

بررسی اثر *Lactobacillus. plantarum* , *Leuconostoc. mesenteroides* بر کاهش نیتريت طی دوره تخمير در کلم تخمیری (کلم شور)

جمال محمد حسنی^{a*}، شعله درویشی^b، سید ابراهيم حسینی^c، فردین میراحمدی^d

^a دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^b استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج

^c استادیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

^d عضو هیئت علمی گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۸/۲۳

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۹/۳۰

۲۹

چکیده

مقدمه: کاربرد بیش از اندازه کودهای ازته و همچنین فعالیت کم آنزیم نیتريت و نیترات ردوکتاز در برگ گیاهان، باعث تجمع نیتريت و نیترات در گیاهان برگی همچون کلم پیچ سفید (*B.o.var.alba*) می شود. نیتريت به عنوان یک ماده سرطانزا شناخته شده است. بنابراین در این تحقیق تغییرات غلظت نیتريت در کلم شور حین تخمير خود بخودی و تخمير تلقیح شده بوسیله مایه کشت میکروبی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: سوش‌های مورد استفاده در کلم شورها شامل *Leu. PPTC 1563*, *L. plantarum* PTCC 1058 و *meseneteriodes,subsp.mesenteroides* که در کلکسیون میکروبی ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) وجود دارند، فعال گشته و مایه‌های کشت، با تعداد معادل $5/6 \times 10^6$ cfu/gr برای بررسی انتخاب شدند. تخمير کلم در تیمارهای، تلقیح شده با مایه کشت خالص لاکتیکی (هموفرمانتاتیو)، تلقیح شده با مایه کشت خالص لاکتیکی (هتروفرمانتاتیو)، تلقیح شده با مایه کشت مخلوط به نسبت یک به یک و کلم تلقیح نشده (شاهد) انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بین مقادیر میانگین نیتريت، pH، تعداد باکتری های اسیدلاکتیک، در نمونه شاهد (تلقیح نشده) با نمونه های تلقیح شده تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). میانگین میزان نیتريت باقیمانده در کلم شور تلقیح شده با *L. plantarum*، *Leu.mesentroides* و کشت مخلوط به ترتیب به میزان ۶۷/۷٪، ۶۸/۹٪، ۸۴/۵٪ کاهش یافته، درحالیکه در تیمار شاهد به میزان ۵۱/۹٪ کاهش داشته است.

نتیجه گیری: مناسبترین سویه برای کاهش نیتريت، مایه کشت مخلوط (*Leu. mesenteries. L. plantarum*) است. مناسبترین کلم شور از لحاظ میزان pH و اسیدیته نوع تلقیح شده با *Leu. mesenteroides* می باشد.

واژه های کلیدی: کلم شور، لوکونستوک مزانتريئیدس، لاکتو باسیلوس پلاننتاروم، نیتريت

مقدمه

در سال های اخیر محققین تحقیقات زیادی بر روی میزان نیتريت و نیترات محصولات غذایی انجام داده اند. نیتريت ها به خاطر قدرت شدید اکسیدکنندگی و احیاء-کنندگی، سموم خطرناکی هستند، اهم خطرات آن عبارتند از تبدیل هموگلوبین به مت هموگلوبین، مهار زنجیره تنفسی سلول و آنزیم های میکرووزوم ها همچنین تخریب ویتامین A، بتاکاروتن و ویتامین C در غذا و داشتن خاصیت تراژون و خطر سنتز نیتروزامین های سرطانزا توسط نیتريت ها امکان دارد. موثاژن بودن و خاصیت سرطانزایی ترکیبات نیتروز، به اثبات رسیده است خصوصاً در کودکان و افراد مستعد می تواند این عامل خطرناکتر باشد، بعلاوه نیتريت بعنوان عامل مت هموگلوبین در کودکان شناخته شده است (Ping et al., 2007; Majumdar, 2003). گیاهان تازه و فرایند شده، بخصوص انواع برگی آنها منبع تغذیه ای نیترات به حساب می آیند (بهتاش، ۱۳۷۴). نیترات و نیتريت بطور طبیعی در خانواده کلم (*Brassica oleracea*) بیشتر از حد استاندارد می باشد، که مصرف آنها برای سلامتی انسان مضر می باشد (Shahlaei et al., 2006). (Ping et al., 2007, Uwah, et al., 2009). گزارش شده است که به طور طبیعی افراد از سبزیجات نیترات بیشتری نسبت به محصولات گوشتی به عمل آمده دریافت می کنند. به طور کلی اسفناج، چغندر، تربچه، کرفس و کلم ها در میان سبزیجات غلظت بالایی از نیترات دارند (Hunt et al., 1994 و بهتاش، ۱۳۷۴). تخمین زده می شود که ۱۰٪ نیتريت موجود در دستگاه گوارش انسان در نتیجه گوشت های عمل آوری شده و ۹۰ درصد آن از سبزیجات و دیگر منابع وارد می شود. تحقیقات نشان داده است که محصولات گیاهی تخمیر شده بوسیله تلقیح شده باکتری های اسید لاکتیک در مقایسه با انواع تلقیح نشده دارای اثر کاهندگی بیشتری بر غلظت نیتريت دارند. این باکتری ها بدلیل تولید اسید و کاهش pH و تولید سایر مواد آنتی باکتریالی و باکتریوسینی قادر به جلوگیری از رشد باکتری های گرم منفی هستند (hui et al., 2004). (Chang et al., 2004). از ویژگی های باکتری های آنروباکتریاسه احیای نیترات می باشد در نتیجه باعث بالا رفتن میزان نیتريت می گردد. همچنین آنروباکتریاسه جزو

