

## بررسی امکان کاهش غلظت نمک در کلم شور تخمیری (ساورکرات) با استفاده از عصاره کاکوتی

نرگس اصلانپور<sup>۱</sup>، فاطمه حسینمردی<sup>۲\*</sup>، سارا کوهی کمالی<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۲۵)

### چکیده

ساورکرات یک محصول غذایی تخمیری است که به علت محتوای نمک زیاد، از نظر تغذیه‌ای محدودیت مصرف دارد. تحقیق حاضر جهت تولید ساورکرات کم نمک (با میزان نمک ۱ و ۱/۵ درصد) با طول عمر نگهداری مناسب، از طریق جایگزینی عصاره اتانولی کاکوتی با بخشی از نمک انجام شد و مهمترین ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و حسی نمونه‌ها بررسی گردید. ۴ نمونه حاوی غلظت‌های مختلف نمک (۱ و ۱/۵ درصد) و عصاره کاکوتی (۲ و ۴ گرم بر لیتر) و یک نمونه شاهد هریک در شش فاصله زمانی پس از تهیه (روزهای ۰، ۴، ۷، ۸، ۱۴ و ۲۱) آزمایش شدند و با احتساب سه تکرار در مجموع ۹۰ تیمار مورد بررسی قرار گرفت.

با اتمام فرآیند تخمیر در روز هفتم، مقدار pH در تمامی نمونه‌ها کاهش یافت ولی در محدوده استاندارد (۳-۴) بود، اسیدیتته فرآورده‌ها نیز افزایش یافت ولی با مقدار استاندارد (۰/۴۵-۱/۶۰) مطابقت داشت. در روز هفتم، در تمامی تیمارها تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک بدون اختلاف معنادار افزایش یافت ( $p > 0/05$ ) و در اکثر تیمارها قارچی وجود نداشت. اثر عصاره کاکوتی بر ویژگی‌های حسی معنادار نبود ( $p > 0/05$ ) و نمونه حاوی ۱/۵ درصد نمک امتیاز حسی بیشتری نسبت به غلظت کمتر آن (۱ درصد) کسب کرد.

به منظور افزایش ماندگاری و کاهش میزان نمک در فرآورده و در عین حال حفظ ویژگی‌های مطلوب ارگانولپتیک، شیمیایی و میکروبی ساورکرات، می‌توان از عصاره کاکوتی همراه با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ درصد نمک استفاده کرد.

**کلید واژگان:** عصاره کاکوتی، ساورکرات، ماندگاری، نمک، ویژگی‌های حسی

## ۱- مقدمه

نتایج مطالعات اخیر نشان داده است که میوه‌ها و سبزی‌ها می‌توانند به عنوان سوبستراهای ایده‌آل برای کشت میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده در نظر گرفته شوند و از آنجا که به طور طبیعی دارای مواد مغذی مفیدی مانند مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیبرهای رژیمی و آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و فاقد آلرژن‌های فرآورده‌های لبنی هستند، امروزه برای تولید محصولات تخمیری و پروبیوتیکی جدید بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱].

ساورکرات از تخمیر طبیعی برگ‌های کلم تازه توسط باکتری‌ها و به طور عمده باکتری‌های اسید لاکتیک طبیعی در حضور ۲ تا ۳٪ نمک حاصل می‌شود [۲]. سرعت تخمیر در ساورکرات به دمای تخمیر، اندازه قطعات خرد شده کلم، نوع سبزیجات افزوده شده و میزان نمک بستگی دارد [۳]. باکتری‌های اسید لاکتیک که غالباً در تهیه ساورکرات مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل لوکونوستوک مزنتروئیدس<sup>۱</sup>، لوکونوستوک فالکس<sup>۲</sup> و لاکتوباسیلوس پلانتاروم<sup>۳</sup> هستند [۴].

ساورکرات منبع خوبی از آهن، کلسیم و ویتامین ث می‌باشد و از خواص آنتی‌اکسیدانی بالایی نیز برخوردار است [۵]. ایزوسیانات‌ها و ایندول‌های موجود در کلم دارای اثرات ضد سرطانی هستند و از بروز سرطان کولون، پستان، ریه، دستگاه گوارش و کبد جلوگیری می‌کنند [۶]. همچنین ساورکرات دارای اثرات مفید تغذیه‌ای از جمله ایجاد فلور میکروبی طبیعی، فعالیت ضد میکروبی و ضدپاتوژن‌ها، اثرات ضد سرطانی و ضد تومور، افزایش ایمنی بدن و کاهش میزان کلسترول خون است [۷]. مایع ساورکرات نیز برای مداوای بیماری‌های عفونی و به عنوان غذای فراسودمند و همچنین به عنوان نگهدارنده زنده مواد غذایی<sup>۴</sup> برای سایر مواد غذایی استفاده شود [۸].

قارچ‌های سطحی ساورکرات، اسیدپته را کاهش داده و به میکروارگانیسم‌های عامل فساد دیگر اجازه رشد داده و فسادهای شایع ساورکرات را سبب می‌شوند [۹]. به منظور جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب، افزایش عمر نگهداری و بهبود کیفیت ساورکرات از نایسین استخراج شده از لاکتوکوکوس لاکتیس به طور موفقیت آمیزی استفاده شده است [۱۰]. محققین از مایه کشت مخلوط لوکونوستوک مزنتروئیدس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به منظور کاهش باقیمانده ترکیب سرطانزای نیتريت در دوران تخمیر ساورکرات استفاده کرده و موفق به کاهش چشمگیر میزان نیتريت در نمونه تخمیر شده در مقایسه با نمونه شاهد شدند [۱۱].

