

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 در شرایط 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 بدست آمده، برای اصلاح روش‌های سنتی اقدام نمود. نمونه‌های رب فله مورد نیاز، پس از تولید و آماده‌سازی، در ۴ 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 یک بار 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 (۳۵-۳۸) در تولید رب، همراه عمل نمک پاشی در سطح و نگهداری در دمای صفر درجه سانتی‌گراد، فقط یک اثر محدود کننده بر روند تغییرهای میکروبی داشته و تتوانسته آن را به طور کامل متوقف سازد. ولی در هر 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 اسید لاکتیک 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 نمک پاشی 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
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 موقع ظروف بسته‌بندی دلایل مختلف افزایش چشم‌گیری داشته است. با توجه به

۱. عضو هیئت علمی (مربي) علوم صنایع غذایي، دانشگاه آزاد اسلامي سبزوار
۲. دانشیار علوم و صنایع غذایي، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

باکتری‌های اسیدلاکتیک و باسیلوس‌های مقاوم به اسید قادر به فعالیت می‌باشند (۲۱ و ۲۲). انواع دیگری از باکتری‌ها شامل لیستریا (*Listeria*), کوریننه 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*), آتروباسیدیوم (*Aureobasidium*), کاندیدا (*Candida*), ترولوپسپس (*Trichosporon*), تریکوسپورون (*Torulopsis*), ساکارومایسیس (*Saccharomyces*) اندومایکوپسپس (*Endomycopsis*) اشاره نمود (۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۲۵ و ۲۷). مشخص شده است که مخمر "زیگوساکارومایسیس بایل" (*Zygosaccharomyces bile*) عامل فساد در سس گوجه فرنگی است (۱۱). هر چند گونه‌های مخمر به دلیل مقاومت حرارتی کمی که دارند، به ندرت 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 تغییض نشده و یا آب گوجه‌ای که به مقدار جزئی تغییض شده است به خوبی رشد می‌کنند (۲۴). از بین این باکتری‌ها لاکتوباسیلوس پلانتاروم (*Lactobacillus plantarum*) پر جمعیت‌ترین منبع آلدگی به شمار می‌رود (۲۴). 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 کربنیول، 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

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 کسره‌های گوشتی و غیر گوشتی، برای رب مصرفی در فراورده‌های خود، نظر به مسائل اقتصادی از رب فله استفاده می‌کنند. در حال حاضر مقادیر زیادی از رب فله تولیدی، به کشورهای آسیای میانه صادر می‌شود. متأسفانه به دلیل عدم رعایت اصول صحیح فرایند و نگهداری، میزان آلدگی کمکی و میکروبی محصول مذکور بسیار بالاست. بر اساس موازین استاندارد رب فله کپکزده به علت احتمال آلدگی به توکسین‌های قارچی، غیر بهداشتی تلقی گردیده و تمام محتويات ظروف رب فله معدوم می‌شود. برخی از صاحبان صنایع نیز با مشاهده رشد کپک در سطح محصول، تنها با حذف لایه‌های سطحی مابقی محتويات 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 اسپیتیک، به علت عدم استفاده از فرایند حرارتی مناسب برای پاستوریزه کردن محصول، هم‌چنین به علت عدم استفاده از بسته‌بندی نفوذناپذیر، میزان آلدگی بالا بوده و یک فلور میکروبی پیچیده مسئول تغییرهای فیزیکوشیمیایی محصول خواهد بود. فلور میکروبی عمده در سطح فرآورده شامل انواع کپک‌ها و مخمرهای سطحی است، ضمن آن که در عمق محصول انواع میکروارگانیسم‌های بی‌هوایی و یا میکروآئروفیل مانند:

ماده خام اولیه، در اثر فرایند حرارتی و پاستوریزاسیون از بین می‌روند و محصول نهایی قادر هر گونه کپک زنده است. ولی برخی از کپک‌ها که دارای آسکو‌سپورهای مقاوم به حرارت هستند، می‌توانند در غذاهای اسیدی به خصوص کنسرو عصاره‌های تغییض شده میوه‌ها و سبزی‌ها ایجاد فساد نمایند. از گونه‌های کپکی مقاوم به حرارت می‌توان با ایسوکلامیس فولوا (*Byssochlamys fulva*) و بعضی از گونه‌های آسپرژیلوس و پنی‌سیلیوم را نام برد که منشأ آنها احتمالاً خاک مزرعه است (۱). به طور کل عوامل کپکی مولد فساد در رب گوجه فرنگی عبارت‌اند از: گونه‌های مختلف آسپرژیلوس (*Aspergillus spp.*), گونه‌های مختلف پنی‌سیلیوم (*Penicillium spp.*), و گونه‌های کپکی رایزوپوس نیگریکنس (*Rhizopus nigricans*), ژئوتربیکوم کاندیدوم (*Geotrichum candidum*), آلترناریا آلترناتا (*Alternaria alternata*), فوزاریوم اکسیس پوروم (*Botrytis cinerea*) و بوتریتیس سینرا (*Fusarium oxysporum*) می‌باشد. مشخص شده است که در اثر رشد کپک‌ها روی فرآورده‌های تبدیلی گوجه فرنگی، pH محصول افزایش می‌یابد (۲۰ و ۲۱ و ۲۳ و ۲۵ و ۲۶). کپک‌های آلترناریا و آسپرژیلوس بیشترین تأثیر را بر افزایش pH آب گوجه در دمای محیط دارا هستند (۲۲).

رشد گونه‌های قارچی بر روی فرآورده‌های گوجه فرنگی سبب کاهش ویتامین C و کل قندهای محلول می‌شود (۲۳). از طرف دیگر بسیاری از گونه‌های قارچی، قادر به ترشح آنزیم‌های مانند پکتین متیل استراز و پلی گالاکتوروناز هستند که با تجزیه پکتین منجر به تخریب بافت و کاهش قوام محصول می‌گردند (۲۴). مهم‌ترین فساد کپکی روی گوجه فرنگی، تولید سموم قارچی یا مایکوتوكسین‌ها (Mycotoxins) است. از آنجا که برخی از مایکوتوكسین‌ها در برابر فرایند حرارتی مقاوم هستند بنابراین به راحتی می‌توانند در محصول نهایی وارد شده و سلامتی مصرف کننده را به مخاطره بیندازند. بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهند که رب گوجه فرنگی نیز محیط مناسبی برای رشد

محلول و ماده جامد کل نیز کاهش می‌یابد، که به علت مصرف و تجزیه مواد قندی (فروکتوز و گلکوز) می‌باشد. تغییرها در ویژگی‌های فیزیکو‌شیمیایی رب گوجه فرنگی، با پارامترهای حسی مرتب است. به طوری که با پیشرفت فساد محصول، مزه ترشی، تلخی، سولفوری و بالاخره طعم فساد افزایش یافته هر چند که تغییر قابل توجهی در رنگ فرآورده ایجاد نمی‌شود (۲۴). بررسی‌های انجام شده توسط سایر محققان حاکی از آن است که مقادیر بیش از $0/3$ گرم بر کیلوگرم اسید لاکتیک در رب گوجه فرنگی، معرف آلدگی میکروبی محصول است (۲۴). باکتری‌های اسپورزای مقاوم به اسید مانند گونه‌های مختلف جنس باسیلوس، به علت مقاومت حرارتی بالایی که دارند، بخش عمده‌ای از فلور میکروبی رب گوجه فرنگی فله را تشکیل می‌دهند. زیرا به نظر می‌رسد که مرحله تغییض در اوپراتور، نه تنها سبب فعال شدن فرم‌های اسپوری می‌شود، بلکه تعداد اسپور نیز مطابق با میزان تغییض افزایش می‌یابد (۲۰). عملده‌ترین گونه‌های جنس باسیلوس که در رب گوجه فرنگی قادر به فعالیت هستند عبارت اند از باسیلوس کواگولانس (*Bacillus coagulans*) و باسیلوس سوبتیلیس (*Bacillus subtilis*) هر چند که گونه‌های دیگری نیز نظیر: باسیلوس ماسرانس (*Bacillus macerans*), باسیلوس پلی میکسا (*Bacillus polymyxa*) و باسیلوس سیرکولانس (*Bacillus circulans*) شده‌اند (۱۱ و ۱۴). پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد که باسیلوس کواگولانس می‌تواند در آب گوجه فرنگی رشد کرده و pH محیط را از $4/5$ به 5 افزایش دهد (۱۴ و ۱۵).