شاخص کیفی و ایمنی مواد غذایی محسوب می گردد (جیمز، ام.جی. ۱۳۷۶).

کلم شور یکی از محصولات سنتی تخمیری بوسیله باکتری های اسیدلاکتیک می باشد. بنابراین هدف این مطالعه علاوه بر بررسی تغییرات غلظت نیتريت، شاخص ایمنی و کیفی در کلم شور حین تخمیر خود بخودی و تخمیر تلقیح شده بوسیله مایه کشت میکروبی، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

برای اندازه گیری نیتريت از دستگاه اسپکتوفتومتر Younak 2100s vis-uv ساخت آمریکا، pH از Easy متر Easy مدل 256x ساخت سوئیس، برای گرمخانه گذاری از انکوباتور memert ساخت آلمان استفاده شد. مواد شیمیایی و محیط های کشت مورد استفاده از شرکت Merck آلمان تولید شده بود.

- باکتری های اسید لاکتیک و فعال سازی

با توجه به سوش های مورد استفاده در کلم تخمیری سه سویه *Leu. Mesenteroides*¹ 1563 *subsp. mesenteroides* PTCC², 1638 *L. fermentum*³ PTCC, *L. plantarum*⁴ 1058 که در ایران (سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران) بصورت رسمی وجود دارند برای بررسی انتخاب شدند. آمپول های لیوفلیزه این باکتری ها، طبق دستورالعمل ارسالی از بانک میکروبی فعال گردیدند.

- تهیه غلظت های میکروبی

برای تهیه غلظت های میکروبی، محلول ۰/۵ مک فارلند^۵ تهیه گردید و جذب سوسپانسیون های میکروبی در ۶۰۰nm خوانده شد. تراکم میکروبی، برای تلقیح به کلم ها برابر با $۵/۶ \times 10^6$ cfu/gr سلول در میلی لیتر بود (Anonymous, 1999; Marcia et al., 2005). با توجه به اینکه میزان کاهش نیتريت توسط *L. plantarum*، *mesentroides* بیشتر از *L. fermentum* بود، همچنین بدلیل اینکه هدف مقایسه دو نوع باکتری هترو و هموفرماتاتیو بوده است. پس دو سوش *L. plantarum*، *mesentroides*، *Leu.* برای ادامه کار انتخاب گردیدند.