گیاه کاکوتی با نام علمی *Ziziphora L. clinopodioides* گیاه علفی یک ساله و متعلق به تیره نعناعیان<sup>۵</sup> می‌باشد که به طور گسترده در اروپا و آسیا به ویژه ترکیه و غرب ایران (استان‌های ایلام، کردستان، کرمانشاه و لرستان) کشت می‌شود [۱۲، ۱۳، ۱۴]. این گیاه به صورت تازه و خشک شده و اسانس آن به طور گسترده‌ای به عنوان طعم دهنده در غذاها استفاده می‌شود [۱۳]. گیاه کاکوتی دارای ترکیبات شیمیایی پولگون<sup>۶</sup>، سیس ایزو پولگون<sup>۷</sup>، کینول<sup>۸</sup>، تیمول<sup>۹</sup>، آلفا و بتا پاینن پایپریتنون<sup>۱۰</sup>، ترپنوئیدها<sup>۱۱</sup> و فلاونوئیدها است و اثرات بازدارندگی آن بر روی اشرشیاکلی H7:O157 [۱۳]، مخمر کلویورومایسس مارکسیانوس [۱۵] و گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک استفیلوکوکوس اورئوس [۱۶] به خوبی به اثبات رسیده است. نتایج تحقیقات دیگر عملکرد مناسب اسانس‌های کاکوتی و همچنین زیره سبز و سیاه دانه را علیه اسپرژیلوس فومیگاتوس<sup>۱۲</sup> و اسپرژیلوس فلاووس<sup>۱۳</sup> و امکان کاربرد آنها را به صورت دارو

5. Lamiaceae
6. Pulegone
7. Cis- isopulegone
8. Cineole
9. Thymol
10. Piperitone
11. Terpenoides
12. Aspergillus fumigatus
13. Aspergillus flavus

1. Leuconostoc mesenteroides
2. Leuconostoc fallax
3. Lactobacillus plantarum
4. Biopreservative

هدف از این پژوهش تولید ساورکرات کم نمک (با میزان نمک ۱ و ۰/۱٪) با ماندگاری بالا، از طریق جایگزینی عصاره اتانولی کاکوتی (۲ و ۴ گرم بر لیتر) با بخشی از نمک و بررسی اثر عصاره مذکور بر pH، اسیدیته، ویژگی‌های حسی نمونه‌ها، زنده‌مانی باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمر و کپک در مقایسه با نمونه شاهد بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

کاکوتی تازه (*Ziziphora clinopodioides*) و کلم قرمز (*Capita f. rubra*) از بازار تره بار تهران خریداری شدند. اتانول از شرکت هامون طب مرکزی، (تهران، ایران) قرص رینگر و سود از کمپانی مرک (Darmstadt، آلمان)، محیط کشت-های YGC، MRS، PCA و شرکت QUELAB (مونترال، کانادا) و محیط کشت نوترینت آگار از شرکت IBRESCO (تهران، ایران) خریداری شدند.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- تهیه عصاره کاکوتی

کاکوتی تازه پس از خشک کردن و آسیاب کردن، به مدت ۸ ساعت در اتانول ۹۶٪ خیس‌انده شد و سپس با عبور دادن مخلوط حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف گردید. محلول عبور کرده از صافی در روتاری با دمای ۴۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت تغلیظ و سپس در دمای اتاق و در حضور لامپ UV خشک و استریل و در یخچال تا زمان مصرف نگهداری شد [۱۳].

#### ۲-۲-۲- تهیه ساورکرات

تخمیر نمونه‌های ساورکرات مورد آزمایش در ظروف شیشه‌ای کوچک درب‌دار با محتوی ۶۹/۵ گرم کلم خرد شده، و غلظت نمک ۱ و ۱/۵ درصد و غلظت عصاره کاکوتی ۲ و ۴ گرم بر لیتر به روش تخمیر خود به خودی صورت گرفت در حالیکه در

و عناصر ضد قارچی در صنایع غذایی و همچنین پزشکی، داروسازی، دامپزشکی، آرایشی، بهداشتی و رایحه درمانی نشان می‌دهد [۱۷]. سایر محققین گزارش کرده‌اند که استفاده از عصاره کاکوتی هیچ اثر بازدارندگی روی باکتری‌های اسید لاکتیک ندارد [۱۴، ۱۸، ۱۹]. از آنجایی که ترکیبات ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های روغنی در حقیقت فنولیک‌ها و ترپن‌ها هستند، احتمالاً مکانیسم اثر ضد میکروبی آنها مشابه ترکیبات فنولی و ترپنی می‌باشد [۲۰].

استفاده از گیاهان تیره نعناعیان در معالجه بیماری‌های گوارشی و ویروسی از دیرباز در ایران متداول بوده و به عنوان مثال می‌توان از استفاده از گیاه کاکوتی کوهی به همراه ماست برای اهداف مذکور نام برد [۱۴]. از تحقیقات انجام شده در این زمینه می‌توان به بررسی اثر عصاره‌های دارچین، میخک، هل و نعناع فلفلی بر رشد باکتری‌های آغازگر ماست (استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس) [۲۱]، مطالعه اثر عصاره گیاهان دارویی بومی استرالیا شامل نعناع، لیمون میرتل و باش تومیتو بر سرعت رسیدگی پنیر بسته‌بندی شده تحت خلاء [۱۹] و بررسی اثر عصاره گیاهان نعناع، آویشن و سیر بر تعداد استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در نمونه‌های آیران (دوغ محلی ترکیه) اشاره کرد [۱۸].

