Archive of SID

ارزیابی تغییرهای فیزیکوشیمیایی و میکروبی رب گوجه فرنگی فله در طی نگه‌داری در سردخانه

مهندس امیر حسین الهامی راد[۱]، دکتر فخری شهیدی[۲]

چکیده

در این پژوهش، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی رب گوجه فرنگی فله، که درشرایط کاملاً مشابه با صنایع رب کشور تولید و نگه‌داری شده بود، مورد ارزیابی قرار گرفت، تا به این طریق بتوان نقاط ضعف روش موجود را شناسایی کرده و با توجه به نتایج به‌دست آمده، برای اصلاح روش‌های سنتی اقدام نمود. نمونه‌های رب فله مورد نیاز، پس از تولید و آماده‌سازی، در ٤ تیمار مختلف بررسی شدند. مدت زمان نگه‌داری ۸ ماه و دمای سردخانه گذری صفر درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. نمونه‌برداری از بشکه‌ها به منظور ارزیابی تغییرهای کیفی محصول، هر دو ماه یک‌بار انجام پذیرفت. پارامترهای مورد بررسی عبارت بودند از: اسیدیته، pH اسید لاکتیک (نوع D و L)، ماده خشک کل، عدد هوارد، باکتری‌های مقاوم به اسید و شمارش کلی باکتری‌ها.

بررسی تغییرهای شمارش کلی باکتری‌ها، تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید و شمارش میکروسکوپی کپک‌ها به روش هوارد، در بیمارهای اعمال شده در این پژوهش، نشان داد که استفاده از بریکس بالا (۳۸-۳۵) در تولید رب، همراه عمل نمک‌پاشی درسطح و نگه‌داری در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، فقط یک اثر محدودکننده بر روند تغییرهای میکروبی داشته و نتوانسته آن را به‌طور کامل متوقف سازد. ولی درهر صورت، بر رشد سطحی قارچ‌ها و توانایی آنها در ایجاد پرگنه اثر قابل توجهی داشته است. بررسی‌های میکروبیولوژیکی رب فله نشان داد که در فاصله زمانی تولید تا انتقال نمونه‌ها به سردخانه شمارش کلی باکتری‌ها، تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید و مقدار اسیدلاکتیک نوع L تغییر قابل توجهی داشته است. بنابراین می‌توان گفت مرحله سرد کردن تدریجی رب فله در دمای محیط، که هدف اصلی از آن خشک کردن سطحی برای نمک‌پاشی است، یک مرحله حساس و بحرانی در فرایند تولید رب فله است که تأثیر عمده‌ای بر کیفیت محصول تولیدی و مدت زمان ماندگاری آن دارد.

واژه‌های کلیدی: *رب فله، آلودگی‌های میکروبی رب، ویژگی‌های فیزیکو- شیمیایی رب*

مقدمه

در سال‌های اخیر، تولید رب گوجه فرنگی فله در کشور، بنا به دلایل مختلف افزایش چشم‌گیری داشته است. با توجه به وضعیت خاص ماندگاری گوجه فرنگی و هم‌زمانی برداشت آن در یک منطقه، در پاره‌ای اوقات میزان گوجه فرنگی تحویلی به کارخانه افزایش یافته و عمدتاً در این مواقع ظروف بسته‌بندی

۱. عضو هیئت علمی (مربی) علوم صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی سبزوار
۲. دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

www.SID.ir

Archive of SID

پاسخ‌گوی حجم رب تولیدی نبوده است. بنابراین واحدهای تولیدکننده، مازاد رب تولید شده را، با بریکس بالا به صورت فله بسته‌بندی نموده و در سردخانه، انبار کارخانه و یا در فضای آزاد قرار می‌دهند تا در ماه‌های پس از آن که محدودیت گوجه فرنگی روند تولید را دچار رکود می‌کند، به تدریج آنها را وارد خط تولید کرده و پس از بازسازی و تنظیم بریکس، در قوطی بسته‌بندی کرده و پاستوریزه نمایند. علاوه بر آن، بسیاری از کارخانه‌های تولیدکننده سس گوجه فرنگی، کچاپ و انواع کنسروهای گوشتی و غیر گوشتی، برای رب مصرفی در فراورده‌های خود، نظر به مسائل اقتصادی از رب فله استفاده می‌کنند. درحال حاضر مقادیر زیادی از رب فله تولیدی، به کشورهای آسیای میانه صادر می‌شود. متأسفانه به دلیل عدم رعایت اصول صحیح فرایند و نگه‌داری، میزان آلودگی کپکی و میکروبی محصول مذکور بسیار بالاست. بر اساس موازین استاندارد رب فله کپک‌زده به علت احتمال آلودگی به توکسین‌های قارچی، غیر بهداشتی تلقی گردیده و تمام محتویات ظروف رب فله معدوم می‌شود. برخی از صاحبان صنایع نیز با مشاهده رشد کپک در سطح محصول، تنها با حذف لایه‌های سطحی مابقی محتویات را مورد استفاده قرار می‌دهند، هر چند که احتمال تولید توکسین و نفوذ آن به لایه‌های زیرین وجود دارد. به نظر می‌رسد نحوه آماده‌سازی و نگه‌داری رب گوجه فرنگی فله در کارخانه‌های کشورمان، روشی اصولی و صحیح نیست که این مسئله می‌تواند بر کیفیت فیزیکوشیمیایی و میکروبی محصول تأثیر عمده‌ای داشته باشد.

در تولید رب گوجه فرنگی فله به طریق غیر اسپتیک، به علت عدم استفاده از فرایند حرارتی مناسب برای پاستوریزه کردن محصول، هم‌چنین به علت عدم استفاده از بسته‌بندی نفوذناپذیر، میزان آلودگی بالا بوده و یک فلور میکروبی پیچیده مسئول تغییرهای فیزیکوشیمیایی محصول خواهد بود. فلور میکروبی عمده در سطح فراورده شامل انواع کپک‌ها و مخمرهای سطحی است، ضمن آن که در عمق محصول انواع میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی و یا میکروآئروفیل مانند: باکتری‌های اسیدلاکتیک و باسیلوس‌های مقاوم به اسید قادر به فعالیت می‌باشند (۱۷و ۲۱). انواع دیگری از باکتری‌ها شامل لیستریا (*Listeria*)، کوریه باکتریوم (*Corynebacterium*)، کورتیا (*Kurtia*)، و گونه‌های مختلف استرپتوکوکوس (*Streptococcus*)، و لاکتوباسیلوس (*Lactobacillus*) می‌تواند موجب فساد رب گوجه فرنگی شده و بر روند تولید آن اثر بگذارند (۲۷).