¹ - *Leuconostoc mesenteroides*

² - Persian Type Culture Collection

³ - *Lactobacillus fermentum*

⁴ - *Lactobacillus plantarum*

⁵ - McFarland standards

- فرمولاسیون کلم شور

در این تحقیق تخمیر به روش خود بخودی و بوسیله تلقیح باکتری های اسید لاکتیک انجام گرفت. کلم مورد استفاده، کلم سفید برگی (*B.o.var. alba*)، واقع در حومه شهرستان بوکان واقع در استان آذربایجان غربی بود. ابتدا کلم را چند روز پس از برداشت در محل مناسبی نگهداری کرده تا کمی پژمرده شده و از شکنندگی برگ‌های آن کاسته شد. با حذف برگ‌های سبز خارجی و مغز کلم، بقیه آن را تمیز نموده. سپس کلم تمیز شده را شسته و خشک نموده، کلم‌ها را به اندازه ورقه‌های ۱×۲ سانتی‌متری بریده شده و داخل چهار ظرف درب‌دار شیشه‌ای ۱۵۰۰ میلی لیتری گذاشته شدند، در هر ظرف ۱۰۰۰ گرم کلم ریخته شده و ۵/۲۲ گرم نمک طعام خشک استریل استفاده کرده و به صورت لایه‌ای از کلم و لایه‌ای از نمک بطور مساوی ریخته شدند. سپس به سه عدد از ظروف بطور جداگانه با *Leu. mesentroides*، *L. plantarum* مایه کشت مخلوط آن دو، تلقیح گردید. برای انجام عمل تخمیر مایه کشت به نسبت ۱٪ / ۷٪ (حجمی، حجمی) به میزان 10^6 cfu/ml × ۵/۶ به نمونه‌ها اضافه گردد. سپس ظرفها را به وسیله کتان پوشیده شدند و در ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۷ روز در شرایط بی‌هوازی انکوبه‌گردیدند (شجاعی آرانی، ۱۳۷۸؛ لامع، ۱۳۸۰). (Collins et al., 1981; ۱۳۸۰)

- زمانبندی و شرایط نگهداری

نمونه‌ها در دمای ۳۰ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۷ روز در شرایط بی‌هوازی انکوبه‌گردیدند. بدلیل اینکه هدف از این کار کاهش نیتريت و رسیدن به نیتريت مطلوب است در نتیجه با افزایش بیش از هفت روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با نمونه شاهد فاکتورهای کیفی افت پیدا می‌کند. بنابراین در ادامه برای نگهداری پاستوریزه گردیدند (شجاعی آرانی، ۱۳۷۸؛ لامع، ۱۳۸۰).

- بررسی توانایی کاهش نیتريت توسط باکتری‌های

منتخب در محیط کشت^۲ MRS broth

پس از انتخاب سویه‌ها، فعال‌سازی آنها و تهیه غلظت‌های مورد نیاز، مایه‌های کشت، به محیط کشت MRS broth که حاوی 100 µg/ml نیتريت

سدیم است اضافه می‌گردد. میزان نیتريت کشت‌ها در روز چهارم، طبق استاندارد ۶۹۶۳ اندازه‌گیری گردید (Ping et al., 2007). شرایط انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شده است.

- بررسی مقدار نیتريت باقیمانده، pH و اسیدیته
بررسی مقدار نیتريت باقیمانده، pH و اسیدیته به ترتیب طبق استانداردهای ۶۹۶۳، ۱۰۲۸ و ۵۳۲۲ ذکر شده در منابع انجام گرفت.

- شمارش باکتری‌های لاکتیکی و آنتروباکتریاسه
شمارش باکتری‌های لاکتیکی و آنتروباکتریاسه به ترتیب طبق استانداردهای شماره ۴۷۲۱، ۱-۲۴۶۱ ذکر شده در منابع انجام گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

بررسی و تجزیه و تحلیل داده‌ها به وسیله تجزیه واریانس و بر اساس طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سطح معنی داری ۵٪ ($\alpha=0.05$) به وسیله نرم افزار SAS انجام گرفته است و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن صورت گرفت.

یافته‌ها

جدول ۱ خصوصیات شیمیایی و میکروبی کلم شورها را قبل از تلقیح و تخمیر (زمان صفر) نشان می‌دهد. جدول ۲ بررسی اولیه هر سه سوش مورد نظر که توانایی کاهش نیتريت را در MRS broth دارند، را نشان می‌دهد. جدول ۳ نتایج آزمونهای شیمیایی و میکروبی را پس از ۷ روز نشان می‌دهد.

نتایج بدست آمده در جدول ۳ بیانگر وجود تفاوت معنی دار بین کلم‌های تلقیح شده و تلقیح نشده از لحاظ محتوی نیتريت باقیمانده است ($P<0.05$). بین مقادیر میانگین اسیدیته کلم شورهای تخمیری به وسیله *plantarum*، *Leu. mesentroides*، *L.* وجود دارد. تفاوت معنی-داری بین مقادیر میانگین نیتريت، pH، تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک در نمونه شاهد (تلقیح نشده) با نمونه‌های تلقیح شده وجود دارد ($P<0.05$).