گروهی دیگر از میکروارگانیسم‌ها که قادرند بر روی گوجه فرنگی و فرآورده‌های آن به خوبی رشد کنند، کپک‌ها هستند. فلور کپکی همراه با گوجه فرنگی پیچیده بوده و می‌تواند بسته به عوامل آب و هوایی، منطقه کشت گوجه فرنگی و دوره برداشت متفاوت باشد (۱۶). اغلب گونه‌های کپکی همراه با

نمونه برداری از تیمارهای مورد بررسی در ۶ تناوب زمانی مختلف انجام شد، که عبارت از بلا فاصله پس از تولید، ۴۸ ساعت پس از تولید، پس از ۲ ماه، ۴ ماه، ۶ ماه و بالاخره پس از ۸ ماه نگهداری در سردهخانه بودند. با توجه به نحوه آماده سازی رب گوجه فرنگی فله، که شامل فرایند خشک کردن سطحی و نمک پاشی در سطح می باشد، و نیز با توجه به روش بسته بندی محصول که از نوع غیر هرمتیک است، بدینه است که برخی ویژه گی های آن در عمق های متفاوتی از بشکه، تفاوت داشته باشد. با توجه به زیاد بودن حجم بشکه و موارد ذکر شده، این احتمال وجود داشت که نمونه های برداشتی یکنواخت نباشند. بنابراین برای بررسی تغییر های فیزیکو شیمیایی محصول در سطح مشابهی از تمامی بشکه ها، نمونه برداری از عمق ۱۵ سانتی متری 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 آلودگی های ناشی از محیط سردهخانه، بشکه هایی که در هر مرحله نمونه گیری شده بودند، حذف گردیدند. بنابراین ۸ بشکه ای که در آخرین مرحله نمونه برداری باقی ماندند (تناوب زمانی ۶) در حکم نمونه های شاهد بودند. تعداد نمونه های برداشت شده در هر تناوب زمانی عبارت بودند از:

$$= ۲ \text{ ناحیه نمونه برداری} \times ۲ \text{ تکرار} \times ۴ \text{ تیمار}$$

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

به منظور اندازه گیری اسیدیته کلی، از روش تیتراسیون حجمی با سود ۰/۱ نرمال استفاده گردید (۱۹ و ۲۴). اندازه گیری pH با دستگاه pH متر دیجیتال نوع EYELA مدل pHM2000 انجام شد (۱۲). برای اندازه گیری اسید لاتیک از روش آنزیمی - اسپکترو متری (کیت ترکیبی اندازه گیری اسید لاتیک) (۱۸) و به منظور تعیین ماده خشک کل، از روش آون گذاری در دمای C ۷۰-۸۰° استفاده شد (۳، ۴، ۵ و ۲۴).

آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*) و تولید آفلاتوکسین می باشد (۵ و ۹ و ۱۲ و ۱۷ و ۲۰ و ۲۴).

مواد و روش ها

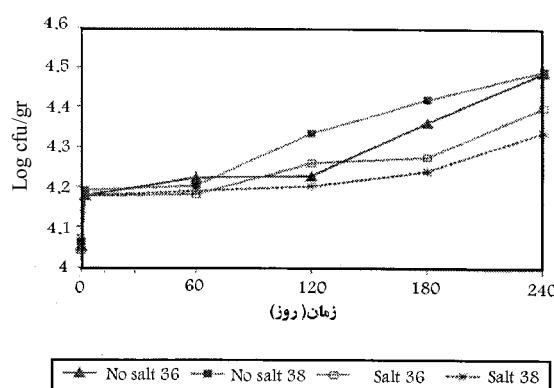
نمونه های رب مورد نیاز، پس از تولید در یکی از کارخانه های صنایع غذایی، در داخل بشکه های پلاستیکی ۱۳۰ کیلوگرمی با ارتفاع تقریبی ۱ متر، با پوشش درونی دولایه از جنس پلی اتیلن، پر شدند. با توجه به تیمارها، فاکتورهای مورد بررسی عبارت از دوره نگهداری ۸ ماهه بودند. نمونه های تولید شده مطابق با روش معمول در صنعت رب کشور، به مدت ۴۸ ساعت در دمای محیط (فضای آزاد) و در سایه قرار داده شدند. در طی این مدت دمای نمونه ها تا حدود ۴۰-۴۷°C کاهش یافت. ضمن این که در اثر تبخیر سطحی، لایه رویی نمونه ها خشک گردید. پس از آن، عمل نمک پاشی در سطح، در دمای C ۳۷ (به میزان ۳ کیلوگرم به ازای هر بشکه ۱۳۰ کیلوگرمی) بر روی نیمی از نمونه های با بریکس ۳۶ (۱۲ بشکه) و نیمی از نمونه های با بریکس ۳۸ (۱۲ بشکه) انجام گردید. بدین ترتیب تیمارهای اعمال شده عبارت از بریکس ۳۶ با نمک، بریکس ۳۶ بدون نمک، بریکس ۳۸ با نمک، و بریکس ۳۸ بدون نمک بودند.

