



بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی شیر خرمای در طول مراحل تولید (از ماده اولیه تا محصول نهایی)

نوشین نوشیروانی^{۱*}، عاطفه محبی^۲

۱. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و منابع طبیعی تویسرکان، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲. مدرس گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، همدان، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۴

کلمات کلیدی:

خرما،

شیره،

خواص میکروبی،

خواص شیمیایی.

هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی شیر خرمای طی مراحل مختلف تولید از ماده اولیه تا محصول نهایی می‌باشد. مقادیر ماده جامد محلول، pH، اسیدیته، قند کل و احیاء کننده، محتوای ترکیبات پلی فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی و شمارش میکروبی اندازه گیری شده و تعیین نوع میکروارگانیسم‌ها بر اساس ویژگی‌های فنوتیپی در مراحل مختلف تولید انجام شد. نتایج بدست آمده نشان داد طی مراحل شفاف سازی و تغلیظ شربت به تدریج pH کاهش و اسیدیته، قند کل، قند احیاء کننده و ماده جامد کل افزایش یافت و در شیر به حداکثر خود رسید. مقایسه شیر سنتی با شیر تولیدی کارخانه pH بیشتر و اسیدیته، قند کل و احیاء کننده، ماده جامد کل، ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری برای شیر سنتی نشان داد. به طور کلی محتوای ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی در مراحل مختلف تولید به تدریج کاهش یافت به طوری که شیر خرمای به طور معنی داری محتوای ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری (۲۷۹ میلی گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه و ۳۳٪) نسبت به خرما (۳۸۸ میلی گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه و ۵۷٪) نشان داد. نتایج آزمون میکروبی کمترین بار میکروبی برای شیر تولیدی در مقایسه با خرما و شربت‌های مختلف را نشان داد. هر چند حضور باسیلوس لیچنی فورمیس در شیر احتمال ترش شدن فرآورده را فراهم می آورد و یافتن راهکاری مناسب برای افزایش مدت زمان ماندگاری محصول در این خصوص ضروری به نظر می‌رسد. شیر سنتی بار میکروبی کمتری نسبت به شیر تولیدی نشان داد هر چند باکتری باسیلوس لیچنی فورمیس در شیر سنتی با وجود تیمار حرارتی بالا نیز مشاهده شد. بر اساس نتایج بدست آمده شیر خرمای عاری از کلی فرم بود که بیانگر حفظ اصول بهداشتی حین تولید می باشد.

DOI: 10.22034/FSCT.20.139.109

DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.139.7.1

* مسئول مکاتبات:

N.noshirvani@basu.ac.ir

۱- مقدمه

میوه‌ها و فرآورده‌های تبدیلی آن‌ها جزء عمده‌ترین کالاهای تجاری در سطح جهان بوده و بخشی از حیات اقتصادی بسیاری از کشورهای در حال توسعه را به خود اختصاص می‌دهند [۱]. خرما (*L. Phoenix dactylifera*) یکی از اقلام اقتصادی در امر صادرات برخی از کشورهای خاورمیانه از جمله ایران به حساب می‌آید. میزان تولید خرما در جهان در سال ۲۰۰۷ حدود ۶ میلیون تن بوده که از این میزان حدود ۹۴۰ هزار تن در ایران تولید شده است [۲]. طبق گزارش‌های FAO در سال ۱۹۹۸، ایران جایگاه نخست سطح زیر کشت خرما و جایگاه دوم از نظر فروش و صادرات خرما در جهان را داراست. همچنین ایران با تولید جهانی ۱۴/۱٪ در سال ۲۰۱۲ جایگاه دوم تولید خرما در جهان را به خود اختصاص داده است [۳]. خرما حاوی مقدار قابل توجهی کربوهیدرات (۷۳/۵٪)، به همراه خاکستر (۱/۵٪)، پروتئین (۲/۳٪)، لیپید (۰/۲٪)، ویتامین‌های A، B₁، B₂، B₆، C، نیاسین، اسید فولیک و اسید پنتوتیک و مواد معدنی شامل کلر، سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، روی، مس، فسفر، منگنز، کبالت، سلنیوم، باریوم و آهن می‌باشد. خرما حاوی مقدار بالایی از ترکیبات پلی فنولی (حدوداً ۲۲۵ میلی گرم در ۱۰۰ گرم) بوده که به دلیل ویژگی آنتی اکسیدانی، از بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان جلوگیری می‌نماید. همچنین دارا بودن مقادیر بالایی فیبر رژیمی (ترکیبات پکتیکی، همی سلولز، سلولز، صمغ‌ها، نشاسته، لیگنین و گزیلان) خرما را از لحاظ تغذیه‌ای حائز اهمیت ساخته است. ترکیبات شیمیایی اصلی میوه خرما را کربوهیدرات‌ها عموماً قندهای احیاء کننده مانند گلوکز، فروکتوز و همچنین ساکارز غیر احیاء کننده تشکیل می‌دهد. از آنجایی که بخش قابل توجهی از قندهای خرما را قندهای احیاء کننده تشکیل می‌دهند، لذا به عنوان جایگزین مناسبی

برای ساکارز در فرمولاسیون غذاهای شیرین برای بیماران دیابتی کاربرد دارد [۴ و ۵].