^۱-Brassica oleracea variety alba

^۲-Man, Rogosa and Sharpe broth

بررسی کاهش نیتريت کلم تخمیری طی دوره تخمیر

جدول ۱ - ویژگی های کلم شورها در زمان صفر (قبل از پرکنی)

تیما	مایه کشت	pH	اسیدیته	میزان نیتريت (µg/g)	لگاریتم ^۱ TCE	لگاریتم ^۲ TCE
t ₁	<i>L. plantarum</i>	۷/۶	۰/۲	۲۷	۴/۱	۳/۴
t ₂	<i>Leu. mesentroides</i>	۷/۵	۰/۳	۲۸	۳/۹	۳/۵
t ₁ +t ₂	Mixture	۷/۶	۰/۳	۲۸	۴/۲	۳/۳
C	-	۷/۵	۰/۳	۲۸/۵	۳/۱	۳/۵

جدول ۲- شرایط انکوباسیون و میزان کاهش نیتريت در محیط کشت MRS broth

Microorganism	Condition	Day-6
<i>Leuconostoc. mesenteroides</i>	30°C –MRS broth-anaerobic	14ppm
<i>Lactobasillus. plantarum</i>	37°C –MRS broth-anaerobic	9ppm
<i>Lactobacillus. fermentum</i>	37°C –MRS broth-anaerobic	21ppm

جدول ۳- میانگین آزمون های انجام گرفته در مدت ۷ روز (دوره تخمیر)

تیما	مایه کشت	pH	اسیدیته	میزان کاهش نیتريت (%)	لگاریتم ^۱ TCE	لگاریتم ^۲ TCE
t ₁	<i>L. plantarum</i>	۳/۱ ^b	۹/۱ ^a	۷/۶۷ ^b	۷/۴ ^b	۰/۵ ^b
t ₂	<i>Leu. mesentroides</i>	۳/۵ ^b	۲/۲ ^b	۹/۶۸ ^b	۶/۷ ^b	۰/۵ ^b
t ₁ +t ₂	Mixture	۲/۴ ^c	۲/۷ ^a	۵/۸۴ ^c	۶/۳ ^a	۰/۶ ^b
C	-	۳/۹ ^a	۱/۸ ^b	۹/۵۱ ^a	۶/۹ ^c	۱/۳ ^a

میانگین ها در صورت معنی دار بودن در هر ستون در سطح $p < 0.05$ با حروف متفاوت نشان داده شده است.

بحث

کشت و شرایط انکوباسیون مشابه در این تحقیق و تحقیقات گذشته می توان دلیل این امر را در تفاوت های ژنتیکی و منابع ایزولاسیون اولیه آنها جستجو کرد، ضمن اینکه شرایط نگهداری و لیوفلیزاسیون باکتری ها نیز می تواند در تغییر توانایی های آنزیماتیکی و متابولیکی آنها موثر باشد.

تعداد باکتری های لاکتیک در طی دوره تخمیر بالا می رود ولی با توجه فعالیت باکتری ها، سرعت افزایش آنها متفاوت است. در این تحقیق افزایش تعداد باکتری های اسید لاکتیک تا روز هفتم ادامه پیدا کرده است، همچنان که در جدول ۳ دیده می شود میانگین تعداد باکتری های

هر سه سویه انتخابی توانایی رشد و کاهش نیتريت در محیط کشت MRS broth داشتند، شرایط انکوباسیون در جدول ۲ نشان داده شده است. تحقیقات Change و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Lee and Park و همکاران در سال ۲۰۰۰ نشان داد که باکتری های اسید لاکتیک در کلم شورها و محیط های کشت حاوی نیتريت رشد کرده اند. همچنین نتایج بدست آمده در مورد توانایی کاهش نیتريت در محیط کشت MRS با نتایج تحقیقات Chang و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Lee and Park در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. با توجه به یکسان بودن محیط های

¹-Total count of Lactic acid bacteria

²-Total count of *Entrobacteriace*

کلم شور تلقیح نشده مناسب ترین میزان pH را در پایان ۷ روز بدست آورده‌اند.