در خصوص اثر عصاره کاکوتی بر مهمترین خصوصیات ساورکرات و امکان کاهش میزان نمک با استفاده از غلظت‌های مختلف آن تا به حال تحقیقی انجام نگرفته و نظر به به اهمیت کاهش مصرف نمک در فراورده‌های غذایی و همچنین خصوصیات عملکردی مناسب گیاه کاکوتی؛ بررسی امکان کاهش نمک در فرمولاسیون ساورکرات با استفاده از عصاره کاکوتی، در حالیکه اثر نامطلوب بر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک نداشته باشد و مانع رشد قارچ (شایع‌ترین نوع فساد ساورکرات) شود، اهمیت زیادی دارد.

روش هدونیک ۵ امتیازی انجام گرفت. اعداد ۱ تا ۵ به ترتیب مربوط به امتیازهای خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب بود [۱۳].

#### ۲-۲-۵- آزمون‌های میکروبی

کشت میکروب‌ها به روش پور پلیت و شمارش تعداد کلنی‌ها طبق استاندارد ملی ایران شماره ۳۵۶ صورت گرفت [۲۴]. به منظور شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک ساورکرات از محیط کشت MRS و برای کشت قارچ‌ها نظیر برخی گونه‌های ساکارومایسس، ردوترولا، کاندیدا، کلاورومایسس، اسکوپولاریوپسس، ساکارومایسس و کپک‌های گونه اسپرژیلوس از محیط کشت YGC حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل استفاده شد.

#### ۲-۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی و سه عامل در زمان انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SAS 9.2 و مقایسه میانگین داده‌های به دست آمده از هر تیمار توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن و در سطح احتمال ۵٪ صورت گرفت. اعداد گزارش شده میانگین سه تکرار با یک انحراف معیار می‌باشند.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- تغییرات pH و اسیدیته

تغییرات pH نمونه‌ها در جدول ۲، نشان داده شده است. در طول دوره آزمایش تا اتمام تخمیر (روز هفتم)، pH کاهش یافت و مقدار آن در تمامی نمونه‌ها در روز هفتم در محدوده استاندارد (۳-۴) قرار داشت. مقدار pH نمونه شاهد و تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ( $p < 0.05$ ) ولی مقادیر آن مطابق استاندارد بود و در کلیه تیمارها از روز ۷ تا ۲۱ تغییرات اندکی را نشان داد.

نمونه شاهد غلظت نمک ۲٪ بود و از عصاره کاکوتی در آن استفاده نشد. غلظت نمک و عصاره کاکوتی با در نظر گرفتن غلظت نمک در نمونه‌های موجود در بازار (نمونه شاهد) و با توجه به مطالعات پیشین در این زمینه و آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین حداقل غلظت نمک و عصاره کاکوتی مورد نیاز برای حفظ خصوصیات حسی و طول عمر نگهداری مطلوب تعیین شد. تخمیر به مدت یک هفته در دمای ۲۴ درجه سانتیگراد و پاستوریزاسیون در روز هشتم در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و سپس نمونه‌ها تا ۲۱ روز در دمای اتاق نگهداری شدند. هدف از پاستوریزاسیون، بررسی اثر نگهدارندگی عصاره کاکوتی و نمک در مقادیر معین، در دوران تخمیر ساورکرات بود [۱۳]. فرمولاسیون تهیه ساورکرات در جدول ۱ نشان داده شده است.

**Table 1** Experimental design for sauerkraut formulation

Ziziphora Extract (g/l)	Salt (%)	Sample
0	2	Control
2	1	T <sub>1</sub> *
4	1	T <sub>2</sub>
2	1.5	T <sub>3</sub>
4	1.5	T <sub>4</sub>

\*T: Treatment

#### ۲-۲-۳- اندازه‌گیری اسیدیته و pH

اسیدیته و pH نمونه‌ها در روزهای ۱، ۴، ۷، ۸ و ۲۱ اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری pH توسط pH متر (Martini، سوئیس) پس از کالیبر کردن با محلول‌های استاندارد با pH های ۷ و ۴ مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۴۴۰۴ [۲۲] و اندازه‌گیری اسیدیته طبق روش کاپوچینو و شرممن [۲۳] انجام شد.

#### ۲-۲-۴- ارزیابی ویژگی‌های حسی

اندازه‌گیری بو، طعم، رنگ، بافت، یکنواختی و پذیرش کلی طبق

**Table 2** Mean comparison of pH values of sauerkraut prepared using different concentration of salt and *Ziziphora* extract.