از مهم‌ترین گونه‌های مخمر عامل فساد می‌توان به گونه‌های مختلف هانزنولا (*Hansenula*)، آئروباسیدیوم (*Aureobasidium*)، کاندیدا (*Candida*)، ترولوپسیس (*Torulopsis*)، تریکوسپورون (*Trichosporon*)، ساکارومایسس (Saccharomyces) اندومایکوپسیس (*Endomycopsis*) اشاره نمود (۱۰، ۱۱ ، ۱۲، ۱۳، ۲۵ و ۲۷). مشخص شده است که مخمر "زیگوساکارومایسس بایل" (*Zygosaccharomyces bile*) عامل فساد در سس گوجه فرنگی است (۱۱). هر چند گونه‌های مخمر به دلیل مقاومت حرارتی کمی که دارند، به‌ندرت پس از فرایند حرارتی زنده می‌مانند(۱).

باکتری‌های اسیدلاکتیک، دسته‌ای از میکروارگانیسم‌ها هستند که فساد قابل توجهی را در مراحل مختلف فرایند و آماده‌سازی فرآورده‌های تبدیلی گوجه فرنگی (رب) باعث می‌شوند. این دسته از باکتری‌ها در ایجاد طعم و بوی مشابه با دوغ کره شرکت داشته و در سطح و داخل گوجه‌هایی که وارد کارخانه می‌شوند وجود دارند. آنها در آب گوجه تغلیظ نشده و یا آب گوجه‌ای که به مقدار جزئی تغلیظ شده است به خوبی رشد می‌کنند(۲٤). از بین این باکتری‌ها لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) پر جمعیت‌ترین منبع آلودگی به شمار می‌رود (۲٤). بررسی‌های انجام شده توسط دیگر محققان نشان می‌دهد که در اثر فعالیت لاکتوباسیل‌ها در پالپ گوجه فرنگی، مقدار اسیدیته فرار، اسیدیته کل، اتانول، استیل متیل کربینول،دی استیل، اسید استیک و اسید لاکتیک (نوع L و D) افزایش یافته و مقدار pH محصول به طور جزئی کاهش می‌یابد (۱۵). در اثر رشد و فعالیت لاکتوباسیل‌ها، مقدار ماده جامد

www.SID.ir

Archive of SID

محلـول و ماده جامد کل نیز کاهش می‌یابد، که به علت مصرف و تجـزیه مـواد قـندی (فـروکتوز و گلوکز) می‌باشد. تغییرها در ویژگـی‌هـای فیزیکوشـیمیایی رب گـوجه فرنگی، با پارامترهای حسـی مرتبط است. به طوری که با پیشرفت فساد محصول، مزه ترشـی، تلخـی، سولفوری و بالاخره طعم فساد افزایش یافته هر چند که تغییر قابل توجهی در رنگ فراورده ایجاد نمی‌شود(۲٤). بررسـی‌هـای انجام شده توسط سایر محققان حاکی از آن است کـه مقادیـر بـیش از ۰/۳ گـرم بر کیلوگرم اسید لاکتیک در رب گوجه فرنگی، معرف آلودگی میکروبی محصول است (۲٤).

باکتری‌های اسپورزای مقاوم به اسید مانند گونه‌های مختلف جـنس باسـیلوس، بـه علـت مقاومـت حرارتی بالایی که دارند، بخـش عمـده‌ای از فلـور میکروبـی رب گـوجه فرنگـی فلـه را تشـکیل مـی‌دهـند. زیـرا بـه نظـر مـی‌رسد که مرحله تغلیظ در اواپـراتور، نـه تـنها سـبب فعال شدن فرم‌های اسپوری می‌شود، بلکه تعداد اسپور نیز مطابق با میزان تغلیظ افزایش می‌یابد (۲۰). عمـده‌تـرین گونه‌های جنس باسیلوس که در رب گوجه فرنگی قـادر بـه فعالـیت هسـتند عـبارت انـد از بـاسـیلـوس کـوآگـولانـس(*Bacillus coagulans*) و بـاسـیلـوس سـوبـتـیلیس(*Bacillus subtilis*) هـر چنـد که گـونه‌هـای دیگـری نیـز نظیـر: باسـیلوس ماسـرانس (*Bacillus macerans*)، بـاسـیـلـوس پـلـی میـکـسـا (*Bacillus polymyxa*) و بـاسـیـلـوس سیـرکـولانـس (*Bacillus circulans*)، از رب گـوجـه فـرنـگـی ایـزولـه شـده‌اند (۱ و ١٤). پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهـد که باسـیلوس کوآگـولانس مـی‌تـواند در آب گـوجـه فرنگی رشـد کـرده و pH محـیـط را از ٤/٥ بـه ٥ افـزایـش دهـد (١٤ و ١٥).

گروهـی دیگر از میکروارگانیسم‌ها که قادرند بر روی گوجه فرنگـی و فـراورده‌هـای آن به خوبی رشد کنند، کپک‌ها هستند. فلـور کپکی همراه با گوجه فرنگی پیچیده بوده و می‌تواند بسته بـه عـوامل آب و هوایـی، مـنطقه کشـت گـوجه فرنگی و دوره برداشـت مـتفاوت باشـد (١٦). اغلـب گونه‌های کپکی همراه با مـاده خـام اولـیه، در اثر فرایند حرارتی و پاستوریزاسیون از بین مـی‌رونـد و محصول نهایی فاقد هر گونه کپک زنده است. ولی برخـی از کـپک‌هـا کـه دارای آسکوسپورهای مقاوم به حرارت هسـتند، مـی‌توانـند در غـذاهای اسـیدی بـه خصـوص کنسـرو عصـاره‌های تغلیظ شده میوه‌ها و سبزی‌ها ایجاد فساد نمایند. از گـونه‌هـای کپکـی مقاوم به حرارت می‌توان بایسوکلامیس فولوا (*Byssochlamys fulva*) و بعـضـی از گـونه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را نام برد که منشأ آنها احتمالاً خاک مزرعه است (۱).