حدود ۶۰٪ خرما تولید شده کشور در داخل مصرف گردیده یا صادر می‌شود و حدود ۴۰٪ آن به دلیل عدم استفاده از روش‌های مناسب برداشت، بسته بندی سنتی، حمل و نقل و روش‌های نگهداری نامناسب دچار افت شده و به دلیل بازار پستندی پائین به مصرف دام رسیده یا در صنایع تبدیلی به شیره خرما یا سایر فرآورده‌های مشابه تبدیل می‌شود. به طور کلی، خرما به روش‌های مستقیم (استفاده از میوه) و غیرمستقیم (خرمای صنعتی در صنایع تبدیلی) مورد مصرف قرار می‌گیرد. خرمای صنعتی به خرمایی اطلاق می‌گردد که در درجات پایین‌تری از استاندارد بوده و در صنعت با تغییر شکل ظاهری میوه آن در شیرینی سازی، تهیه خمیر خرما، شیره خرما، قند مایع و صنایع تخمیری (تخمیر الکل و سرکه) مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. ضایعات خرما که به علت عدم توجه به فرآورده‌های جانبی و نحوه فرآوری آن در کشور تولید می‌شود، تحقیق در مورد کاربرد فرآورده‌های جانبی خرما مانند شیره، قند و پالپ خرما را ضروری می‌سازد. شیره خرما معمولاً بیشترین فرآورده تهیه شده از خرما محسوب می‌شود که به دو روش سنتی و صنعتی تهیه می‌شود. روش سنتی شامل استخراج و جوشاندن شربت خرما می‌باشد. روش صنعتی فرآیند شامل استخراج، خالص سازی و تغلیظ شربت خرما می‌باشد [۷]. تغلیظ آب میوه‌ها ضمن کاهش فعالیت آبی و رشد میکروبی، باعث کاهش هزینه‌های حمل و نقل و انبارمانی شده و مدت زمان نگهداری فرآورده را افزایش می‌دهد [۸]. شیره خرما محصولی مایع و شیرین به رنگ قهوه‌ای تیره است که علاوه بر دارا بودن ترکیبات قندی شامل گلوکز، فروکتوز و ساکارز حاوی ترکیبات دیگری مانند پروتئین، فیبر و ترکیبات معدنی به ویژه آهن، پتاسیم و کلسیم می‌باشد. همچنین به دلیل دارا بودن مقادیر بالای فسفر، آهن، پتاسیم و کلسیم ارزش غذایی بالایی

[۱۱] نشان دادند حضور کپک *آسپرژیلوس فلاووس* در آب مارچوبه منجر به اکسیداسیون ترکیبات پلی فنولی می‌شود. گاد و همکاران [۱۲] نشان دادند که افزودن شیر خرمای به ماست باعث افزایش ظرفیت پلی فنولی کل و خاصیت آنتی اکسیدانی در ماست می‌شود.

شیره خرما یا به طور مستقیم مصرف شده و یا به عنوان ماده اولیه در تهیه بسیاری از فرمولاسیون‌های غذایی نظیر بستنی، نوشیدنی، صنایع نانوائی و قنادی، ترکیب شیر خرمای و خمیر کنگد، مربا و کره مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این راستا، همایونی راد و همکاران [۱۳] اندیس گلاسمیک مربای رژیمی آلبالو تهیه شده با شیر خرمای را در افراد سالم بررسی نمودند. نتایج نشان داد که فرمولاسیون مربا با شیر خرمای دارای اندیس گلاسمیک در محدوده قابل مصرف برای افراد دیابتی بوده و در مقایسه با نمونه شاهد به طور معنی داری اندیس گلاسمیک کمتری را نشان داد. نتایج این تحقیق شیر خرمای را به عنوان منبع قندی مناسبی برای فرمولاسیون غذای شیرین برای افراد دیابتی معرفی نمود. در مطالعه‌ای دیگر گوهری اردبیلی و همکاران [۱۴] نشان دادند که استفاده از شیر خرمای به عنوان جایگزین شکر در بستنی، ضمن اجتناب از عوارض ناشی از ساکارز برای سلامتی، می‌تواند با استفاده از خرما نامرغوب درجه ۲ و ۳ که مناسب تازه خوری نمی‌باشد، سبب ایجاد ارزش افزوده در محصول نیز شود. مصباحی و همکاران [۱۵] اثر جایگزینی ساکارز با شیر و قند مایع خرما بر ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر بیسکوئیت را مطالعه نمودند. بر اساس نتایج بدست آمده قوام خمیر و برگشت پذیری آن با افزایش درصد جایگزینی ساکارز کاهش یافت. کاهش میزان ساکارز باعث کاهش سفتی و پیوستگی خمیر و افزایش چسبندگی آن شد. بهترین نتایج بر اساس درصد جایگزینی ۶۰٪ برای قند خرما و ۴۰٪ برای شیر خرمای بدست آمد. در مطالعه‌ای دیگر کارازایان و همکاران [۱۶] بهینه سازی فرمولاسیون

داشته و ماده‌ای مغذی به ویژه برای کودکان، سالمندان، بانوان شیرده و بیماران دیابتی به شمار می‌رود. به علاوه محتوای بالای فروکتوز و گلوکز و محتوای پائین ساکارز و صرفه اقتصادی، شیر خرمای را به ماده غذایی مناسبی برای فرمولاسیون غذاهای شیرین نظیر فرآورده‌های قنادی، نوشابه‌ها و محصولات لبنی مبدل ساخته است. در کنار اثرات مثبت تغذیه‌ای، شیر خرمای منبعی غنی از آنتی اکسیدان‌هاست. فعالیت آنتی اکسیدانی این ترکیبات به مکانیسم‌های متعددی مانند تجزیه پراکسیدها، جلوگیری از واکنش‌های زنجیری، خاصیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد و یون‌های فلزی مرتبط است. ترکیبات مسئول اثرات آنتی اکسیدانی شامل فلاونوئیدها، اسید فنولیک، اسید آسکوربیک و کاروتنوئیدها هستند. در این راستا نوشیروانی و همکاران [۹] فعالیت ضد میکروبی و ضد اکسایشی پالپ و عصاره خرما را مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج بدست آمده محتوای ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدی عصاره متانولی و پالپ خرما به ترتیب ۴۱۴/۷۲ و ۳۰۴/۱۸ (میلی گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه) و ۲۸/۶۲ و ۲۰/۷۲ (میلی گرم کاتکین بر ۱۰۰ گرم نمونه) بدست آمد. همچنین نتیجه فعالیت آزمون بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH فعالیت آنتی اکسیدانی بالای عصاره متانولی در مقایسه با پالپ خرما را نشان داد. آزمون‌های میکروبی نیز اثرات ضد قارچی عصاره متانولی پالپ خرما بر روی کپک *آسپرژیلوس نایجر* را نشان داد. در مطالعه‌ای توسط آبس و همکاران [۱۰] محتوای ترکیبات فنلی کل شیر خرمای بین ۳۶۸ تا ۵۲۹ میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم گزارش شد. آنها نشان دادند طی مراحل مختلف فرآوری میزان ترکیبات پلی فنولی در شیر کاهش می‌یابد که دلیل آن به حضور آنزیم‌های پلی فنل اکسیداز درون خرما و همچنین اکسیداسیون برخی ترکیبات فنلی توسط آنزیم‌های هیدرولیتیک نسبت داده می‌شود. علاوه بر آن آنزیم‌های میکروبی نیز قابلیت تجزیه ترکیبات پلی فنولی را دارند به طوری که سان و همکاران

مورد بررسی قرار گرفته و با شیره سنتی موجود در بازار محلی مقایسه شد.