Sample	Time (day)					
	0	4	7	*8	14	21
T1	6.06±0.06 <sup>a</sup>	4.14±0.01 <sup>e</sup>	4.05±0.04 <sup>fg</sup>	4.28±0.01 <sup>d</sup>	4.16±0.01 <sup>e</sup>	3.96±0.00 <sup>hij</sup>
T2	4.32±0.02 <sup>d</sup>	4.05±0.04 <sup>fg</sup>	3.85±0.04 <sup>lm</sup>	3.80±0.10 <sup>m</sup>	3.93±0.01 <sup>ijk</sup>	3.85±0.03 <sup>lm</sup>
T3	5.85±0.04 <sup>b</sup>	4.08±0.08 <sup>f</sup>	3.91±0.01 <sup>i-l</sup>	4.14±0.01 <sup>e</sup>	4.15±0.05 <sup>e</sup>	4.06±0.15 <sup>fg</sup>
T4	4.52±0.02 <sup>c</sup>	3.97±0.02 <sup>hi</sup>	3.85±0.42 <sup>lm</sup>	3.87±0.01 <sup>klm</sup>	3.86±0.04 <sup>lm</sup>	3.91±0.01 <sup>i-l</sup>
Control	4.50±0.02 <sup>c</sup>	4.00±0.04 <sup>gh</sup>	3.90±0.01 <sup>ijkl</sup>	4.10±0.02 <sup>ef</sup>	4.00±0.025 <sup>gh</sup>	3.90±0.03 <sup>kl</sup>

<sup>a-m</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

طول دوره آزمایش تا روز هفتم در تمامی نمونه‌ها، اسیدیته افزایش یافت و مقادیر اسیدیته در تمامی دوره‌ها در محدوده استاندارد (۱/۶۰-۰/۰۴۵) بود. تقریباً در تمامی مدت مطالعه اسیدیته نمونه شاهد و تیمارها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ).

در روز ۷، میزان pH در کلیه نمونه‌ها به میزان استاندارد (۳-۴) رسید که با مطالعه *Pundir* و همکاران در بررسی فلور میکروبی، pH و اسیدیته ساورکرات طی تخمیر و نگهداری مطابقت داشت [۲۵].  
تغییرات اسیدیته نمونه‌ها در جدول ۳، نشان داده شده است. در

**Table 3** Mean comparison of acidity values of sauerkraut prepared with different concentration of salt and *Ziziphora* extract

Sample	Time (day)					
	0	4	7	8*	14	21
T1	0.050±0.001 <sup>p</sup>	0.070±0.001 <sup>lmn</sup>	0.120±0.002 <sup>ighi</sup>	0.130±0.002 <sup>d</sup>	0.130±0.002 <sup>de</sup>	0.120±0.003 <sup>efgh</sup>
T2	0.080±0.001 <sup>l</sup>	0.060±0.001 <sup>no</sup>	0.120±0.003 <sup>fghi</sup>	0.120±0.003 <sup>d-h</sup>	0.120±0.003 <sup>fghi</sup>	0.130±0.003 <sup>def</sup>
T3	0.050±0.001 <sup>p</sup>	0.070±0.042 <sup>mno</sup>	0.150±0.002 <sup>c</sup>	0.100±0.002 <sup>jk</sup>	0.110±0.003 <sup>ijk</sup>	0.110±0.002 <sup>g-j</sup>
T4	0.100±0.027 <sup>k</sup>	0.060±0.030 <sup>op</sup>	0.190±0.004 <sup>a</sup>	0.120±0.002 <sup>d-g</sup>	0.130±0.017 <sup>d</sup>	0.170±0.017 <sup>b</sup>
Control	0.080±0.001 <sup>lm</sup>	0.100±0.007 <sup>k</sup>	0.150±0.003 <sup>c</sup>	0.180±0.002 <sup>b</sup>	0.110±0.002 <sup>h-k</sup>	0.130±0.002 <sup>def</sup>

<sup>a-p</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

باکتری‌های اسید لاکتیک و کاهش اسیدیته تا حد مطلوب ندارد [۱۴]. سیمک و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که اثر عصاره‌های نعنای، آویشن و سیر بر میزان اسیدیته در دوغ، در مقایسه با نمونه شاهد معنادار نمی‌باشد [۱۸]. همچنین آگیولا و تسیک (۲۰۰۲) مشاهده نمودند که تغییرات اسیدیته در نمونه‌های پنیر حاوی عصاره‌های نعنای، لیمون میرتل و باش تومیتو در مقایسه با نمونه شاهد معنادار نیست [۱۹].

### ۳-۳- تغییرات تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک

تغییرات تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در جدول ۴، نشان داده شده است. در طول دوره نگهداری، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک تا روز هفتم افزایش یافت. در تمامی تیمارها که در آنها از

میزان اسید لاکتیک تولید شده در نمونه‌ها در روز اول (۰/۲۵) تا ۰/۳٪ می‌تواند به دلیل فعالیت باکتری‌های هتروفرومتاتیو و میزان اسید لاکتیک تولید شده در روز چهارم و هفتم (۱/۵- ۲٪) می‌تواند به دلیل فعالیت باکتری‌های هموفرومتاتیو در این دوره زمانی باشد [۴]. در روز هفتم، میزان اسیدیته در کلیه نمونه‌ها به ۰/۱- ۰/۲٪ افزایش یافت که با نتایج مطالعه *Pundir* و همکاران در بررسی pH و اسیدیته ساورکرات طی تخمیر و نگهداری مطابقت داشت. این محققین میزان اسیدیته نمونه‌های ساورکرات را در مدت زمان مشابه پس از تخمیر ۱/۶۰-۰/۰۴۵ ذکر کرده‌اند [۲۵].

مهربان سنگ آتش و همکاران (۱۳۸۵) در مطالعه‌ای با هدف ارزیابی اثر گیاه کاکوتی کوهی بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست نتیجه گرفتند که عصاره کاکوتی کوهی اثری بر فعالیت

می‌یابد. با هدف بررسی اثر نگهدارندگی عصاره کاکوتی و نمک در دوران تخمیر ساورکرات، نمونه‌ها در روز هشتم پاستوریزه شدند. در سه دوره آخر آزمایش، پس از انجام پاستوریزاسیون، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک قابل شمارش صفر بود که نشان دهنده عملکرد مناسب عصاره کاکوتی در جلوگیری از رشد باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید اسید بیشتر توسط این ریزسازواره‌ها می‌باشد.