تتها تفاوت آنها شدت کاهش pH است که بدلیل شرایط متفاوت تولید و توانایی متابولیکی سویه های بکار رفته است. از نقطه نظر اسیدیته، نمونه تلقیح نشده و نمونه تلقیح شده با *Leu. mesentroides* اختلاف معنی داری را با هم نشان نداده اند. ولی بین این دو دسته اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). به ترتیب کلم شور تلقیح شده با کشت مخلوط (*L. plantarum*، *Leu. mesenteroides*)، *Leu. mesentroides* و نمونه شاهد بیشترین میزان افزایش اسیدیته را داشته‌اند. مناسب ترین اسیدیته برای کلم شور بین ۱/۷ تا ۲/۵ ذکر شده است (لامع، ۱۳۸۰ و Ping *et al.*, 2007)، بنابراین بجز کلم شور تلقیح شده با کشت مخلوط بقیه کلم شورهای تولیدی اسیدیته مناسبی را تولید کرده اند. در مجموع نتایج بدست آمده از روند کلی افزایش اسیدیته کاملاً مطابق با نتایج بدست آمده توسط oh و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Ping و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Park و همکاران در سال ۲۰۰۲ می باشد. تفاوت‌های موجود، ناشی از توانایی متفاوت میکروارگانیسم‌ها در تولید ترکیبات مختلف باشد.

باکتری ها لاکتیک دارای اثر سنرژیستی بر روی همدیگر هستند و به همین دلیل انتظار می‌رفت که سرعت کاهش نیتريت در این کلم شور از سایر نمونه ها بیشتر باشد و عملاً میزان نیتريت باقیمانده، بیشتر از انواع تلقیح شده با *L. plantarum* و *Leu. mesentroides* است. ممکن است که کم بودن میزان کاهش نیتريت در کلم تلقیح نشده بدلیل عدم غالب شدن باکتری‌های لاکتیک خاص باشد (عدم استفاده از مایه‌های تلقیح). شاید باکتری‌های لاکتیک که جزو فلور طبیعی کلم هستند، دارای توانایی کمتری در کاهش نیتريت باشند و یا اصولاً فاقد چنین توانایی باشند. لازم به ذکر است که در تمامی نمونه ها باکتری های احیاء کننده نیتريت مثل آنتراباکتریاسه ها و میکروکوکوس ها به کاهش نیتريت کمک می کنند. درکل می توان با توجه به جدول ۳ گفت که درجه حرارت، pH، تعداد باکتری های اسید لاکتیک، نوع مایه کشت (مخلوط یا تکی)، خواص ژنتیکی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده و محیط رشد آنها بر توانایی میکروارگانیسم ها در کاهش نیتريت موثر هستند.

اسیدلاکتیک، pH و اسیدیته در دو نمونه تلقیح شده با *Leu. mesentroides* و *L. plantarum* تفاوت معنی داری با همدیگر ندارند ($P > 0.05$). عوامل مختلفی مانند pH، اسیدیته، درجه حرارت و ویژگی های خود مایه میکروبی، در این مورد دخالت دارد ولی به نظر می رسد که درجه حرارت و pH عمده ترین عوامل کنترل کننده تعداد آنها در طی فرایند باشند. در کلم تلقیح نشده (شاهد) بدلیل متفاوت بودن فلور میکروبی و عدم استفاده از مایه کشت، بطوریکه در جدول ۳ نشان داده شده است، تفاوت معنی داری، در بین میانگین شمارش باکتری های لاکتیک در بین کلم شورهای تلقیح شده و تلقیح نشده وجود دارد ($P < 0.05$). در تمامی نمونه ها میزان pH یک روند نزولی را طی کرده است. در این تحقیق، طی دوره تخمیر pH پایین و اسیدیته بالا آمده است و بعد از هفت روز تفاوت میانگین هر دوی آنها معنی دار بوده است ($P < 0.05$). از آنجایی که pH و اسیدیته از مهمترین فاکتور های موثر بر ویژگی های کلم شور است، پس با کاهش درجه حرارت می توان تا حدودی شدت کاهش pH و افزایش اسیدیته را کنترل کرد ولی با این وجود، در کلم تلقیح شده با کشت مخلوط، خاصیت سنرژیستی باکتری ها بسیار مشهود است و pH کاهش و اسیدیته نیز افزایش بیشتری را نشان داده است. بطور کلی می‌توان گفت که سه عامل تعداد باکتری های لاکتیک، و درجه حرارت، نوع، فعالیت و ترکیب آنها، از جمله موارد موثر بر کاهش pH است. فلور میکروبی موجود در کلم شور شاهد، بطور طبیعی دارای توانایی کمتری در کاهش pH هستند و میزان فعالیت متابولیکی آنها کمتر از کشت های استارتر مورد استفاده در سایر انواع کلم شور ها تولیدی می باشد.