۲-مواد و روش

۲-۱-مواد

معرف‌های فولین سیوکالتو و ۲ و ۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل^۱ به ترتیب از شرکت‌های مرک و سیگما آلدریچ خریداری شدند. تمام محیط‌های کشت مورد استفاده از شرکت مرک کشور آلمان تهیه شد. سایر مواد مورد استفاده مانند کربنات سدیم، مونوپتاسیم فسفات غیره در گرید آزمایشگاهی از شرکت‌های معتبر تهیه شدند. شیره سنتی خرما از بازار محلی تهیه شده و به منظور مقایسه با نمونه صنعتی مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲-روش تهیه ی شیره ی خرما

برای تهیه شیره خرما از خرما ی صنعتی درجه ۳ کبکاب استان‌های خوزستان و بوشهر استفاده شده و خرما ی مورد استفاده در کارخانه شرکت شیرین توشه بهاران (شهرک صنعتی بهاران، همدان، ایران) توسط استاندارد ملی شماره ۸۰۳ [۱۸] با اندازه گیری محتوای رطوبت، مواد جامد کل، pH، اسیدیته، قند کل و احیاء و خاکستر مورد کنترل کیفیت قرار گرفت. خرما به منظور کاهش بار میکروبی در ابتدا توسط آب شسته شده و سپس توسط بخار استریل شد. پس از آن خرما با ۳ برابر وزن خود آب در داخل مخازن جوشانده شده و عمل همزدن به منظور تسهیل خروج قند از میوه و تسریع عمل دیفوزیون (شربت گیری) انجام شد (شربت ۱). سپس کلاهدک و هسته توسط پالپر جدا شده و پالپ حاصل توسط فیلتر پارچه‌ای صاف شده و عصاره بدست آمده که در این مرحله شربت ۲ نامیده شده و دارای ماده جامد کل ۱۴-۱۳ درجه بریکس می‌باشد به فیلتر پرس هدایت شده و صاف شد (شربت ۳). در نهایت شربت ۳ در

کیک فراسودمند حاوی شیره خرما و اینولین را بررسی نمودند. نتایج بدست آمده جایگزینی شکر تا ۱۹٪ با شیره خرما را مناسب نشان داد. افزایش زمینه مصرف خرما و تولید محصولات ارزشمند از خرماهای با کیفیت پائین، نقش زیادی در افزایش ارزش افزوده محصولات کشاورزی دارد. قسمت اعظم فرآورده‌های حاصل از خرما مانند شیره خرما به صورت سنتی تهیه می‌شود که محصول تولیدی اغلب مغایر با استاندارد می‌باشد. به عنوان مثال در پژوهشی میزان املاح معدنی موجود در ۱۱ نمونه شیره انگور مربوط به مناطق مختلف خراسان مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به اینکه به منظور شفاف سازی فرآورده شیره انگور از خاک رس استفاده می‌شود، نمونه‌های مورد بررسی مقدار بیش از حد مجاز نیکل، کادمیوم و کبالت را نشان دادند. همچنین عدم شستشوی مطلوب انگور، استفاده بی رویه از خاک و عدم استفاده از روش‌های تصفیه مناسب منجر به کاهش کیفیت محصول نهایی شد [۱۷]. با توجه به موارد ذکر شده و از آنجایی که پژوهش‌های بسیار محدودی در بررسی کیفیت و ویژگی‌های فرآورده‌های جانبی حاصل از خرما در کشور صورت گرفته است و با توجه به اهمیت استفاده از این ماده مغذی ارزشمند در تولید محصولات با کیفیت به عنوان جایگزین مناسبی برای شیرین کننده‌های حاوی ساکارز با قیمت پائین، ضروری است پژوهش‌های بیشتری بر روی شیره خرما صورت پذیرد. بنابراین در این پژوهش از خرما ی درجه ۳ در تهیه شیره خرما استفاده شد و ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی خرما، شربت و شیره خرما ی صنعتی در مراحل مختلف خط تولید شیره خرما

اوپراتور تحت خلا تا رسیدن به ماده جامد کل ۷۲ درجه بریکس تغلیظ شد (شیره خرما). مراحل تولید در شکل ۱ نشان داده شده است.