عصاره کاکوتی استفاده شده بود، تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک از روز ۴ الی ۷ کاهش یافت، در صورتی که در نمونه شاهد افزایش تعداد این باکتری‌ها مشاهده شد. تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در اغلب تیمارها و در تمام دوره‌های زمانی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نشان نداد ( $p > 0.05$ ) اما نسبت به نمونه شاهد کمتر بود که بیانگر اینست که در حضور عصاره کاکوتی رشد و تکثیر این ریزسازواره‌ها نسبت به نمونه شاهد کاهش

**Table 4** Counts of viable lactic acid bacteria (cfu/ml) in the sauerkraut at various time intervals of fermentation

Sample	Time (day)					
	0	4	7	*8	14	21
T1	1600000±7636 <sup>d</sup>	24033333±10000000 <sup>bcd</sup>	3500000±1000000 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>
T2	1400000±17320 <sup>d</sup>	53000000±51097945 <sup>b</sup>	6804000±1000000 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>
T3	1391667±100000 <sup>d</sup>	38516666.67±27426386 <sup>bc</sup>	4250000±707107 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>
T4	1355000±100000 <sup>d</sup>	47000000±38431758 <sup>bc</sup>	21402000±6928 <sup>cd</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>
Control	5684516±100000 <sup>d</sup>	40000000±38431757 <sup>bc</sup>	43333333±6928 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>d</sup>

<sup>a-d</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

تغییرات تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های ساورکرات در جدول ۵ نشان داده شده است. در روز هفتم، تقریباً در تمامی تیمارها بدون اختلاف معنی‌دار ( $p > 0.05$ )، قارچی وجود نداشت و یا تعداد قارچ‌ها در مقایسه با نمونه شاهد بسیار اندک بود ولی نمونه شاهد با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ )، دارای بیشترین تعداد کپک و مخمر بود. از نظر تعداد باقیمانده کپک و مخمر که عامل شایع‌ترین نوع فساد ساورکرات هستند، تیمارهای ۱ (۱٪ نمک و ۲ گرم بر لیتر عصاره کاکوتی)، ۲ (۱٪ نمک و ۴ گرم بر لیتر عصاره کاکوتی) و ۳ (۲٪ نمک و ۲ گرم بر لیتر عصاره کاکوتی) نسبت به تیمار ۴ (۲٪ نمک و ۴ گرم بر لیتر عصاره کاکوتی) ارجحیت داشتند زیرا از روز هفتم تا روز بیست و یکم هیچ کپک و مخمری در آنها مشاهده نشد.

در مجموع نتایج شمارش تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های حاوی غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی نشان‌دهنده روند کاهشی تعداد قارچ‌ها و اثر بازدارندگی عصاره بر رشد و فعالیت قارچ‌ها بود که با نتایج تحقیقات مشابه در این زمینه هم راستا بود [۲۵].

تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در تمامی نمونه‌ها، تا روز چهارم، افزایش یافت که تایید کننده اثر ممانعت‌کنندگی نمک بر فعالیت باکتری‌های گرم منفی و حمایت از رشد باکتری‌های اسید لاکتیک است [۲۵]. در روز هفتم تخمیر به بیشینه مقدار خود رسید که می‌تواند به دلیل فعالیت عمده باکتری‌های هتروفرمنتاتیو شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانٹاروم، کوکومریس و برویس باشد [۴] و تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک در مجموع سه دوره اول، تقریباً یک لگاریتم افزایش داشت که با نتایج مطالعات مشابه در این زمینه مطابقت دارد [۲۵]. تعداد این باکتری‌ها در اغلب تیمارها در تمام دوره‌های زمانی دارای اختلاف معنی‌داری نبود و هم راستا با نتایج مطالعات پیشین بود که در آن اثر کاکوتی بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست بررسی شده بود [۱۴]. این محققین اظهار داشتند که اثر غلظت‌های مختلف عصاره کاکوتی تا روز شانزدهم بر تعداد باکتری‌های آغازگر ماست معنی‌دار نبوده و از آن روز به بعد فقط در غلظت ۴۰۰۰ میکروگرم بر لیتر اثر معنی‌داری بر تعداد این باکتری‌ها در ماست داشته است [۱۴].

### ۳-۴- تغییرات تعداد کپک و مخمر

**Table 5** Counts of viable fungi (cfu/ml) in the sauerkraut at various time intervals of fermentation

Samples	Time (day)					
	0	4	7	*8	14	21
T1	5±1 <sup>h</sup>	7.7±0.58 <sup>g</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>
T2	0±0 <sup>j</sup>	61.7±0.58 <sup>d</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>
T3	11±1 <sup>e</sup>	8±1.29 <sup>fg</sup>	10±1.41 <sup>ef</sup>	1.3±0.58 <sup>ij</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>
T4	303.3±5.8 <sup>a</sup>	110.3±0.58 <sup>b</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>
Control	0±0 <sup>j</sup>	3±0.2 <sup>hi</sup>	108±0.58 <sup>c</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>	0±0 <sup>j</sup>

<sup>a-j</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**۳-۵- ویژگی‌های حسی ساورکرات**