بـه‌طـور کـل عـوامل کپکـی مولد فساد در رب گوجه فرنگی عبارت‌اند از: گونه‌های مختلف آسپرژیلوس(.*Aspergillus* spp)، گـونه‌هـای مختلف پنی‌سیلیوم (.*Penicillium* spp)، و گونه‌های کپکی رایزوپوس نیگریکنس(*Rhizopus nigricans*)، ژئوتریکوم کـانـدیـدوم (*Geotrichum candidum*)، آلـترنـاریـا آلـترنـاتـا (*Alternaria alternata*)، فـوزاریـوم اکـسـیس پـوروم (*Fusarium oxysporum*) و بوتریتیس‌سینرآ(*Botrytis cinerea*) مـی‌باشـد. مشـخص شـده اسـت کـه در اثر رشد کپک‌ها روی فـراورده‌های تبدیلی گوجه فرنگی، pH محصول افزایش می‌یابد (١٦ و ٢٠ و٢٢ و ٢٣ و ٢٥ و ٢٦). کـپک‌هـای آلتـرناریا و آسپرژیلوس بیشترین تأثیر را بر افزایش pH آب گوجه در دمای محیط دارا هستند (۲۲).

رشد گونه‌های قارچی بر روی فرآورده‌های گوجه فرنگی سـبب کاهش ویتامین C و کل قندهای محلول می‌شود (۲۳). از طـرف دیگـر بسـیاری از گـونه‌های قارچی، قادر به ترشح آنزیم‌های مانند پکتین متیل استراز و پلی گالاکتوروناز هستند کـه بـا تجـزیه پکتـین منجـر به تخریب بافت و کاهش قوام محصـول مـی‌گـردند (۲۳). مهـم‌ترین تأثیر فساد کپکی روی گـوجه فرنگـی، تولـید سـموم قارچـی یـا مایکوتوکسـین‌هـا (Mycotoxins) اسـت. از آنجـا که برخی از مایکوتوکسین‌ها در برابر فرایند حرارتی مقاوم هستند بنابراین به راحتی می‌توانند در محصـول نهایی وارد شده و سلامتی مصرف‌کننده را به مخاطره بینـدازنـد. بـررسـی‌هـای انجـام شـده نشـان می‌دهـند که رب گـوجه فرنگـی نیـز محـیط مناسـبی بـرای رشـد

www.SID.ir

Archive of SID

آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و تولید آفلاتوکسین می‌باشد (۵ و ۹ و ۱۲ و ۱۷ و ۱۹ و ۲۰).

مواد و روش‌ها

نمونه‌های رب مورد نیاز، پس از تولید در یکی از کارخانه‌های صنایع غذایی، در داخل بشکه‌های پلاستیکی ۱۳۰ کیلوگرمی با ارتفاع تقریبی ۱ متر، با پوشش درونی دولایه از جنس پلی‌اتیلن، پر شدند. با توجه به تیمارها، فاکتورهای مورد بررسی عبارت از بریکس در دو سطح ۳٦ و ۳۸، دو حالت نمک‌پاشی و عدم نمک‌پاشی درسطح محصول، و ٦ تناوب زمانی مختلف در یک دوره نگه‌داری ۸ ماهه بودند. نمونه‌های تولید شده مطابق با روش معمول در صنعت رب کشور، به مدت ٤۸ ساعت در دمای محیط (فضای آزاد) و درسایه قرار داده شدند. در طی این مدت دمای نمونه‌ها تا حدود $37-40\ ^{\circ}C$ کاهش یافت. ضمن این که در اثر تبخیر سطحی، لایه رویی نمونه‌ها خشک گردید. پس از آن، عمل نمک‌پاشی درسطح، در دمای $37\ ^{\circ}C$ (به میزان ۳ کیلوگرم به ازای هر بشکه ۱۳۰ کیلوگرمی) بر روی نیمی از نمونه‌های با بریکس ۳٦ (۱۲ بشکه) و نیمی از نمونه‌های با بریکس ۳۸ (۱۲ بشکه) انجام گردید. بدین ترتیب تیمارهای اعمال شده عبارت از بریکس ۳٦ با نمک، بریکس ۳٦ بدون نمک، بریکس ۳۸ با نمک، و بریکس ۳۸ بدون نمک بودند. تعداد کل نمونه‌های تولید شده عبارت بودند از:

عدم نمک‌پاشی × ۲ سطح بریکس × ٦ تناوب زمانی

٤۸= ۲ تکرار × ۲ حالت نمک‌پاشی یا

یکی از اهدافی که در این پژوهش به طور ویژه‌ای مد نظر قرار گرفت این بود که نمونه‌های مورد بررسی درشرایطی کاملاً مشابه با روش تولید و نگه‌داری مرسوم درصنایع رب کشور، ارزیابی شوند، تا بدین طریق بتوان نقاط ضعف سیستم را شناسایی کرده و در نهایت برای اصلاح روش‌های سنتی، برنامه‌ریزی دقیق‌تر و گسترده‌ای را ترتیب داد. نمونه‌های تولید شده پس از آماده‌سازی، دربندی شده و به سردخانه صفر درجه منتقل گردیدند.

نمونه‌برداری از تیمارهای مورد بررسی در ٦ تناوب زمانی مختلف انجام شد، که عبارت از بلافاصله پس از تولید، ٤۸ ساعت پس از تولید، پس از ۲ ماه، ٤ ماه، ٦ ماه و بالاخره پس از ۸ ماه نگه‌داری درسردخانه بودند. با توجه به نحوه آماده‌سازی رب گوجه فرنگی فله، که شامل فرایند خشک کردن سطحی و نمک‌پاشی در سطح می‌باشد، و نیز با توجه به روش بسته‌بندی محصول که از نوع غیرهرمتیک است، بدیهی است که برخی ویژه‌گی‌های آن در عمق‌های متفاوتی از بشکه، تفاوت داشته باشد. با توجه به زیاد بودن حجم بشکه و موارد ذکر شده، این احتمال وجود داشت که نمونه‌های برداشتی یکنواخت نباشند. بنابراین برای بررسی تغییرهای فیزیکوشیمیایی محصول درسطح مشابهی از تمامی بشکه‌ها، نمونه‌برداری از عمق ۱۵ سانتی‌متری محصول با دو تکرار و در هر تکرار از دو ناحیه مرکزی و کناری انجام شد. به منظور حفظ شرایط اولیه تولید و جلوگیری از تأثیر آلودگی‌های ناشی از محیط سردخانه، بشکه‌هایی که در هر مرحله نمونه‌گیری شده بودند، حذف گردیدند. بنابراین ۸ بشکه‌ای که در آخرین مرحله نمونه‌برداری باقی ماندند (تناوب زمانی ٦) در حکم نمونه‌های شاهد بودند. تعداد نمونه‌های برداشت شده درهر تناوب زمانی عبارت بودند از:

۱٦= ۲ ناحیه نمونه‌برداری × ۲ تکرار × ٤ تیمار

پارامترهای مورد بررسی عبارت بودند از: اسیدیته بر حسب درصد اسید سیتریک، pH اسید لاکتیک (نوع L و D) بر حسب mg/kg، ماده خشک کل بر حسب درصد، شمارش باکتری‌های مقاوم به اسید و شمارش کلی باکتری‌ها بر حسب cfu/gr.

به منظور اندازه‌گیری اسیدیته کلی، از روش تیتراسیون حجمی با سود ۰/۱ نرمال استفاده گردید (۱۹ و ۲٤). اندازه‌گیری pH با دستگاه pH متر دیجیتال نوع EYELA مدل pHM2000 انجام شد (۱۲). برای اندازه‌گیری اسیدلاکتیک از روش آنزیمی ـ اسپکترومتری (کیت ترکیبی اندازه‌گیری اسیدلاکتیک) (۱۸) و به منظور تعیین ماده خشک کل، از روش آون‌گذاری در دمای $70-80\ ^{\circ}C$ استفاده شد (۳، ٤، ۵ و ۲٤).

www.SID.ir

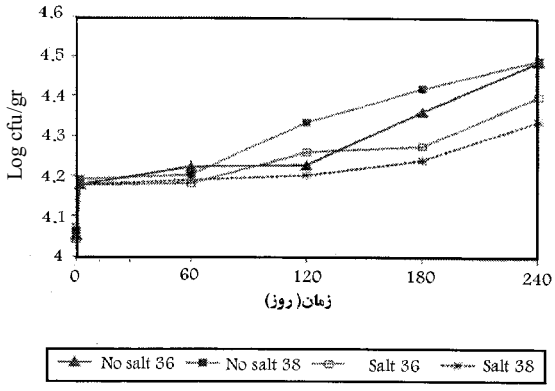
Archive of SID

تعیین عدد هوارد با استفاده از لام مخصوص هوارد و مشاهده ریسه‌های کپکی در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی× ۹۰ انجام شد (۱۲). تغییر در تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید، با کشت میکروبی در محیط ارنج سروم آگار (Orange Serum Agar) مورد بررسی قرار گرفت و بالاخره تعیین شمارش کلی باکتری‌ها، به روش کشت سطحی (Surface plating) در محیط پلیت کانت آگار (Plate count agar) و انکوباسیون در دمای ۳۷°C به مدت ۴۸-۲۴ ساعت، انجام شد (۲، ٦، ۷ و۸). به منظور بررسی میکروارگانیسم‌های مقاوم به اسید از دمای ۳۰°C به مدت ۷۲-۲۴ ساعت، استفاده گردید.

این طرح به صورت آزمایش فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

بررسی نتایج حاصل از آزمون‌های میکروبی نشان داد که تعداد کل باکتری‌ها، در تمامی تیمارها به طور قابل توجهی افزایش یافته است. شیب منحنی تغییر در شمارش کلی باکتری‌ها، در دو ناحیه، یکی در ۴۸ ساعت اولیه پس از تولید و دیگری در ماه‌های آخر دوره نگه‌داری تندتر بوده است (شکل ۱). بررسی اثر میزان بریکس و نمک بر تعداد کل باکتری‌ها نشان می‌دهد که میزان بریکس (در مقایسه بین بریکس ۳٦ و ۳۸) تأثیری بر تعداد کلی باکتری‌ها نداشته، ولی افزودن نمک در محدوده اطمینان ۹۹٪ اثر معنی‌داری داشته است ($p \leq ۰/۰۱$) اما زمانی که بریکس و نمک به‌عنوان دو فاکتور محدودکننده اعمال گردیدند، تأثیر قابل توجهی بر سطح نهایی تعداد کل باکتری‌ها در محصول دارند، به‌طوری که سطح نهایی تعداد کل باکتری‌ها در نمونه‌های بابریکس ۳۸ با نمک، به طور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌هاست ($p \leq ۰/۰۱$). استفاده از بریکس بالاتر همراه با نمک‌پاشی، سبب افزایش فشار اسمزی و کاهش a_w می‌گردد که این مسئله سبب می‌شود تا میزان رشد میکروبی در



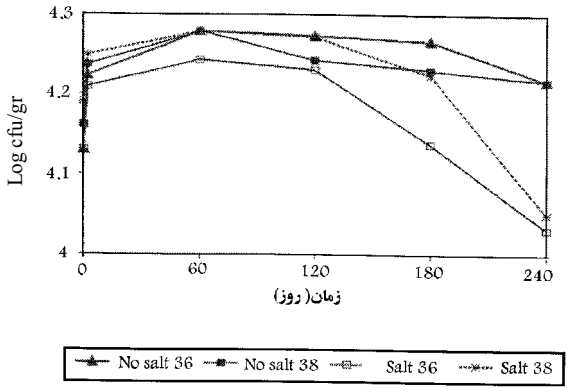
شکل ۱. تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها درطی زمان

تیمار بریکس ۳۸ با نمک در مقایسه با سایر تیمارها محدودتر گردد (۱۵).