به ترتیب کلم شور تلقیح شده با کشت مخلوط (*Leu. mesenteroides*، *L. plantarum*) شاهد بیشترین میزان کاهش pH را داشته اند هر سه نوع کلم شور تلقیح شده با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی داری هستند و این اختلاف معنی دار در طول مدت آزمون وجود دارد ($P < 0.05$), و با نتایج Park and heigh., در سال ۲۰۰۰ و Ping و همکاران در سال ۲۰۰۷ همخوانی دارد. با توجه به pH کلم شور که ۴/۳ تا ۸/۳ در منابع ذکر شده (لامع، ۱۳۸۰ و Ping *et al.*, 2007)، کلم شور تلقیح شده با لوکونستوک مزانترئیدس و

جدول ۳ نشان می دهد که اختلاف معنی داری در تعداد شمارش کلی آنتروباکتریاسه همه نمونه ها طول مدت آزمون وجود دارد ($P < 0.05$) در حقیقت نشانگر این است که در طی تخمیر کلم شور شمارش کلی آنتروباکتریاسه کاهش یافته است. بررسی های آماری در جدول ۳ نشان داده است که اختلاف معنی داری در بین میانگین شمارش آنتروباکتریاسه در هر سه نوع کلم شور تلقیح شده با پاپانتاروم، مزانتروئیدس و کشت مخلوط وجود ندارد ($P > 0.05$)، ولی نمونه شاهد دارای اختلاف معنی داری با هر سه نوع تلقیح شده می باشد ($P < 0.05$).

با این تفاسیر بترتیب کلم شور تلقیح شده با *mesenteroides*, *L. plantarum* کشت مخلوط، *Leu.* و تلقیح نشده بیشترین توانایی کاهش شمارش کلی آنتروباکتریاسه را داشته اند. نتایج بدست آمده در این تحقیق موافق نتایج Ping و همکاران در سال ۲۰۰۷ است.

نتیجه گیری

بررسی های انجام گرفته در این تحقیق نشان داد که مایه کشت مخلوط (*mesenteries*, *L. plantarum*) دارای بهترین پتانسیل برای کاهش نیتريت در کلم شور می باشد. توانایی باکتری های لاکتیک تحت تاثیر محیط رشد و شرایط محیطی آنها قرار می گیرد. استفاده از مایه کشت های مناسب تنها در کاهش نیتريت بلکه در بهینه سازی سایر فاکتورهای محصول نیز موثرند. مناسبترین کلم شور از لحاظ میزان pH و اسیدیته نوع تلقیح شده با *Leu. mesenteroides* می باشد. تحقیقات آینده می تواند شامل بررسی سایر سوش های ایزوله شده از کلم ها و یا طراحی یک مایه کشت مناسب برای تولید کلم تخمیری مطابق با ذائقه ایرانی، باشد.

منابع

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۹). آزمون اندازه گیری اسیدیته کل، شماره ۵۳۲۲، چاپ اول.
مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۰). اندازه گیری نیتريت و نترات در میوه ها و سبزیها به روش اسپکترومتری، شماره ۶۹۶۳، چاپ اول.
مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۸). میکرو بیولوژی مواد غذایی و خوراک دام و روش جامع برای جستجو،

تحقیقات (Shea, 2004) نیز نشان داده است که باکتری های اسید لاکتیک توانایی کاهش نیتريت را در کلم شورها را دارند، ضمن اینکه لاکتوباسیلوس ها در این مورد بیشترین نقش را دارند. تفاوت های موجود در سرعت و زمان کاهش نیتريت در این تحقیق و سایر تحقیقات ناشی از تفاوت در تمام موارد ذکر شده فوق می باشد. همچنین باید متذکر شد که سوش های لاکتوباسیلوس دارای آنزیم های نیتريت/ نترات رودوکتاز هستند، پس ممکن است که نوع مایه کشت (نوع باکتری اسید لاکتیک) مهمترین عامل کاهش نیتريت باشد. در نتیجه بترتیب کشت مخلوط (*mesenteroides*, *L. plantarum*)، *Leu.*، *L. plantarum*، *Leu. mesenteroides*، و نمونه شاهد، بیشترین توانایی کاهش نیتريت را داشته اند. و با نتایج Park and Cheigh., در سال ۲۰۰۷ و Ping و همکاران در سال ۲۰۰۲ همخوانی دارد. تنها تفاوت آنها شدت کاهش نیتريت است که بدلیل شرایط متفاوت تولید و توانایی متابولیکی سویه های بکار رفته است در کل باید توجه داشت که اختلافات ژنتیکی در توانایی آنها برای کاهش نیتريت بسیار موثر است، علاوه بر آن شرایط دمایی و محیطی رشد باکتری در این مسئله موثر می باشد. کاهش میزان نیتريت کاملاً به درجه حرارت، زمان و شرایط تولید (غلظت نمک، عدم نفوذ هوا)، مقدار و نوع کربوهیدرات بستگی دارد.