تعداد کل نمونه های تولید شده عبارت بودند از:

$$\text{عدم نمک پاشی} \times ۲ \text{ سطح بریکس} \times ۶ \text{ تناوب زمانی} = ۴۸$$

$$= ۲ \text{ تکرار} \times ۲ \text{ حالت نمک پاشی} \text{ یا}$$

یکی از اهدافی که در این پژوهش به طور ویژه ای مدنظر قرار گرفت این بود که نمونه های مورد بررسی در شرایطی کاملاً مشابه با روش تولید و نگهداری مرسوم در صنایع رب کشور، ارزیابی شوند، تا بدین طریق بتوان نقاط ضعف سیستم را شناسایی کرده و در نهایت برای اصلاح روش های سنتی، برنامه ریزی دقیق تر و گستره ای را ترتیب داد. نمونه های تولید شده پس از آماده سازی، در بندی شده و به سردهخانه صفر درجه منتقل گردیدند.



شکل ۱. تغییرات شمارش کلی باکتری‌ها در طی زمان

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

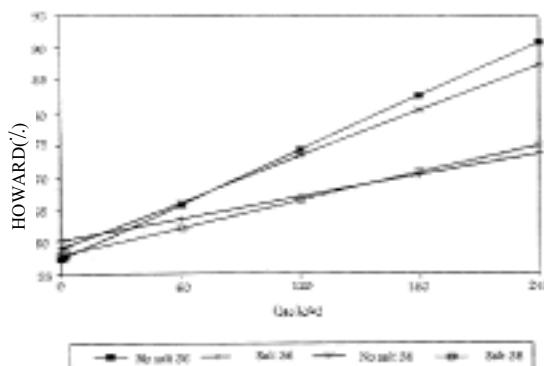
تغییر باکتری‌های مقاوم به اسید در طی زمان، در تمامی تیمارها در محدوده اطمینان ۹۹٪ معنی‌دار بوده است ($P \leq 0.01$) به طوری که تعداد آنها در ۴۸ ساعت اولیه پس از تولید و هم‌چنین در ۲ ماهه اولیه سردخانه‌گذاری، افزایش قابل توجهی داشته و لی ب تدریج سیر صعودی در تمامی تیمارها کندتر شده و در نهایت روند کاهشی داشته است. روند کاهشی جمعیت باکتری‌های مقاوم به اسید، در تیمارهای دارای نمک به طور معنی‌داری شدیدتر از سایر تیمارها بوده است ($P \leq 0.01$) به طوری که سطح نهایی این میکرووارگانیسم‌ها در تیمارهای 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. به تدریج 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 ($P \leq 0.01$).

تعیین عدد هوارد با استفاده از لام مخصوص هوارد و مشاهده ریسه‌های کپکی در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی $\times 90$ 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 Plate count (Surface plating) در محیط پلیت کانت آگار (agar) و انکوباسیون در دمای 37°C به مدت ۲۴–۴۸ ساعت، انجام شد (۲، ۶، ۷ و ۸). به منظور بررسی میکرووارگانیسم‌های مقاوم به اسید از دمای 30°C به مدت ۲۴–۷۲ ساعت، استفاده گردید.

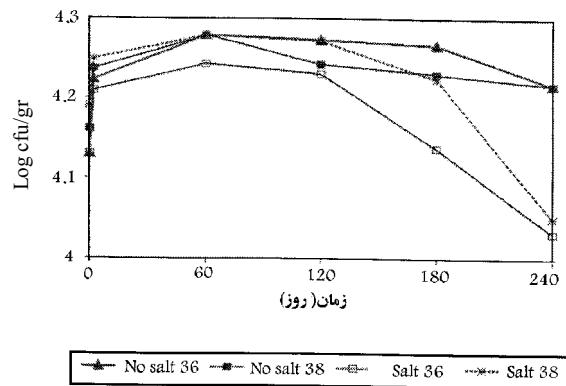
این طرح به صورت آزمایش فاکتوریل، در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت پذیرفت.