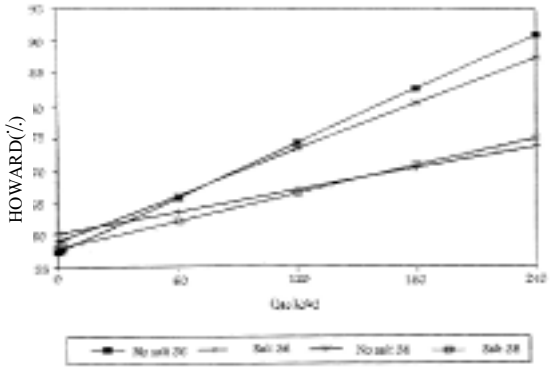
تغییر باکتری‌های مقاوم به اسید در طی زمان، در تمامی تیمارها در محدوده اطمینان ۹۹٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq ۰/۰۱$) به‌طوری که تعداد آنها در ٤۸ ساعت اولیه پس از تولید و هم‌چنین در۲ ماهه اولیه سردخانه‌گذاری، افزایش قابل توجهی داشته ولی به تدریج سیر صعودی در تمامی تیمارها کندتر شده و در نهایت روند کاهشی داشته است. روند کاهشی جمعیت باکتری‌های مقاوم به اسید، در تیمارهای دارای نمک به طور معنی‌داری شدیدتر از سایر تیمارها بوده است ($p \leq ۰/۰۱$) به‌طوری‌که سطح نهایی این میکروارگانیسم‌ها درتیمارهای حاوی نمک پایین‌تر از سطح اولیه (زمان صفر) قرار گرفته است (شکل ۲). در اوایل دوره سردخانه‌گذاری، لایه خشک سطحی رب در نمونه‌های با نمک، از انتشار نمک به قسمت‌های پایین‌تر جلوگیری می‌کند. به همین علت روند افزایشی باکتری‌های مقاوم به اسید در تمامی تیمارها تقریباً یکسان بوده است. به‌تدریج با گذشت زمان و انتشار نمک در لایه‌های تحتانی، اثر بازدارندگی آن مشخص‌تر گردید که در نتیجه روند تغییر در ماه‌های بعدی کندتر شده و سیر نزولی نشان می‌دهد. روند تغییر تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید از حدود ماه چهارم به بعد، به خصوص در تیمارهای با نمک، کاهش معنی‌داری داشته است ($P \leq ۰/۰۱$).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲. تغییر باکتری‌های مقاوم به اسید در طی زمان



شکل ۳. روند تغییر عدد هوارد در طی زمان (رگرسیون خطی y=a+bx)

به نظر می‌رسد که وجود نمک به همراه نگه‌داری طولانی در دمای ۰°C بر باکتری‌های مقاوم به اسید اثر کشندگی داشته است. تأثیر کشندگی ناشی از دماهای سرد، در نمونه‌های بدون نمک، کندتر بوده است.

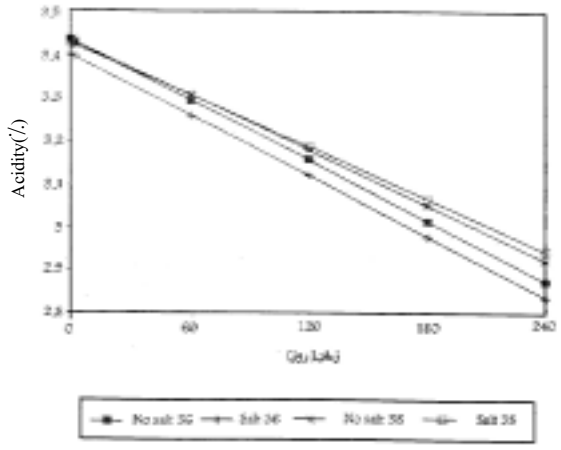
بررسی روند تغییر عدد هوارد در طی زمان، نشان می‌دهد که عدد هوارد در هر ٤ تیمار روند صعودی داشته است. این تغییر، درمحدوده اطمینان ۹۹٪ معنی‌دار بوده است. ولی شدت تغییر در تیمارهای فاقد نمک به‌طور قابل توجهی بیشتر از تیمارهای با نمک بوده است. به‌طوری که سطح نهایی هوارد در نمونه‌های فاقد نمک، در محدوده اطمینان ۹۹٪ تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های با نمک داشته است (شکل ۳). بر اساس استاندارد ایران حداکثر هوارد مجاز در رب گوجه فرنگی، ٦۰٪ می‌باشد (۱۲). این در حالی است که میانگین عدد هوارد در تمامی تیمارها از حد مجاز افزایش یافته است. روند افزایشی عدد هوارد در نمونه‌های با نمک، نشانگر این مطلب است که هر چند نمک تأثیر قابل توجهی بر رشد سطحی قارچ‌ها داشته و توانایی گونه‌های کپکی را در ایجاد پرگنه مهار نموده است، ولی رشد قارچ‌ها به طور کند و خفیف وجود داشته است که اثر آن به‌صورت افزایش اندازه ریسه‌های قارچی، با ازدیاد عدد هوارد همراه بوده است. از طرف دیگر، با گذشت زمان درطی دوره نگه‌داری، به‌تدریج نمک سطحی جذب لایه‌های پایین‌تر می‌شود و با مهاجرت مولکول‌های آب به لایه‌های بالاتر در اثر اسمز، محیط برای رشد کپک‌ها مساعد می‌گردد.

ارزیابی تغییر اسیدیته در طی زمان، نشان می‌دهد که میزان اسیدیته کل، به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P \leq ۰/۰۱$). رسم رگرسیون خطی بین مقدار اسیدیته و زمان، در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که روند کاهشی اسیدیته درطی زمان در تمامی تیمارها از یک الگوی خطی با ضریب هم‌بستگی بیش از ۹۵٪ پیروی می‌کند. مقایسه شیب خطوط نشان می‌دهد که شدت کاهش اسیدیته در تمامی تیمارها تقریباً مشابه بوده است (شکل ٤). اسید غالب در رب گوجه فرنگی، اسید سیتریک است که نقش اصلی در اسیدیته رب ایفا می‌کند، هر چند که برخی گزارش‌های مبنی بر وجود اسید مالیک در مقادیر بیشتر از اسید سیتریک وجود دارد (۲٤).