طبق نتایج بدست آمده از جدول ۶، اثر عصاره کاکوتی بر ویژگی‌های حسی ساورکرات بدون معنا ( $p > 0.05$ ) و اثر نمک بر تمامی خواص حسی به غیر از پذیرش کلی، معنادار بود. ( $p < 0.05$ )

اثر بازدارندگی می‌تواند به علت حضور باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید ترکیبات فرار و پراکسید هیدروژن توسط این باکتری‌ها و pH پایین محیط [۱۳] و همچنین فلاوونوئیدهای موجود در عصاره کاکوتی [۲۶] باشد. در مطالعه اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی در دوغ، فعالیت ممانعت‌کنندگی این عصاره بر اشرشیاکلی O 157:H7 و همزمان اثر تحریک‌کنندگی بر رشد و فعالیت لاکتوباسیلوس کازئی گزارش شده است [۱۳].

**Table 6** The means squares of sensory scores of sauerkraut samples containing different concentrations of salt and extract of *Ziziphora*

Variables	Degree of Freedom	Means Squares				
		Taste	Colour	Odour	Texture	Total Acceptance
Extract of ziziphora	1	1.25 <sup>ns</sup>	0.8 <sup>ns</sup>	1.25 <sup>ns</sup>	1.25 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>
Salt	1	4.05*	3.2*	2.45*	4.05*	1.25 <sup>ns</sup>
Extract × Salt	1	0.05 <sup>ns</sup>	0.20 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>
Error	16	0.475	0.425	0.45	0.725	0.475
CV (%)	-	19.98 <sup>ns</sup>	18.63	19.44	24.68	19.98

\* and ns signify  $p < 0.05$  and  $p > 0.05$ , respectively.

نمونه‌های محتوی غلظت بیشتر نمک نسبت به نمونه‌های محتوی مقادیر کمتر نمک دارای امتیاز حسی بالاتری بودند. امتیاز حسی نمونه‌های دارای ۱/۵٪ نمک (T<sub>3</sub> و T<sub>4</sub>) نسبت به نمونه شاهد (دارای ۲٪ نمک و بدون عصاره کاکوتی) کمتر بود. همچنین نمک با غلظت ۱/۵٪، با اختلاف معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) امتیاز حسی بالاتری نسبت به غلظت کمتر آن (۱٪) از نظر طعم، رنگ، بو و بافت داشت در حالیکه اثر نمک بر پذیرش کلی ساورکرات معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ).

نمونه‌های ساورکرات با غلظت‌های مختلف نمک، امتیاز حسی متفاوتی با یکدیگر داشتند و نمونه‌های دارای عصاره کاکوتی با غلظت‌های مختلف ۲ و ۴ گرم بر لیتر، تفاوت قابل توجه و معنی‌داری در ویژگی‌های حسی نشان ندادند (جدول ۶). به همین دلیل ویژگی‌های حسی نمونه‌ها تنها از نظر میزان نمک با یکدیگر و با شاهد مقایسه شدند و نتایج این مقایسه در جدول ۷ نشان داده شده است. همانطور که از نتایج ارائه شده در جدول ۶ مشاهده می‌شود،

**Table 7** Effect of salt concentration on the taste, colour, odour and texture of sauerkraut

Salt (%)	Taste	Colour	Odour	Texture
2 (Control)	4.2±0.1 <sup>a</sup>	4.2±0.11 <sup>a</sup>	4±0.4 <sup>a</sup>	4.2±0.2 <sup>a</sup>
1.5	3.9±0.14 <sup>b</sup>	3.1±0.15 <sup>c</sup>	3.1±0.1 <sup>c</sup>	3±0.1 <sup>c</sup>
1	3±0.2 <sup>c</sup>	3.9±0.09 <sup>b</sup>	3.9±0.3 <sup>ab</sup>	3.9±0.12 <sup>b</sup>

<sup>a-c</sup> Means with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ )

کیک و مخمر) و ویژگی‌های ارگانولپتیک (پذیرش کلی) استفاده کرد. کاربرد عصاره کاکوتی و نمک در مقادیر ذکر شده، اثر منفی بر مهمترین خصوصیات شیمیایی ساورکرات نداشت، مقدار pH تا پایان فرآیند تخمیر به مقدار استاندارد (۳-۴) رسید، اسیدیته در تمامی دوره‌های آزمایش در محدوده استاندارد (۰/۴۵-۰/۶۰) قرار داشت و تا پایان فرآیند تخمیر تعداد قارچ‌ها در تمامی نمونه‌ها صفر بود. با مصرف این عصاره تغییرات غیر قابل پذیرش در ویژگی‌های حسی ایجاد نشد ولی نمونه محتوی غلظت ۱/۵٪ نمک امتیاز حسی بیشتری از نظر رنگ، طعم، بو و بافت نسبت به نمونه محتوی ۱٪ نمک داشت ولی پذیرش کلی نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان ندادند.

## ۵- سپاسگزاری

از آزمایشگاه میزان سنجش پاسارگاد واقع در پارک علم و فناوری دانشکده کشاورزی کرج و مسئولین محترم آن واحد کمال سپاس را داریم.