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. شب 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 ۳۶ و ۳۸) تأثیری بر تعداد کلی باکتری‌ها نداشته، ولی افزودن نمک در محدوده اطمینان ۹۹٪ اثر معنی‌داری داشته است ($P \leq 0.01$). اما زمانی که بریکس و نمک به عنوان دو فاکتور محدودکننده اعمال گردیدند، تأثیر قابل توجهی بر سطح نهایی تعداد کل باکتری‌ها در محصول دارند، به طوری که سطح نهایی تعداد کل باکتری‌ها در نمونه‌های با بریکس ۳۸ با نمک، به طور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌های است ($P \leq 0.01$). 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 ۳. روند تغییر عدد هوارد در طی زمان
(رگرسیون خطی $y=a+bx$)



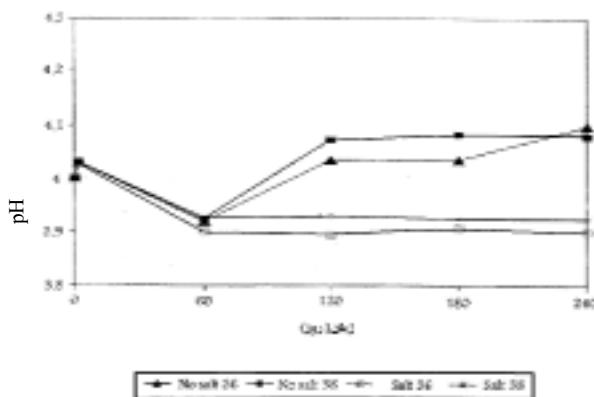
شکل ۲. تغییر باکتری‌های مقاوم به اسید در طی زمان

ارزیابی تغییر اسیدیته در طی زمان، نشان می‌دهد که میزان اسیدیته کل، به طور معنی داری کاهش یافته است ($P \leq 0.01$). رسم رگرسیون خطی بین مقدار اسیدیته و زمان، در تیمارهای مختلف نشان می‌دهد که روند کاهشی اسیدیته در طی 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 ۴). 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 مقداری بیشتر از اسید سیتریک وجود دارد (۲۴).

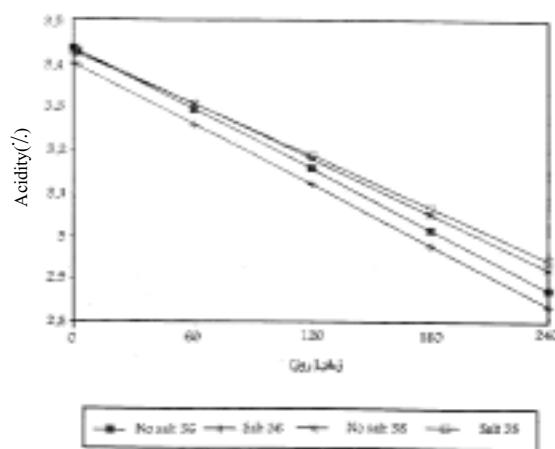
از مقایسه روند تغییر pH و اسیدیته در طی زمان مشخص شد که علی‌رغم سیر نزولی اسیدیته در تمامی تیمارهای مورد بررسی، میزان pH فقط در نمونه‌های فاقد نمک افزایش یافته است. تفاوت در pH نمونه‌های با نمک و بدون نمک در محدوده اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($P \leq 0.01$). علت این مسئله به تأثیر نمک روی محیط، مربوط می‌باشد در اثر 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 تحریبی اسید

به نظر می‌رسد که وجود نمک به همراه نگهداری طولانی در دمای 0°C بر باکتری‌های مقاوم به اسید اثر کشنده‌گی داشته است. تأثیر کشنده‌گی 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 ۴ تیمار روند صعودی داشته است. این تغییر، در محدوده اطمینان ۹۹٪ معنی‌دار بوده است. ولی شدت تغییر در تیمارهای فاقد نمک به طور قابل توجهی بیشتر از تیمارهای با نمک بوده است. به طوری 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 حداقل هوارد مجاز در رب گوجه فرنگی، ۰.۶٪ 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 به صورت افزایش اندازه ریشه‌های قارچی، با افزایش عدد هوارد همراه بوده است. از طرف دیگر، با گذشت زمان در طی دوره نگهداری، به تدریج نمک سطحی جذب لایه‌های پایین‌تر می‌شود و با مهاجرت مولکول‌های آب به لایه‌های بالاتر در اثر اسمز، محیط برای رشد کپک‌ها مساعد می‌گردد.



