridia.

Đặc điểm hư hỏng ở ôliu chín California là thịt quả mềm và da bị tróc. Vi khuẩn gram âm pectinolytic gồm *Enterobacter aerogenes* và *Aeromonas liquefaciens* hầu như kết có liên quan đến sự hư hỏng.

Nếu nồng độ muối thiếu hoặc quá trình lên men quá chậm, vi khuẩn coliform phát triển làm mềm cấu trúc. Coliform và nấm men có thể là nguyên nhân sinh bọt khí trong ôliu và tạo hư hỏng “fisheye”. Thời gian chờ ngâm ôliu vào nước muối dài có thể gây hao hụt sản phẩm. Giảm sự hao hụt này, tạo điều kiện cho vi khuẩn *Lb. Plantarum* phát triển, vi khuẩn này có dưới lớp vỏ ôliu.

“ Những nấm men màu hồng “ *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* R. minuta var. *minuta* và *R rubra* có liên quan với sự làm mềm ôliu. Chúng sản xuất enzyme poly-glacturonase là nguyên nhân làm mềm mô. Sự phát triển của nấm men có thể ngăn chặn bởi duy trì trạng thái yếm khí (thường sử dụng) hoặc dùng tay loại bỏ lớp nấm men (ít sử dụng).

Hư hỏng Zapatera của ôliu có đặc điểm là mùi không mong muốn cao trong quả lên men. Giai đoạn đầu nó có mùi phomai nhưng qua một thời gian nó