بدلیل کاهش pH فلور میکروبی طبیعی کلم مانند: پدیوکوکوس ها، لاکتوباسیلوس های هموفرمانتاتیو، استرپتوکوکوس ها و قارچ ها غالب گشته است. در واقع درجه حرارت و pH یک انتخابگری را ایجاد می کند. در کلم شور تلقیح نشده (شاهد) شرایط به گونه ای متفاوت مشاهده شد، روند افزایش باکتری های اسید لاکتیک تقریباً یکسانی نشان می دهد. بترتیب کلم شور تلقیح شده با کشت مخلوط (*Leu. mesenteroides*, *L. plantarum*)، *Leu. mesenteroides*، *L. plantarum*، و نمونه شاهد، بیشترین توانایی میانگین افزایش شمارش باکتری های اسید لاکتیک را داشته اند. نتایج بدست آمده مخالف نتایج Ping و همکاران در سال ۲۰۰۷ می باشد، و با نتایج Oh و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Chang و همکاران در سال ۲۰۰۴ و Park and Cheigh. در سال ۲۰۰۲ موافق است.

Depletion of nitrite by Lactic acid bacteria isolated from Kimchi. Journal of the Korean society of food science and nutrition. 71, 38-44.

Collins, D. L. & Lopez, J. P. (1981). Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed bologna. Food Protection, 44, 593-595 .

Hunt, J. & Turner, M. K. (1994). A survey of nitrite concentrations in retail fresh vegetables. Food Additives and Contaminants, 11(3), 327 – 332.

Kohajdova, Z. & Karovicova, j. (2004). Optimisation of method of fermentation of cabbage juice. Czech, J. food Sci, 22, 39-48.

McFarland standards –Wikipedia .The free encyclopedia. (2009). Available from, [http //Wikipedia.com](http://Wikipedia.com).

Measurement of Cell Concentration in Suspension by Optical Density. Scott Sutton. PMF Newsletter. (2006). Available from, [http//www.linkedin.com](http://www.linkedin.com).

Mark, A. D. & Henry, P. D. (1984). Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations. International journal of food microbiology, 64, 261-275.

Oh, C. K., Oh, M. C. & Kim, S. H. (2004). The depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi. Journal of Medicinal Food, (7) 1, 38-44.

Park, K .Y.& Cheigh, H. S. (2002) . Kimchi and nitrosamines. Korean Journal of Food Nutrition, 21, 109-116.

Ping, M. Y., Wen, T. X., Sze, S. T., Hui, Z. & Xio, H. C. (2007). Effect of inoculation lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese Paocai .Food Control, 19, 50-55.

Shahlaei, A., Alemzade ansari, N. & Sedighie dehkordie, F. (2006). Evaluation of nitrate and nitrite content of iran southern (Ahwaz) vegetables During winter and spring of 2006. Asian journal of plant sciences, 6 (8), 1197- 1203.

شناسایی و شمارش آنتروباکتریاسه. قسمت اول، جستجو شناسایی و شمارش به شیوهٔ محتمل ترین تعداد (MPN) با پیش غنی سازی، شماره ۱-۲۴۶، چاپ دوم.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۵). شمارش باکتری اسید لاکتیک به روش شمارش پرگنه در ۳۰ درجه سانتی گراد در مواد غذایی، شماره ۴۷۲۱، چاپ دوم. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۹). آزمون اندازه گیری pH، شماره ۱۰۲۸، چاپ دوم.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۷۸). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام و آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون های میکروبیولوژی. قسمت اول، مقررات کلی برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری، شماره ۱-۸۹۲۳، چاپ اول.

راهنمای فعال سازی کشت های لیوفلیزه. (۱۳۷۸). انتشارات سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران.