شکل ۵. روند تغییر pH در طی زمان

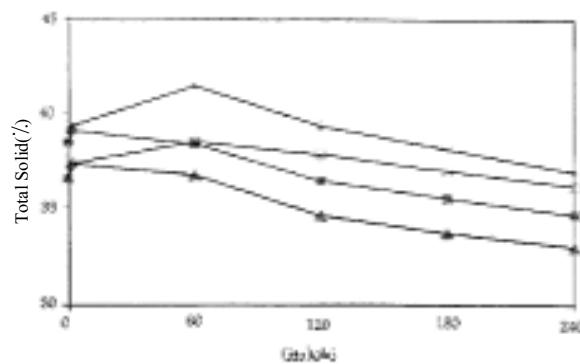
شکل ۶. روند تغییر اسیدیته در طی زمان (رگرسیون خطی $y=a+bx$)

میکروبی ماده غذایی است (۲۴). بر اساس نتایج حاصل در این پژوهش، مقدار اسید لакتیک 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 لакتیک، نگهداری طولانی مدت در دماهای سرد بوده که بر فعالیت عوامل میکروبی مولد اسید لакتیک اثر بازدارنده داشته است. در مورد نمونه‌های با نمک، میزان کل اسید لакتیک، حتی در انتهای دوره سرداخانه گذاری پایین‌تر از سطح مذکور بوده است.

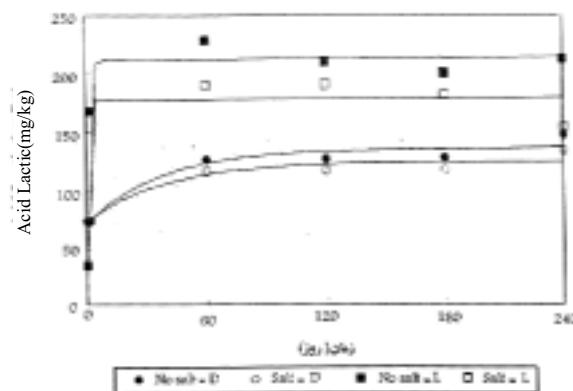
میزان تغییر ماده خشک کل در طی زمان، در تمامی تیمارها معنی دار بوده است ($P \leq 0.01$). با وجود عمل نمک پاشی در سطح که سبب افزایش درصد ماده خشک در نمونه‌های با نمک می‌شود، از تناوب زمانی ۲ به بعد میزان ماده خشک کل در سطح این نمونه‌ها به طور قابل توجهی کاهش یافت. دلیل این رفتار، تغییر فشار اسمزی در لایه‌های سطحی رب، به علت غلظت بالای نمک در قسمت‌های فوقانی است. به طوری 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

سیتریک می‌باشد که البته میزان کاهش تا حد زیادی به دمای نگه‌داری بستگی دارد (۱۹). از طرفی مخمراها و کپک‌ها نیز اسیدهای آلی را به عنوان منبع کربن و اسیدهای آمینه را به عنوان 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 کواگولانس و باسیلوس سوبتیلیس از سیترات به عنوان منبع کربن استفاده کرده و سبب کاهش اسیدیته می‌شوند (۱۰).

بررسی تغییر میزان اسید لакتیک کل (L+D) در تیمارهای بریکس ۳۶ با نمک و بریکس ۳۶ بدون نمک نشان داد که مقدار کل اسید لакتیک در ۴۸ ساعت اولیه پس از تولید و هم‌چنین در دو ماهه اولیه سرداخانه گذاری افزایش معنی داری داشته است ($p \leq 0.01$). سپس در ادامه دوره سرداخانه گذاری میزان تغییر در هر دو تیمار جزئی بوده است اختلاف غلظت اسید لакتیک در نمونه‌های با نمک و فاقد نمک نیز معنی دار می‌باشد، به طوری که سطح اسید لакتیک در نمونه‌های فاقد نمک به طور معنی داری بیشتر بوده است ($p \leq 0.01$). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نمک یک اثر محدود کننده بر روی منبع تغییر اسید لакتیک داشته است (شکل ۶). بر اساس نظریه پررتا (Porretta) (۱۹۹۳) اگر مقدار اسید لакتیک کل بیشتر از ۰/۳ گرم بر کیلوگرم باشد نشان دهنده آسودگی