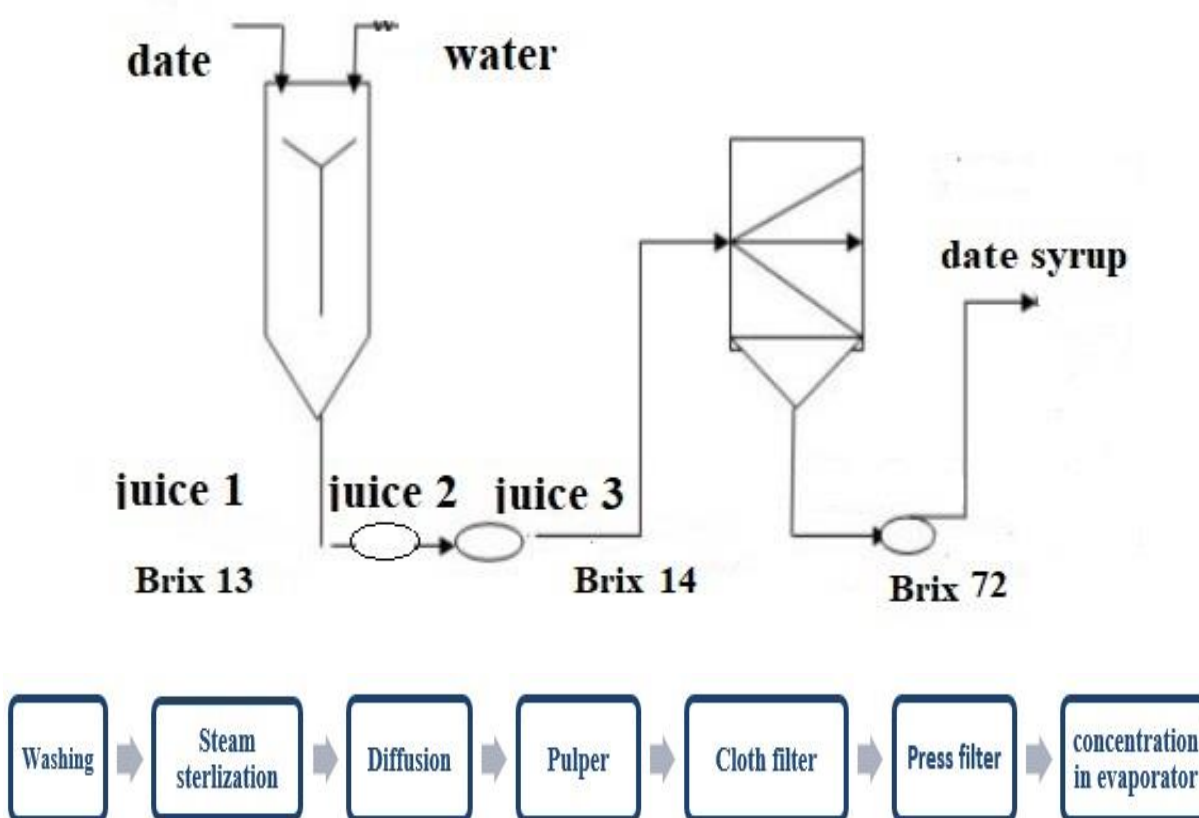


Fig 1 Flow diagram of date syrup production in the factor

۲-۳- نمونه برداری

اندازه گیری pH توسط pH متر مدل Selecta lab در دمای ۲۰°C و مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۵۰۷۵ [۲۰] صورت گرفت.

نمونه برداری از خرما، شربت های ۱، ۲ و ۳ و شیر خرمای انجام شد.

۲-۴-آزمون ها

۲-۴-۶- اندازه گیری اسیدیته

اندازه گیری اسیدیته بر حسب اسید مالیک مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۵۰۷۵ [۲۰] انجام شد.

۲-۴-۱- اندازه گیری خاکستر

اندازه گیری خاکستر بر اساس استاندارد AOAC [۱۹] صورت پذیرفت.

۲-۴-۲- تعیین درصد قند

اندازه گیری درصد قند کل و قند احیاء کننده طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۵۰۷۵ [۲۰] انجام شده و نتایج بر اساس درصد گزارش شد.

۲-۴-۲- اندازه گیری پروتئین

اندازه گیری پروتئین توسط روش میکروکجالدال بر اساس استاندارد AOAC [۱۹] صورت پذیرفت.

۲-۴-۸- اندازه گیری ترکیبات پلی فنولی

محتوای ترکیبات پلی فنلی شیر خرمای توسط روش فولین سیوکالتو صورت پذیرفت. برای این منظور در ابتدا ۰/۵ میلی لیتر شیر خرمای با ۱۲/۵ میلی لیتر آب رقیق شد. سپس ۰/۲ میلی لیتر از شیر خرمای رقیق شده با ۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتو ۱۰٪ حجمی/حجمی مخلوط شد و به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از آن ۰/۸ میلی لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ وزنی/حجمی به مخلوط اضافه و در تاریکی به مدت ۱ ساعت نگهداری شد. در ادامه جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۲۵ نانومتر اندازه گیری شد. برای محاسبه مقدار ترکیبات فنولی بر حسب میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم نمونه از منحنی استاندارد ترسیم شده در غلظت های ۰ تا ۲۰۰ ppm استفاده شد [۲۱].

۲-۴-۳- اندازه گیری مواد جامد محلول کل

میزان ماده جامد محلول کل نمونه ها بر اساس استاندارد AOAC [۱۹] با استفاده از رفاکتومتر رومیزی Atago ژاپن مدل Master-4α در دمای ۲۰°C اندازه گیری شد.

۲-۴-۴- اندازه گیری رطوبت

اندازه گیری رطوبت بر اساس استاندارد AOAC [۱۹] صورت پذیرفت. برای این منظور مقدار ۲ گرم از نمونه داخل پتری دیش توزین شده و تا رسیدن به وزن ثابت داخل آون با دمای ۱۰۵°C قرار داده شد. درصد رطوبت از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\text{رطوبت (\%)} = \frac{\text{وزن نمونه خشک شده} - \text{وزن نمونه اولیه}}{\text{وزن ظرف خالی} - \text{وزن نمونه اولیه}} \times 100$$

رابطه ۱:

۲-۴-۹- فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی توسط روش به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH صورت پذیرفت. برای این منظور میزان ۰/۱ میلی لیتر از نمونه رقیق شده (۲:۱) با ۳/۹ میلی لیتر از

۲-۴-۵- اندازه گیری pH

معرف DPPH (محلول ۰/۱ میلی مولار) مخلوط شد. سپس نمونه به مدت ۱ ساعت در تاریکی قرار داده شد و جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نمونه شاهد با اضافه کردن متانول به جای شیر و مشابه نمونه اصلی تهیه شد. درصد فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد [۹].
رابطه ۲:

$$\text{فعالیت آنتی اکسیدانی (\%)} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

۱۰-۴-۲- آزمون‌های میکروبی

برای نمونه برداری میکروبی، نمونه گیری از خرمای اولیه موجود در خط تولید به روش تصادفی صورت پذیرفت. سایر نمونه‌ها شامل شربت ۱، شربت ۲، شربت ۳ و شیر پخت شده تا زمان انجام آزمون میکروبی در داخل ظروف شیشه‌ای استریل قرار داده شده و در یخچال نگهداری شد. برای آماده سازی نمونه‌ها قبل از آزمایش، در شرایط استریل ۱۰ میلی لیتر از هر نمونه با ۹۰ میلی لیتر بافر نمکی (مونوپتاسیم فسفات) استریل مخلوط شده و رقت‌های مختلف تا ۱۰^{-۳} تهیه و برای آنالیزهای میکروبی استفاده شد. با استناد به استاندارد ملی ایران برای شیر خرمای به شماره ۵۰۷۵ [۲۰] و روش‌های آزمون آن و با توجه اسیدیته نمونه‌های شیر که شرایط ویژه‌ای از نظر فعالیت‌های میکروبی فراهم می‌سازند، از محیط کشت‌های مختلفی استفاده شد. جدول ۱ فاکتورهای مورد آزمون میکروبی در استاندارد خرمای، شربت و شیر خرمای را نشان می‌دهد. ضمن شمارش کلی، شناسایی جنس میکروارگانیسم‌های غالب در هر مرحله تولید از جمله باکتری‌های اسپورزا، کپک‌ها و مخمرها صورت پذیرفت. محیط کشت پلیت کانت آگار^۱ (PCA) برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در شرایط هوازی در دمای ۳۰°C مورد استفاده قرار گرفت.