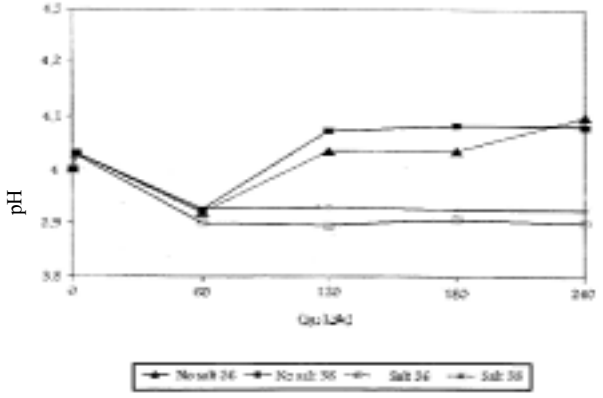
از مقایسه روند تغییر pH و اسیدیته در طی زمان مشخص شد که علی‌رغم سیر نزولی اسیدیته در تمامی تیمارهای مورد بررسی، میزان pH فقط در نمونه‌های فاقد نمک افزایش یافته است. تفاوت در pH نمونه‌های با نمک و بدون نمک در محدوده اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($P \leq ۰/۰۱$) علت این مسئله به تأثیر نمک روی محیط، مربوط می‌باشد دراثر واکنش اسید سیتریک موجود در محیط با کلرور سدیم، سیترات سدیم تولید می‌شود که سبب افزایش قدرت بافری محیط خواهد شد. در نتیجه علی‌رغم تغییر اسیدیته در جهت نزولی، pH محیط ثابت می‌ماند (شکل ۵). بررسی منابع علمی موجود نشان می‌دهد که روند کاهشی میزان اسیدیته در طی زمان، ناشی از واکنش‌های تخریبی اسید

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤. روند تغییر اسیدیته در طی زمان (رگرسیون خطی y=a+bx)



شکل ٥. روند تغییر pH درطی زمان

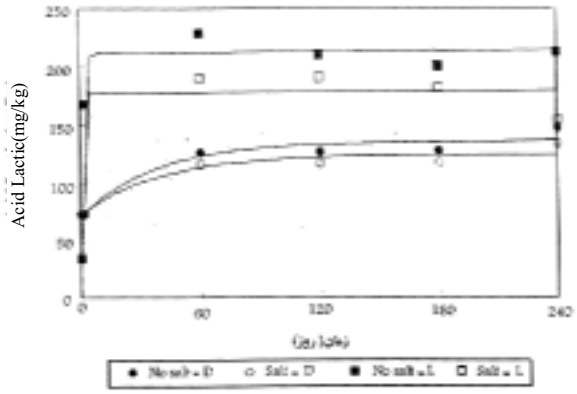
سیتریک می‌باشد که البته میزان کاهش تا حد زیادی به دمای نگه‌داری بستگی دارد (۱۹). از طرفی مخمرها و کپک‌ها نیز اسیدهای آلی را به عنوان منبع کربن و اسیدهای آمینه را به‌عنوان منبع ازت، مصرف می‌کنند که در نتیجه آزاد شدن یون آمونیوم موجب کاهش اسیدیته و افزایش pH می‌شوند (۱۹). برخی از گونه‌های جنس باسیلوس نیز مانند باسیلوس کوآگولانس و باسیلوس سوبتیلیس از سیترات به عنوان منبع کربن استفاده کرده و سبب کاهش اسیدیته می‌شوند(۱۰).

بررسی تغییر میزان اسید لاکتیک کل (L+D) در تیمارهای بریکس ۳٦ با نمک و بریکس ۳٦ بدون نمک نشان داد که مقدار کل اسید لاکتیک در ٤٨ ساعت اولیه پس از تولید و هم‌چنین در دو ماهه اولیه سردخانه گذاری افزایش معنی‌داری داشته است ($p \leq ۰/۰۱$). سپس در ادامه دوره سردخانه گذاری میزان تغییر در هر دو تیمار جزئی بوده است اختلاف غلظت اسید لاکتیک در نمونه‌های با نمک و فاقد نمک نیز معنی‌دار می‌باشد، به‌طوری که سطح اسید لاکتیک در نمونه‌های فاقد نمک به طور معنی‌داری بیشتر بوده است ($p \leq ۰/۰۱$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نمک یک اثر محدودکننده بر روی منبع تغییر اسید لاکتیک داشته است (شکل ٦). بر اساس نظریه پرتا (Porretta) (۱۹۹۳) اگر مقدار اسید لاکتیک کل بیشتر از ۰/۳ گرم بر کیلوگرم باشد نشان دهنده آلودگی میکروبی ماده غذایی است (۲٤). بر اساس نتایج حاصل در این پژوهش، مقدار اسید لاکتیک کل در نمونه‌های فاقد نمک، پس از دو ماه نگه‌داری به بالاتر از سطح مذکور رسیده است، ولی پس از آن مقدار تغییر ناچیز بوده است. احتمالاً عامل محدود شدن روند صعودی میزان اسید لاکتیک، نگه‌داری طولانی مدت در دماهای سرد بوده که بر فعالیت عوامل میکروبی مولد اسید لاکتیک اثر بازدارنده داشته است. در مورد نمونه‌های با نمک، میزان کل اسید لاکتیک، حتی در انتهای دوره سردخانه‌گذاری پایین‌تر از سطح مذکور بوده است.

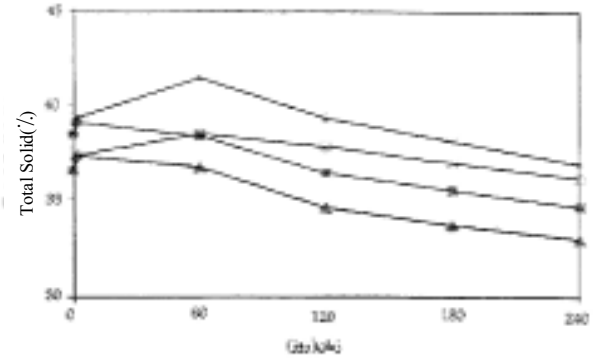
میزان تغییر ماده خشک کل در طی زمان، در تمامی تیمارها معنی‌دار بوده است ($P \leq ۰/۰۱$). با وجود عمل نمک پاشی در سطح که سبب افزایش درصد ماده خشک در نمونه‌های با نمک می‌شود، از تناوب زمانی ۲ به بعد میزان ماده خشک کل در سطح این نمونه‌ها به‌طور قابل توجهی کاهش یافت. دلیل این رفتار، تغییر فشار اسمزی در لایه‌های سطحی رب، به علت غلظت بالای نمک در قسمت‌های فوقانی است. به‌طوری که آب موجود در بافت محصول، در اثر پدیده اسمز از لایه‌های پایین‌تر به سمت لایه‌های سطحی حرکت می‌کند. میزان ماده خشک کل در نمونه‌های فاقد نمک نیز از تناوب زمانی ۱ به بعد کاهش قابل توجهی نشان داده است، دلیل آن احتمالاً پدیده دوفاز شده یا سینرسیس (Syneresis) می‌باشد که طی آن فاز