## ۶- منابع

- [1] Granato, D., Branco, G.F., Cruz, G., Faria, J.F, and Shah, N.P., 2010. Probiotic Dairy Products as Functional Foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 9, No. 5, pp. 455–470.
- [2] Aneja, K.R.P., Jain, P., and Aneja, R., 2008. A Text Book of Basic and Applied Microbiology. *New Age International publisher*. First Edition, pp. 800.
- [3] Wiander, B., and palva, A., 2011. Sauerkraut and Sauerkraut Juice Fermentation Spontaneously Using Mineral Salt, Garlic and

در مجموع عصاره کاکوتی در غلظت‌های مختلف اثرات منفی و غیر قابل پذیرش بر ویژگی‌های حسی نداشت و نمک با غلظت ۱/۵٪ امتیاز حسی بالاتری از نظر رنگ، بو، طعم و بافت نسبت به غلظت کمتر آن (۱٪) داشت ولی از نظر پذیرش کلی امتیاز نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتیجه تحقیقات گذشته در بررسی اثر ضد میکروبی عصاره کاکوتی در دوغ در حاکی از اینست که طعم نمونه حاوی عصاره کاکوتی در غلظت ۰/۱٪ مطلوب بوده و امتیاز ارزیابی حسی نمونه‌ها را کاهش نداده است [۱۳].

برای کاهش میزان مصرف نمک در تولید محصول غذایی ساورکرات و در عین حال حفظ pH، اسیدیته و تعداد باکتری-های اسید لاکتیک در حد مطلوب و همزمان جلوگیری از رشد کپک و مخمر در محصول نهایی می‌توان از عصاره کاکوتی با غلظت‌های ۲ و ۴ گرم بر لیتر و نمک با غلظت ۱٪ استفاده کرد بدون اینکه پذیرش کلی نمونه‌ها دستخوش تغییرات معنی‌دار شود. مطالعات بیشتر در زمینه استفاده از عصاره و اسانس سایر گیاهان دارویی (نظیر سایر گیاهان تیره نعناع، پونه کوهی، پوست جوز، میخک، زیره سبز، آویشن و سیر) و همچنین جایگزین کردن بخشی یا تمام نمک با گیاهان شور نظیر گونه‌های *Suaeda* (علف شور) به منظور کاهش میزان مصرف نمک در فرآورده نهایی پیشنهاد می‌شود.

## ۴- نتیجه گیری

عصاره کاکوتی (با غلظت‌های ۲ و ۴ گرم بر لیتر) را میتوان به منظور افزایش مدت قابل نگهداری ساورکرات و کاهش میزان نمک تا ۱٪، بدون ایجاد مشکل در مهمترین خصوصیات شیمیایی (pH و اسیدیته) و میکروبی (شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک و



- Anatolia. *Pharmaceutical Biology*, Vol. 44, No. 2, pp. 121–126.
- [13] Shahbazi, Y., 2015. *Ziziphora Clinopodioides* Essential Oil and Nisin as Potential Antimicrobial Agents against *Escherichia Coli O157:H7* in Doogh (Iranian Yoghurt Drink). *Journal of Pathogens*, DOI: 10.1155/2015/176024.
- [14] Hadad Khodaparast, M.H., Mehraban Sangatash, M., Karazhyan, R., Habibi Najafi, M.B., and Beiraghi Toosi, S., 2007. Effect of Essential Oil and Extract of *Ziziphora Clinopodioides* on Yoghurt Starter Culture Activity. *World Applied Sciences Journal*, Vol. 2, No. 3, pp. 194–197.
- [15] Sonboli, A., Mirjalili, M.H., Hadian, J., Ebrahimi, S.N., and Yousefzadi, M., 2006. Antibacterial Activity and Composition of the Essential Oil of *Ziziphora Clinopodioides* Subsp. *Bungeana* (Juz) Rech. f. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C. A Journal of Biosciences*, Vol. 61, No. 9–10, pp. 677–680.
- [16] Jafari-Sales, A., Shahniani, A., Fathi, R., Malekzadeh, P., Mobaiyen, H., and Rasi-Bonab, F., 2017. Evaluation of Antibacterial Activity of Essential Oil of *Ziziphora Clinopodioides* and *Achillea Wilhelmsii* on Antibiotic-Resistant Strains of *Staphylococcus Aureus*. *Internal Medicine and Medical Investigation Journal*, Vol. 2, No. 2, pp. 32–36.
- [17] Minooeian Haghghi, M.H., and Khosravi, A., 2010. The Effects of the Herbal Essences on the Two Important Species of *Aspergillus*. *The Horizon of Medical Sciences*. Vol. 15, No. 4, pp. 5–15.
- [18] Simsek, B., Sagdic, O., and Ozcelik, S., 2007. Survival of *Escherichia Coli O157:H7* During the Storage of Ayran Produced with Different Spices. *Journal of Food Engineering*, Vol. 79, No. 2, pp. 679–680.
- [19] Agboola, S.O., and Tesic, M.R., 2002. Influence of Australian Native Herbs on the Maturation of Vacuum-Packed Cheese. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technology*, Vol. 35, pp. 575–582.
- [20] Shafei, M., Sharifan, A., and Aghazade Meshki, M., 2012. Composition of Essential Oil of *Ziziphora clinopodioides* and its Antimicrobial Activity on *Kluyveromyces Marxianus*. *Food Technology & Nutrition*, Vol. 9, No. 1, pp. 101–108.
- Algae. *Agricultural and Food Science*, Vol. 20, pp. 169–175.
- [4] Roberts, J.S., 2002. Development of Sauerkraut Blends to Stimulate the Market and the Senses. *Proceedings of the 2002 New York State Vegetable Conference*, Liverpool, New York. February 12–14.
- [5] Cao, G., Sofic, E., and Prior, R.L., 1996. Antioxidant Capacity of Tea and Common Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 44, pp. 3425–3431.
- [6] Didar, Z., and Asadabadi, Y., 2014. The Effect of Different Types of Cabbage and Flavors on the Chemical and Sensory Properties of Sauerkraut. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 6, No. 2, pp. 75–81.
- [7] Kim, H.Y., Min, J.H., Lee, J.H., and Ji, G.E., 2000. Growth of Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria in Natural Media Using Vegetables, Seaweeds, Grains and Potatoes. *Food Science and Biotechnology*, Vol. 9, No. 5, pp. 322–324.
- [8] Kamur, P.R., Amandeep, K., Neha, K., and Pranay, J., 2013. Fermented Sauerkraut Juice as Antimicrobial Agent: An *In Vitro* Study. *International Research Journal of Pharmacy*, Vol. 4, No. 12, pp.46–49.
- [9] Asehraou, A., Peres, C.D., Brito, M., and Serhrouchni, M., 2000. Characterization of Yeast Strain Isolated from Bloaters of Fermented Green Table Olives During Storage. *Grasasy Aceites*, Vol. 51, No. 4, pp. 225–229.
- [10] Musavinasab, M., and Mohammadpour, S., 2011. Investigation of the Effect of Nisin on Quality and Self Life of Sauerkraut. *Seventh Biotechnology Conference of the Islamic Republic of Iran*, Tehran, Iran. September 12–14
- [11] Mohammad Hassani, J., Darvishi, S.H., Hosseni, S.E, and Mirahmadi, F., 2011. The Effect of Inoculation of *Lactobacillus Plantarum*, *Leuconostoc Mesenteroides* on the Nitrite Concentration of Sauerkraut. *Journal of Food Technology and Nutrition* .Vol. 8, No. 4, pp. 29–37.
- [12] Konyalioglu, S., Qzturk, B., and Elgin, M.G., 2006. Comparison of Chemical Compositions and Antioxidant Activities of the Essential Oils of Two *Ziziphora* Taxa from