شکل ۷. روند تغییر ماده خشک کل در طی زمان



شکل ۸. روند تغییر اسید لاکتیک (L,D) در طی زمان

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 مطلوب تری برخوردار بوده‌اند ولی در مقایسه تیمارهای بربیکس ۳۶ با نمک و بربیکس 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 ۴۸ 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 ($68\text{--}72^\circ\text{C}$) و مدت زمانی که طول می‌کشد تا دمای محصول به حدود ($40\text{--}40^\circ\text{C}$) رسیده و برای نمکپاشی خشک گردد (مدت زمانی در حدود ۴۸ ساعت در شرایط دمای محیط و فضای آزاد) به نظر می‌رسد که شرایط مناسبی برای رشد انواع میکروگانیسم‌های 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.

آبی محصول از فاز جامد جدا می‌شود. عامل دیگری که احتمالاً در کاهش میزان ماده خشک (به خصوص در لایه‌های 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(شکل ۷). 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 بربیکس بالا (۳۸-۳۵) 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 و توانایی آنها در ایجاد پرگنه اثر قابل توجهی داشته است.

بررسی آماری نتایج نشان داد که تفاوت بربیکس رب در سطحی که در این پژوهش استفاده شده است، بر روند تغییر pH، عدد هوارد، شمارش کلی باکتری‌ها، تعداد

از ۴۸ ساعت به حدود ۵-۸ 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 10°C کاهش یابد و در نهایت بشکه‌ها به سردخانه 0°C انتقال یابند. استفاده از لامپ ماورای بنسن، در کاهش آلودگی‌های سطحی محصول و سالم سازی هوای اتاق مؤثر است. ایجاد جریان‌های گرد این هوا در سطح محصول، سبب تسريع در خشک شدن لایه رویی خواهد شد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود که فاصله سطح محصول تا لبه بشکه حداقل 10cm 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 تعییه یک فن روی دیوار اتاق، رطوبت فضای درونی را به خارج منتقل کرد.

بعد اتاق مورد نظر می‌تواند بر اساس ظرفیت تولید رب فله در هر 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، بعد 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.

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 در مجاورت فضای آزاد، مشکلات ویژه‌ای به همراه دارد که عبارت اند از:

۱. سرد شدن به کندی صورت می‌گیرد به طوری که در شرایط آب و هوایی استان خراسان و در فصل تابستان (رطوبت نسبی پایین و دمای حدود 30°C در سایه) مدت زمانی در حدود ۴۸ ساعت طول می‌کشد تا دمای رب به حدود 37°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.
۴. در مناطق شمالی کشور، بالا بودن 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 می‌طلبند. در این‌جا به عنوان یک راهکار پیشنهاد می‌شود که برای انجام عملیات خشک کردن سطحی و سرد کردن مقدماتی، می‌توان با طراحی و تعییه اتافک‌های ویژه مجهز به فن و لامپ ماورای بنسن، با دمیدن جریان هوا بر سطح محصول، زمان مورد نیاز را

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. ۱۳۶۵. میکروب‌شناسی عملی، مرکز نشر دانشگاهی، تهران.
۳. پروانه، و. ۱۳۷۱. کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی. انتشارات دانشگاه تهران.
۴. حسینی، ز. ۱۳۷۳. روش‌های متداول در تجزیه مواد غذایی. انتشارات دانشگاه شیراز.
۵. خسروشاهی اصل، ا. ۱۳۷۶. شیمی تجزیه مواد غذایی. انتشارات دانشگاه ارومیه.
۶. راهنمای میکروب‌شناسی عملی. ۱۳۷۱. انتشارات مرک.
۷. روح بخش، ع. ۱۳۶۹. 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. ۱۳۷۵. مبانی بیوتکنولوژی و میکروب‌شناسی صنعتی. مرکز انتشارات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران.
۱۰. مرتضوی، ع. ۱۳۷۱. اطلس میکروبیولوژی مواد غذایی. انتشارات گلنتر، مشهد.
۱۱. مرتضوی، ع. ۱۳۷۲. میکروبیولوژی غذایی مدرن. نشر مشهد.
۱۲. مرتضوی، ع. و ف. طباطبایی. ۱۳۷۶. توکسین‌های قارچی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
۱۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ۱۳۷۲. رب گوجه فرنگی. چاپ ششم، شماره ۷۶۱

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 storage 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 regulation 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 pathogens. *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.