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٦. روند تغییر اسید لاکتیک (L,D) در طی زمان



شکل ۷. روند تغییر ماده خشک کل در طی زمان

آبی محصول از فاز جامد جدا می‌شود. عامل دیگری که احتمالاً در کاهش میزان ماده خشک (به‌خصوص درلایه‌های سطحی) مؤثر است کپک زدگی شدید در نمونه‌های فاقد نمک است که در اثر مصرف پروتئین‌ها و مواد قندی، ماده خشک کل کاهش می‌یابد. به علت عدم استفاده از بسته‌بندی نفوذناپذیر جذب رطوبت از محیط سردخانه نیز می‌تواند سبب کاهش میزان ماده خشک شود(شکل۷). در هر حال کاهش میزان ماده خشک در لایه‌های سطحی در اثر پدیده اسمز و یا سینرسیس، با افزایش ماده خشک کل در لایه‌های تحتانی همراه است.

نتیجه‌گیری

بررسی تغییر شمارش کلی باکتری‌ها و تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید و شمارش میکروسکوپی کپک‌ها به روش هوارد در تیمارهای اعمال شده در این پژوهش، نشان می‌دهد که استفاده از بریکس بالا (۳۵–۳۸) در تولید رب، همراه با عمل نمک‌پاشی در سطح و نگه‌داری در دمای صفر درجه سانتی‌گراد ، فقط یک اثر محدود کننده بر روند تغییرات میکروبی داشته و نتوانسته آن را به طور کامل متوقف سازد، ولی در هر صورت بر رشد سطحی قارچ‌ها وتوانایی آنها در ایجاد پرگنه اثر قابل توجهی داشته است.

بررسی آماری نتایج نشان داد که تفاوت بریکس رب در سطحی که در این پژوهش استفاده شده است، بر روند تغییر pH، عدد هوارد، شمارش کلی باکتری‌ها، تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید و حد نهایی اسید لاکتیک اثر قابل توجهی نداشته است.

با توجه به موارد نام برده شده و مقایسه روند تغییر پارامترهای مورد بررسی در تیمارهای اعمال شده، می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای با نمک در مقایسه با تیمارهای فاقد نمک از شرایط کیفی مطلوب‌تری برخوردار بوده‌اند ولی در مقایسه تیمارهای بریکس ۳٦ با نمک و بریکس ۳۸ با نمک، تفاوت قابل توجهی مشاهده نمی‌شود. بررسی‌های میکروبیولوژیکی رب فله نشان می‌دهد که در فاصله زمانی تولید تا انتقال نمونه‌ها به سردخانه، شمارش کلی باکتری‌ها، تعداد باکتری‌های مقاوم به اسید و عدد هوارد افزایش قابل توجهی داشته است. افزایش قابل توجه اسید لاکتیک در فاصله زمانی ٤۸ ساعت اولیه پس از تولید، بیانگر این مطلب است که عوامل میکروبی مولد اسید لاکتیک در شرایط مذکور قادر به فعالیت هستند.

با توجه به دمای تخلیه رب درون بشکه‌ها ($68–72^{\circ}C$) و مدت زمانی که طول می‌کشد تا دمای محصول به حدود ($37–40^{\circ}C$) رسیده و برای نمک‌پاشی خشک گردد (مدت زمانی در حدود ٤۸ ساعت در شرایط دمای محیط و فضای آزاد) به نظر می‌رسد که شرایط مناسبی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌های ترموفیل فراهم گردد. بنابراین می‌توان گفت که مرحله سرد کردن تدریجی نمونه‌ها در دمای محیط که هدف اصلی آن خشک کردن سطحی، به منظور نمک‌پاشی است، مرحله‌ای حساس و بحرانی در فرایند تولید رب فله می‌باشد

www.SID.ir

Archive of SID

که به نظر می‌رسد تأثیر عمده‌ای بر کیفیت محصول تولیدی و مدت زمان ماندگاری آن دارد. روش سردسازی و خشک کردن سطحی رب فله در شرایط دمای محیط و درمجاورت فضای آزاد،مشکلات ویژه‌ای به همراه دارد که عبارت‌اند از:

۱. سرد شدن به کندی صورت می‌گیرد به‌طوری که در شرایط آب و هوایی استان خراسان و در فصل تابستان (رطوبت نسبی پایین و دمای حدود ۳۰°C در سایه) مدت زمانی در حدود ٤٨ ساعت طول می‌کشد تا دمای رب به حدود ۳۷°C برسد، ضمن این‌که لایه سطحی آن نیز خشک شود.

۲. بسیاری از آلودگی‌های محیطی مانند حشرات، گرد و غبار و هم‌چنین اسپورهای قارچی از طریق هوا به سطح محصول وارد می‌شوند.

۳. سرد شدن تدریجی علاوه بر تأثیری که بر پارامترهای کیفی محصول مانند ویتامین‌ها، رنگ و مواد مغذی دارد، احتمالاً در فعال شدن گونه‌های اسپوری نیز می‌تواند مؤثر باشد.

٤. درمناطق شمالی کشور، بالابودن رطوبت نسبی محیط و احتمال بارندگی فصلی، خشک کردن سطحی محصول را در دمای محیط و فضای آزاد با مشکل مواجه می‌سازد. بنابراین نیاز به سیستمی است که به‌طور عمومی در کلیه کارخانه‌های کشور قابل استفاده باشد.