- National Iranian Standard*, No. 356, 10th Edition.
- [25] Pundir, R.K., and Jain, P., 2010. Change in Microflora of Sauerkraut during Fermentation and Storage. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, Vol. 5, No. 2, pp. 221–225.
- [26] Aljancic, I., Vajs, V., Menkovic, N., Karadžić, I., Juranić, N., Milosavljević, S., and Macura, S., 1999. Flavones and Sesquiterpene Lactones from *Achillea Atrata* Subsp *Multifida*: Antimicrobial Activity. *Journal of Natural Products*, Vol. 62, No. 6, pp. 909–911.
- [21] Bayoumi, S., 1992. Bacteriostatic Effect of Some Spices and Their Utilization in the Manufacture of Yoghurt. *Chemie Mikrobiologie Technologie der Lebensmittel*, Vol. 14, No. (1–2), pp. 21–26.
- [22] Anonymous, 1996. pH Measurement in Fruit and Vegetable Products. *National Iranian Standard*, No. 4404, First Edition.
- [23] Cappuccino, J.G., and Sherman, N., 1996. *Microbiology – A Laboratory Manual*. 4<sup>th</sup> Edition. The Benjamin/Cummings Publishing Co., California, USA, pp. 18.
- [24] Anonymous, 1971. Preparing Food Samples and Counting Various Microorganisms.

## Feasibility Investigation of application of *Ziziphora clinopodioides* Extract in Sauerkraut for Salt Concentration Reduction

Aslanpour, N. <sup>1</sup>, Hosseinmardi, F. <sup>2\*</sup>, Koohikamali, S. <sup>3</sup>

1. MSc of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, , Islamic Azad University, Post Box: 37541-374, Tehran, Iran
2. Lecturer, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

(Received: 2017/08/19 Accepted:2017/10/17)

Sauerkraut is a fermented food product which its consumption has dietary restriction because of its high salt concentration. Main aim of present study was to prepare low salt Sauerkraut (salt concentration of 1 and 1.5%) having appropriate shelf life, via fractional replacement of the ethanol extract of *Ziziphora* (2 and 4 mg/ml) with salt and the most important chemical, microbial and sensory properties of sauerkraut samples were investigated.

Four experimental treatments having different concentrations of salt (1 and 1.5%) and *Ziziphora* extract (2 and 4 mg/ml) and a control were tested in 6 time intervals after preparation of the samples (days 1, 4, 7, 8, 14, 21) and considering three replications, 90 treatments were investigated in total.

The pH values of all the samples reduced naturally and were in the limit of standard values (3-4) on 7<sup>th</sup> day of the fermentation process while acidity of the samples increased in such a way that remained again in standard limit amounts (0.045-1.60). On 7<sup>th</sup> day, the number of lactic acid bacteria increased in all treatments while no significant difference was observed ( $p>0.05$ ) and there was no fungi in most of the treatments. Effect of *ziziphora* extract on organoleptic characteristics was not significant ( $p>0.05$ ) and samples containing 1.5 g salt gained more sensory scores in comparison with samples having less salt concentration (1 g).

In order to increase the shelf life and reduce the concentration of salt in Sauerkraut while maintaining acceptable organoleptic, chemical and microbial characteristics, *ziziphora* extract along with 1 and 1.5% salt can be incorporated in the formulation of sauerkraut.

**Key words:** Salt, Sauerkraut, Sensory Properties, Shelf Life, *Ziziphora* Extract, *Ziziphora* Extract

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: fh5074@yahoo.com