بهتاش، ف. (۱۳۷۴). بررسی اثر کودهای شیمیایی از ته در تجمع نیترات در اندامهای قابل مصرف کلم پیچ و کرفس. پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته مهندسی کشاورزی- باغبانی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس تهران.

جیمز، ام.جی. (۱۳۷۶). میکروبیولوژی غذایی مدرن. جلد دوم. ترجمه. مرتضوی، ع.، معتمدزادگان، ع.، اعلمی، م.، نایب زاده، ک. دانشگاه مشهد. صفحات ۲۴-۱۳، ۲۱۰-۲۰۴.

شجاعی آرانی، آ. (۱۳۷۸). میکروبی شناسی کاربردی و مواد غذایی. انتشارات دستان، صفحات ۱۲۲-۱۵۵.

کشاورز دهنو، ع. (۱۳۶۶). خطرات ناشی از مصرف بی رویه نیتراژها و نیتريتها در فراورده های غذایی. کنگره ملی نگهداری مواد غذایی، دانشکده فنی دانشگاه تهران، چاپ دانشگاه تهران، صفحه ۴۶۶-۴۶۱.

لامع، ح. (۱۳۸۰). مقدمه ای بر تخمیر های غذایی. انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی، صفحات ۲۰-۱، ۱۲۶-۱۰۳، ۲۶۵-۲۴۳.

AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists Virginia, Association of Official Analytical Chemists, pp .780.

Anonymous. (1999). Antimicrobial susceptibility testing (Agar disk diffusion method), 9, 61-73.

Chang, K. O., Myung, C. O. & Soo, K. H. (2004). The depletion of sodium nitrite by Lactic acid bacteria isolated from Kimchi. Journal of Medicinal Food, 71, 38-44.

Chang, K. O. & Hyon, J. S. (1997).

Shea, B. (2004). Isolation identification and exploitation of Lactic acid bacteria from human and animal microbiota.

Academic Dissertation in Microbiology
University of Helsinki Finland.

The Effect of Inoculation of *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides* on the Nitrite Concentration of Sauerkraut

J. Mohammad Hassani ^{a*}, Sh. Darvishi ^b, S. E. Hosseini ^c, F. Mirahmadi ^d

^a M.Sc. Student of Food Science and Technology, College of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^b Assistant Professor of Food Science and Technology, College of Agriculture, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Iran.

^c Assistant Professor of Food Science and Technology, College of Agriculture & Natural Resource, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

^d M.Sc. of Food Science and Technology, Faculty Member Engineering Industry, Agriculture College, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Iran.



Received: 14 November 2010

Accepted: 21 December 2010

Abstract

Introduction: The use of nitrogen fertilizers and low enzyme activity of nitrite and nitrate reductase in leaves of plants, causes the accumulation of nitrite and nitrate in leafy plants such as white cabbage (*B.o* var .*alba*). Nitrite is a highly carcinogenic substance therefore in this study changes in nitrite concentration during fermentation of fermented cabbage and spontaneous fermentation by inoculation of culture were examined.

Materials and Methods: The strains used in fermented cabbage were *Leu.meseneteriodes*, subsp.*mesenteroids* PTCC 1563 and *L. plantarum* PTCC 1058 (Organization of Scientific and Industrial Research of Iran). The strains and their mixture as active culture, with equal numbers 5.6×10^6 cfu/gr were selected. Cabbage treatments consisted of inoculation with pure lactic starter (hemofermantative), inoculation with pure lactic starter (heterofermantative), inoculation with a starter mix and cabbage not inoculated (control) were performed.

Results: Significant differences were recorded by the mean values of residual nitrites, pH, total number of lactic acid bacteria in the control samples (not inoculated) and inoculated samples ($P < 0.05$). Residual nitrites in fermented cabbages by *L. plantarum*, *Leu. mesentroides* and mixed cultures were reduced up to 67.7%, 68.9%, 84.5% respectively, while it was 51.9% in the control treatment.

Conclusion: The best treatment concerning residual nitrite was the fermented cabbage by mixed culture. The best treatment concerning the pH and the acidity levels was the cabbage inoculated by *Leu. mesentroides*.

Keywords: *Leuconostoc.mesenteroides*, *Lactobacillus.plantarum*, Nitrite, Sauerkraut.

* Corresponding Author: j.Mohammadhassani@yahoo.com