1- Plate Count Agar

محیط کشت دی کلران ۱۸٪ گلیسرول آگار^۲ (DG18) برای جدا کردن و شمارش کپک‌ها و مخمرهای اسموفیلیک در دمای ۲۵°C مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت اورنج سرم آگار^۳ (OSA)، جهت تشخیص باکتری‌ها اسیدوفیل مزوفیل در دمای ۳۰°C تا ۳۵°C و برای شناسایی باسیل‌های گرم منفی از خانواده /نتروباکتریاسه (کلی فرم) در دمای ۳۰°C تا ۳۷°C از محیط کشت ویولت رد بایل سالت آگار (VRBL)^۴ استفاده شده و در صورت رشد کلنی از آزمون تاییدی با تخمیر لاکتوز و تولید گاز در محیط کشت برلیانت گرین لاکتوز بایل برات^۵ (BGB) استفاده شد. برای بررسی نوع باکتری جدا شده از نمونه‌ها از دستورالعمل موجود در پیوست ۱ در طی چندین مرحله با استفاده از تست‌های کاتالاز^۶ (استفاده از محلول پراکسید هیدروژن ۳٪)، آزمون Voges-Proskauer (VP) توسط محیط کشت متیل رد ووگس پروسکر برات^۷ (MR-VP Broth) در دمای ۳۷°C و رشد در شرایط بی هوازی، رشد در دمای ۵۰°C و رشد در محیط کشت پایه حاوی ۷٪ نمک (نوترینت آگار^۸ + NaCl ۷٪) مورد آزمون قرار گرفت [۲۲].

Table 1 Microbial test factors in date, date syrup and date juice standards

	Control limit (CFU/g)	Test method
Total mesophilic bacteria	5×10^2	ISIRI 5272-1 [23]
Yeast and molds	$10 <$	ISIRI 10899-2 [24]
Acidophilic bacteria	Negative	ISIRI 2326 [25]
Coliforms	Negative	ISIRI 9263 [26]

2- Dichloran 18% mass fraction glycerol agar

3- Orange serum agar

4-Crystal violet neutral red bile lactose agar (VRBL)

5- Brilliant green lactose bile broth

6- Catalase test

7- Methyl Red - Voges Proskauer Broth

8- Nutrient agar

۵-۲- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش از طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل استفاده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شدند. به منظور تجزیه واریانس نتایج و مقایسه میانگین‌ها از نرم افزار SPSS 16 استفاده شد. میانگین‌ها در سطح آماری ۵٪ مورد مقایسه قرار گرفتند.

۲-۳- بررسی ویژگی‌های شیمیایی حین خط تولید

۱-۲-۳- pH و اسیدیت

نتایج pH و اسیدیت نمونه‌های خرما، شربت‌های ۱، ۲ و ۳، شیر تولیدی کارخانه و شیر سنتی تهیه شده از بازار در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان pH خرما ۵/۵۸ بود که پس از تهیه شربت به ۶/۰۳ افزایش یافت که علت آن مربوط به رقیق شدن نمونه خرما با آب و نزدیک شدن pH آن به pH خنثی می‌باشد. هر چند پس از این مرحله طی مراحل مختلف فرآوری شیر خرما pH کاهش و اسیدیت افزایش می‌یابد. به طوری که شیر خرما به طور معنی داری در سطح احتمال ۵٪ دارای pH کمتری نسبت به خرما و شربت ۱ می‌باشد. این امر احتمالاً مربوط به افزایش غلظت شیر با حذف آب طی مرحله تغلیظ شربت در اواپراتور و همچنین جداسازی مواد معلق موجود در پالپ خرما شامل پکتین، نشاسته و سلولز حین عملیات شفاف سازی می‌باشد که در نتیجه جداسازی این ترکیبات، pH کاهش و اسیدیت افزایش می‌یابد. همچنین حذف پروتئین‌ها در مرحله شفاف سازی شربت به دلیل دارا بودن گروه‌های آمینی با pH قلیایی موجب کاهش pH شربت در مرحله شفاف سازی پس از حذف ترکیبات پروتئینی می‌شود. مقایسه شیر تولیدی کارخانه با شیر سنتی، pH بالاتری برای شیر سنتی نشان داد که دلیل آن احتمالاً مربوط به استفاده از خاک شیر به منظور شفاف سازی شربت در تولید شیر سنتی و وجود ترکیبات قلیایی در آن می‌باشد.

۳- نتایج و بحث

۱-۳- ترکیبات شیمیایی

میزان ترکیبات شیمیایی خرما و شیر خرما در جدول ۲ درج شده است. مقادیر پروتئین، خاکستر، قند کل و قند احیاء کننده در خرما به ترتیب ۱/۸۶، ۲/۱۲، ۵۵/۵۴، ۵۰/۶۲٪ و در شیر خرما به ترتیب ۰/۹۵، ۱/۷۵، ۷۰/۰۱، ۶۶/۸۶٪ می‌باشد که با مطالعه ال هوتی و همکاران [۲۷] مطابقت دارد. بر اساس نتایج بدست آمده قندهای احیاء کننده ترکیب اصلی شیر خرما را تشکیل می‌دهند. فروکتوز و گلوکز بخش اصلی قندهای سازنده شیر را تشکیل می‌دهند و ساکارز درصد کمی از قند شیر را به خود اختصاص می‌دهد. قندهای احیاء کننده در مقایسه با ساکارز اثرات تغذیه‌ای بالایی داشته و به دلیل حلالیت بالاتر نسبت به ساکارز شیرین‌تر بوده و احتمال کریستالیزاسیون شیر را کاهش می‌دهند [۲۸]. میزان پروتئین در خرما بالاتر از شیر است که دلیل آن مربوط به حذف ناخالصی‌ها از جمله ترکیبات پروتئینی در مرحله شفاف سازی شربت توسط فیلتر می‌باشد. اگرچه خرما منبع غنی از پروتئین نمی‌باشد ولی مطالعات نشان داده اند که خرما حاوی میزان بالایی از اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد [۲۷]. همانطور که مشاهده می‌شود pH شیر در محدوده اسیدی قرار دارد که مربوط به حضور اسیدهای قابل تیتر در آن می‌باشد [۲۹]. همچنین شیر در مقایسه با خرما pH کمتری دارد که علت آن مربوط

Fig 2 pH (A) and acidity (B) in different stages of date syrup production (different letters indicate significant differences ($P < 0.05$))