با توجه به شرایط ویژه مورد نیاز برای نمک‌پاشی، یعنی خشک کردن سطحی و لایه بستن رب در شرایط دمای محیط و فضای آزاد، استفاده از یک روش اصولی‌تر، ضروری به نظر می‌رسد، که البته بررسی‌ها پژوهش‌های بیشتری را می‌طلبد. در این‌جا به‌عنوان یک راه‌کار پیشنهاد می‌شود که برای انجام عملیات خشک کردن سطحی و سرد کردن مقدماتی، می‌توان با طراحی و تعبیه اتاقک‌های ویژه مجهز به فن و لامپ ماورای بنفش، با دمیدن جریان هوا بر سطح محصول، زمان مورد نیاز را از ٤٨ ساعت به حدود ٨-٥ ساعت کاهش داد. پس از آن، نمک پاشی انجام شده و پس از دربندی، نمونه‌ها را به اتاق پیش سردکن منتقل کرده تا دمای آنها به کمتر از ۱۰°C کاهش یابد و در نهایت بشکه‌ها به سردخانه ۰°C انتقال یابند. استفاده از لامپ ماورای بنفش، در کاهش آلودگی‌های سطحی محصول و سالم سازی هوای اتاق مؤثر است. ایجاد جریان‌های گرد این هوا درسطح محصول، سبب تسریع در خشک شدن لایه رویی خواهد شد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود که فاصله سطح محصول تا لبه بشکه حداقل ۱۰cm در نظر گرفته شود. بدین طریق علاوه بر افزایش سرعت سرد شدن و خشک شدن سطحی، کیفیت محصول نیز در سطح بالاتری حفظ می‌شود. از طرفی مشکل بالا بودن رطوبت نسبی محیط در مناطق شمالی کشور نیز، بدین طریق مرتفع خواهد شد. می‌توان با تعبیه یک فن روی دیوار اتاق، رطوبت فضای درونی را به خارج منتقل کرد.

ابعاد اتاق مورد نظر می‌تواند بر اساس ظرفیت تولید رب فله درهر بچ، تعیین شود. لازم به ذکر است که طرح مذکور در پایلوت صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد به طور آزمایشی اجرا شد و نتایج مطلوبی از لحاظ کاهش زمان سردسازی و خشک کردن سطحی به همراه داشت. در هر حال باید بررسی‌های بیشتری در رابطه با طراحی اتاق مذکور، از لحاظ زاویه، به منظور استقرار فن‌ها، ابعاد و ظرفیت اتاق انجام شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات بی‌دریغ خانم مهندس نوربخش و خانم مهندس قلاسی در مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی خراسان، که نقش ویژه‌ای در انجام مراحل مختلف طرح داشتند تشکر و قدردانی می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع مورد استفاده

۱. آراسته، ن. ۱۳۷۱. شناسایی باکتری‌های اسپورزا در رب گوجه فرنگی، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۲. آل مهدی، م. ۱۳٦٥. میکروب‌شناسی عملی، مرکز نشر دانشگاهی، تهران.

۳. پروانه، و. ۱۳۷۱. *کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی*. انتشارات دانشگاه تهران.

٤. حسینی، ز. ۱۳۷۳. *روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی*. انتشارات دانشگاه شیراز.

٥. خسروشاهی اصل، ا. ۱۳۷٦. *شیمی تجزیه مواد غذایی*. انتشارات دانشگاه ارومیه.

٦. *راهنمای میکروب‌شناسی عملی*. ۱۳۷۱. انتشارات مرک.

۷. روح بخش، ع. ۱۳٦۹. *کنترل بهداشتی مواد خوراکی*. انتشارات شرکت سهامی چهر، تهران.

۸. کریم، گ. ۱۳۷۱. *آزمون‌های میکروبی مواد غذایی*. انتشارات دانشگاه تهران.

۹. لامع، ح. و م. احسانی. ۱۳۷٥. *مبانی بیوتکنولوژی و میکروب شناسی صنعتی*. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.

۱۰. مرتضوی، ع. ۱۳۷۱. اطلس میکروبیولوژی مواد غذایی. انتشارات گلنشر، مشهد.

۱۱. مرتضوی، ع. ۱۳۷۲. *میکروبیولوژی غذایی مدرن*. نشر مشهد.

۱۲. مرتضوی، ع. و ف. طباطبایی. ۱۳۷٦. *توکسین‌های قارچی*. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

۱۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۷۲. *رب گوجه فرنگی*. چاپ ششم، شماره ۷٦۱.

14. Anderson, R. 1984. Growth and corresponding elevation of tomato juice pH by *Bacillus coagulans*. J. Food Sci. 49: 647-649.
15. Banwart, g. 1989. Basic Food Microbiology. 2th ed., Van Nostrand Reinhold, 2nd New York.
16. Battilani, P. and G. Chiusa. 1996. Fungal growth and ergostrol content in tomato fruits infected by fungi. Ital. J. Food Sci. 4:283-289.
17. Boehringer, M. 1997. Test combination for lactic acid determination. Catalogue No: 1112821.
18. Birboum, D. 1997. Microbial activity in heated and unheated tomato serum concentrates. J. Food Processing and Preservation 1:113-118.
19. Fenereghlu, H. 1980. Effect of cultivar concentration method storoage time and temperature on quality of reconstituted tomato juice. Diss. Abst. Inter. 41(4): 520- 224.
20. Hasan, H. A. H. 1995. Alternaria Mycotoxins in black rot lesion of tomato fruit: condition and regulatin of their production. Mycopathol. 130:171-177.
21. Heil, J. R. 1984. Microbiological evaluation of commercial fluming of tomatoes. Food Technol. 4 (1*):* 337- 382.
22. Orvin Mundt, J. 1974. Effect of mould growth on the pH of tomato juice. J. Food Protec. 41(4): 267-268.
23. Oladiran, A. 1992. Changes in ascorbic acid and carbohydrate content in tomato fruits infected with pathogenes. Plant Food for Human Nutr. 42(4*)*: 337-382.
24. Porretta, S. 1993. Changes in tomato pulp quality caused by lactic acid bacteria. Inter. J. Food Sci and Technol. 28: 611-616.
25. Scortt, P. M. and S. R. Kabhere. 1980. Liquid chromatographic determination of tenuazonic acid in tomato paste. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63(3): 612-621.
26. Samano, S. G. 1980. The capability of some common tomato molds to produce mycotoxins and their relationship to Howard Mould Count Diss. Abst. Inter. 41 (4):1049.
27. Uylaser, V. and F. Basoglu. 1997. Research on the changes of bacteria and yeasts and effects of spoilage on tomato paste production stage. Gida 22 (1): 85-62.
28. Wei, C. L. and T.S. Huang. 1995. Growth and survival of *Salmonella montevideo* on tomatoes and disinfection with chlorinated water. J. Food Protec. 58 (8):829-835.

www.SID.ir