۲-۲-۳- مواد جامد محلول

تغییرات مواد جامد محلول نمونه‌های خرما، شربت‌های ۱، ۲ و ۳، شیر تولیدی کارخانه و شیر سنتی تهیه شده از بازار در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود میزان مواد جامد محلول خرما ۵۲/۵۶ درجه بریکس می‌باشد که پس از رقیق شدن با آب و تهیه شربت کاهش یافته و پس از آن طی مراحل فیلتراسیون به تدریج افزایش می‌یابد. به طوری که میزان مواد جامد محلول شربت ۱ قبل از فیلتر پارچه‌ای ۱۳/۲۵ درجه بریکس می‌باشد که با عبور از فیلتر پارچه‌ای (شربت ۲) و فیلتر پرس (شربت ۳) به ترتیب به ۱۳/۸۷ و ۱۴/۲۵ درجه بریکس افزایش می‌یابد. شیر تهیه شده به طور معنی داری در سطح احتمال ۵٪ بیشترین میزان مواد جامد محلول (۷۲/۳۳ درجه بریکس) را نشان داد که علت آن مربوط به تبخیر آب در نتیجه تغلیظ شربت در اواپراتور و افزایش محتوای مواد جامد محلول در شیر می‌باشد. میزان مواد جامد محلول شیر سنتی ۷۱ درجه بریکس می‌باشد که از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ تفاوتی با شیر تولیدی صنعتی نداشت.

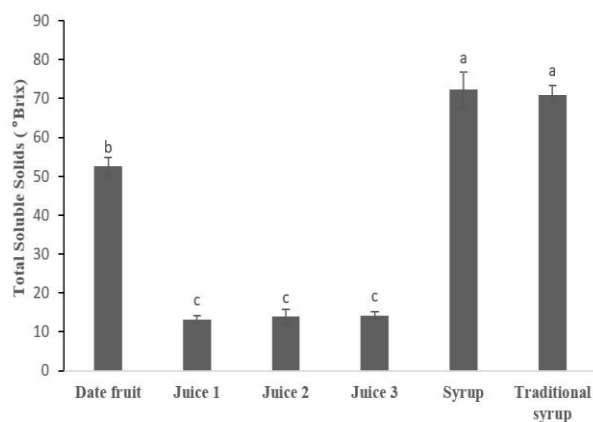
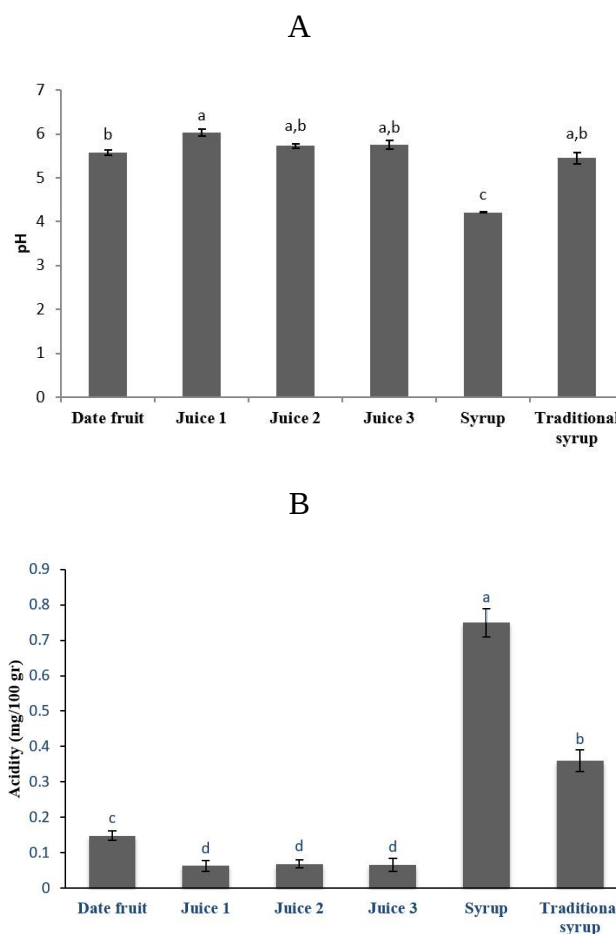
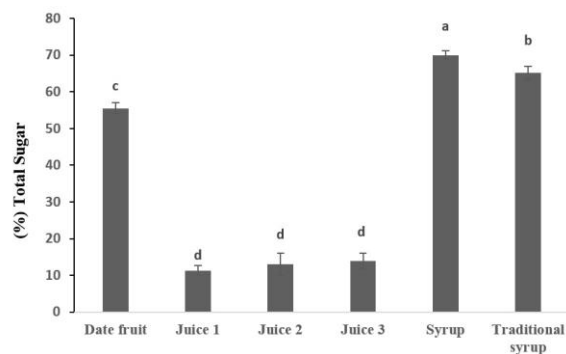


Fig 3 Total soluble solids in different stages of date syrup production (different letters indicate significant differences ($P < 0.05$)).

تغییرات اسیدیته نمونه‌های مختلف در طی مراحل مختلف تولید با تغییرات pH مطابقت دارد. به طوری که نمونه‌های شربت در مقایسه با خرما اسیدیته کمتری را نشان دادند که دلیل آن مربوط به رقیق شدن نمونه خرما پس از تهیه شربت می‌باشد. شیر بیشترین میزان اسیدیته در میان سایر نمونه‌ها را نشان داد که این نتیجه با مشاهده کمترین pH برای نمونه شیر مطابقت دارد. مقایسه شیر تولیدی کارخانه با شیر سنتی اختلاف زیادی بین اسیدیته را نشان می‌دهد که دلیل آن همانطور که عنوان شد مربوط به استفاده از خاک شیر به منظور شفاف سازی شیر سنتی و در مقابل حذف ترکیبات پروتئینی از شیر صنعتی طی مراحل فیلتراسیون می‌باشد که در نتیجه باعث کاهش pH شیر صنعتی در مقایسه با شیر سنتی می‌شود.





B

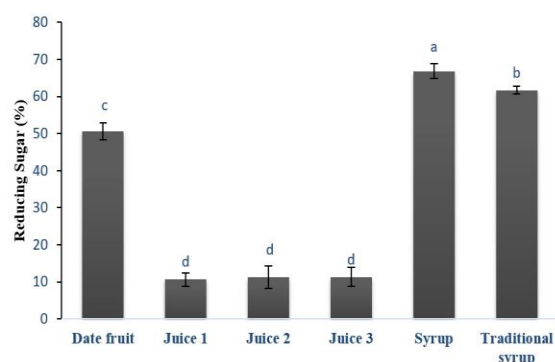


Fig 4 Total sugar (A) and reducing sugar (B) content in different stages of date syrup production (different letters indicate significant differences ($P < 0.05$))

۳-۲-۴- ترکیبات پلی فنولی

میزان ترکیبات پلی فنولی مربوط به نمونه‌های خرما، شربت-های ۱، ۲ و ۳، شیر تولیدی کارخانه و شیر سستی تهیه شده از بازار در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی در خرما به طور معنی داری بالاتر از همه نمونه‌ها می‌باشد (۳۸۸ میلی گرم اسید گالیک بر ۱۰۰ گرم نمونه). پس از تهیه شربت ۱ و به دلیل رقیق شدن نمونه، محتوای ترکیبات پلی فنولی به طور معنی داری در سطح احتمال ۵٪ کاهش یافت (۹۷ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه). همچنین طی مراحل تصفیه و شفاف سازی شربت محتوای ترکیبات فنولی کاهش بیشتری نشان داد (به ترتیب ۷۶ و ۸۲ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه در نمونه‌های

۳-۲-۳- قند کل و قند احیاء کننده

خرما به دلیل دارا بودن قندهای احیاء کننده بالا مانند گلوکز و فروکتوز و درصد پائین ساکارز محصولی با ارزش تلقی می‌شود. فروکتوز برای جذب نیازی به انسولین ندارد و از این رو قندی مناسب برای فرمولاسیون غذای افراد مبتلا به دیابت تلقی می‌شود. همچنین بالا بودن درصد قندهای احیاء کننده به ویژه فروکتوز در خرما در مقایسه با ساکارز به دلیل حلالیت بالای آن، میزان کریستالیزاسیون شیر در طول دوره نگهداری را کاهش می‌دهد. میزان قند کل و قند احیاء کننده نمونه‌های خرما، شربت‌های ۱، ۲ و ۳، شیر تولیدی کارخانه و شیر سستی تهیه شده از بازار در شکل ۴ نشان داده شده است. با بررسی میزان قند کل و قند احیاء کننده موجود در نمونه‌های مختلف خط تولید می‌توان دریافت که میزان قند شیر به طور معنی داری ($P < 0.05$) بالاتر از خرما و شربت حاصل از آن می‌باشد. دلیل این امر را می‌توان به جداسازی ناخالصی‌های موجود در گوشت میوه نسبت داد که با کاهش این ترکیبات مقدار ماده جامد محلول و در نتیجه قند در محصول طی مراحل مختلف خالص سازی افزایش می‌یابد. با مقایسه میزان قند نمونه‌های شربت می‌توان دریافت میزان قند طی مراحل مختلف خالص سازی شربت افزایش می‌یابد هرچند این افزایش معنی دار نمی‌باشد ($P > 0.05$). طی تغلیظ شربت در اواپراتور با حذف آب مقدار قند کل و قند احیاء کننده به ترتیب به ۷۰/۳۴٪ و ۶۶/۸۶٪ افزایش می‌یابد. همانطور که گفته شد طی مراحل مختلف خالص سازی با حذف ترکیبات سلولزی و پکتین خلوص شربت افزایش می‌یابد که این موضوع با مشاهده ماده جامد کل نمونه‌های مختلف شربت به سادگی قابل مشاهده می‌باشد. نمونه شیر خرما سستی میزان قند کل (۶۵/۲۳٪) و احیاء کننده کمتری (۶۱/۷۲٪) نسبت به شیر کارخانه دارد هر چند این تفاوت در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نمی‌باشد.

A

از ۱۵/۷۳ تا ۵۴/۶۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وزن مرطوب در چند واریته خرمای متغیر است. واریته‌های خرمای بالاترین محتوای ترکیبات پلی فنولیک دارای بالاترین فعالیت ضد رادیکالی بودند. طالب و همکاران [۳۲] برای اولین بار نشان دادند شیر خرمای و ترکیبات فنولی آن دارای فعالیت ضد میکروبی بر روی باکتری‌های /ستافیلوکوکوس اورئوس و /شرشیا کلی می‌باشند که دلیل آن به تولید پراکسید هیدروژن نسبت داده می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر مهدی و همکاران [۲۹] محتوای ترکیبات فنولی کل در واریته‌های مختلف خرمای را بین ۵۸ تا ۱۴۳ میلی گرم بر گرم نمونه گزارش نمودند. دلیل تفاوت در مقادیر بدست آمده در این مطالعه با مطالعات دیگر به تفاوت واریته‌های خرمای، میزان رسیدگی میوه، شرایط آب هوایی منطقه کشت، شرایط نگهداری خرمای و غیره بستگی دارد. ساختار ترکیبات فنولی تحت تاثیر شرایط فرایند قرار می‌گیرد. به منظور حفظ یا بهبود فعالیت اولیه خرمای هنگام تهیه شیر خرمای ضروری است که اثر مراحل آماده سازی روی ترکیبات عملگرایی شیرمانند ترکیبات فنولیک و کاروتنوئیدها مشخص شود. به این منظور محتوای ترکیبات پلی فنولی در مراحل مختلف خط تولید شیر خرمای مورد بررسی قرار گرفت.

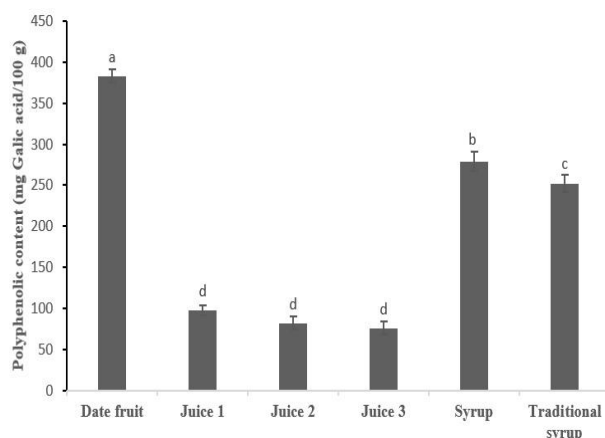


Fig 5 The content of phenolic compounds in different stages of date syrup production (different letters indicate significant differences ($P < 0.05$))

شربت ۲ و ۳) هر چند این کاهش در سطح احتمال ۵٪ معنی دار نبود. علت کاهش محتوای ترکیبات فنولی طی مراحل شفاف سازی شربت به فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز و اکسیداسیون ترکیبات پلی فنولی توسط آن نسبت داده می‌شود. این نتایج با مطالعه آبس و همکاران [۱۰] مطابقت دارد. پس از تغلیظ شربت و تولید شیر خرمای ترکیبات پلی فنولی به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافت (۲۷۹ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه) که علت آن به تغلیظ شربت در اواپراتور نسبت داده می‌شود. مقایسه شیر تولیدی با شیر سنتی (۲۵۲ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم نمونه) محتوای کمتر ترکیبات پلی فنولی در نمونه سنتی را نشان داد ($P < 0.05$) که دلیل آن به تیمار حرارتی شدید در نمونه‌های سنتی و تخریب ساختار ترکیبات پلی فنولی طی تیمار حرارتی نسبت داده می‌شود. شیر خرمای غذایی مقوی با انرژی بالا و غنی از کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی و همچنین ترکیب پیچیده‌ای از ساکاریدها، آمینو اسیدها، پلی فنول‌ها و کاروتنوئیدها می‌باشد. در کنار ترکیبات مغذی شیر خرمای غنی از آنتی اکسیدان‌ها می‌باشد. ترکیبات مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی شامل فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، اسید آسکوربیک و کاروتنوئیدها می‌باشند [۱۰]. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک مانند اسید سینامیک و مشتقات آن مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی میوه خرمای می‌باشند. اسید سینامیک به راحتی قادر به از دست دادن هیدروژن بوده و برای رسیدن به پایداری رزونانسی رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند. بر اساس مطالعه آبس و همکاران [۱۰] کاتکین، اسید وانیلیک، اسید کافئیک، اسید سینرژیک، پ کوماریک اسید، اسید فرولیک و اسید سینامیک از ترکیبات فنولی مشتق شده از شیر خرمای می‌باشند. در این میان پ کوماریک اسید ترکیب غالب شیر خرمای شناخته شد. چایرا و همکاران [۳۱] میزان ترکیبات اسید فنولیک، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی خرمای را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند محتوای ترکیبات پلی فنولی

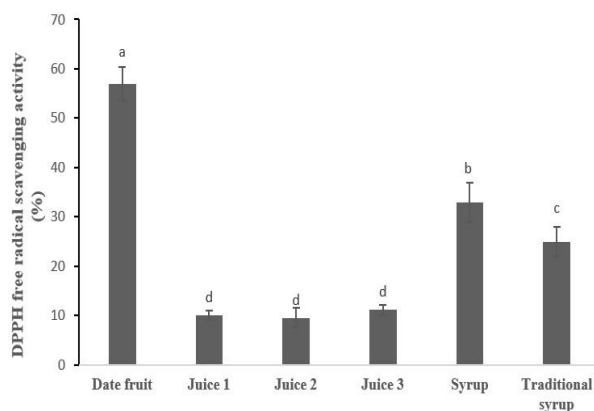


Fig 6 DPPH free radical scavenging activity (antioxidant activity) in different stages of date syrup production (different letters indicate significant differences ($P < 0.05$))

۵-۲-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی

فرآورده‌های جانبی خرما منبع مناسبی از ترکیبات آنتی اکسیدانی بوده و می‌توانند به عنوان جزء افزودنی در فرمولاسیون غذاهای عملگرا مورد استفاده قرار گیرند. نتایج آزمون بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های مختلف در طول خط تولید با آزمون به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH در شکل ۶ نشان داده شده است. همانطور که ملاحظه می‌شود خرما به طور معنی داری ($P < 0.05$) دارای بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۵۷٪) در میان سایر نمونه‌ها می‌باشد. پس از تهیه شربت و رقیق سازی خرما میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به طور معنی داری کاهش ($P < 0.05$) و مجدداً با تغلیظ نمونه در اواپراتور به ۳۳٪ افزایش یافت. شیره سنتی فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری ($P < 0.05$) در مقایسه با شیره تولیدی کارخانه نشان داد (۲۵٪) که علت آن به فرآیند شدید حرارتی طی فرآیند تغلیظ شربت در این نمونه نسبت داده می‌شود. نتایج این آزمون با نتایج محتوای ترکیبات پلی فنولی مطابقت دارد. به طور کلی مطالعات نشان داده‌اند که همبستگی زیادی بین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای پلی فنولی وجود دارد. ترکیبات فنولیک زیادی مانند پلی فنل‌ها و فلاونوئیدها به دلیل فعالیت کاهندگی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند. این ترکیبات به دلیل خاصیت به دام اندازی رادیکال‌های آزاد اثرات مثبتی در ویژگی‌های فرآورده تولیدی داشته و از این رو شیره خرما را به عنوان محصول غذایی عملگرا معرفی می‌نمایند [۳۲].

۳-۳- ویژگی‌های میکروبی

۱-۳-۳- شمارش میکروبی

به منظور بررسی اثر مراحل فرآیند بر روی ویژگی‌های میکروبی شیره خرما، نمونه برداری از مراحل مختلف خط تولید صورت گرفت و نتایج آزمون‌های میکروبی در شکل ۷ نشان داده شده است. در مراحل تهیه شیره خرما، همانطور که مشاهده می‌شود با تولید شربت ۱ از خرما، بار میکروبی کاهش می‌یابد. طی مراحل مختلف خالص سازی شربت و با عبور شربت از فیلتر پارچه‌ای بار میکروبی کاهش بیشتری می‌یابد (شربت ۲). هرچند، افزایش چشم گیری در بار میکروبی پس از عبور شربت از فیلتر پرس (شربت ۳) مشاهده می‌شود که دلیل آن احتمالاً مربوط به عدم شستشوی روزانه پارچه‌های فیلتر پرس بوده که در نتیجه آن شرایط برای رشد انواع میکروارگانیسم‌ها به ویژه مخمر فراهم شده و با عبور شربت از این قسمت بار میکروبی افزایش قابل توجهی نشان می‌دهد. در مرحله بعد پس از پخت شربت در اواپراتور بار میکروبی مجدداً کاهش یافته که دلیل آن احتمالاً مربوط به تغلیظ شربت در اواپراتور تحت خلا و نامناسب شدن شرایط برای رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. همچنین میزان فراوانی

پخت شربت در حدود 100°C درجه هنگام جوشیدن و تغلیظ نسبت داده می‌شود. همچنین، باکتری‌های اسپوردار در شیر سنتی نیز مشاهده شد، هر چند میزان آن در مقایسه با شیر تولید کارخانه به طور معنی داری ($P < 0.05$) کمتر بود.

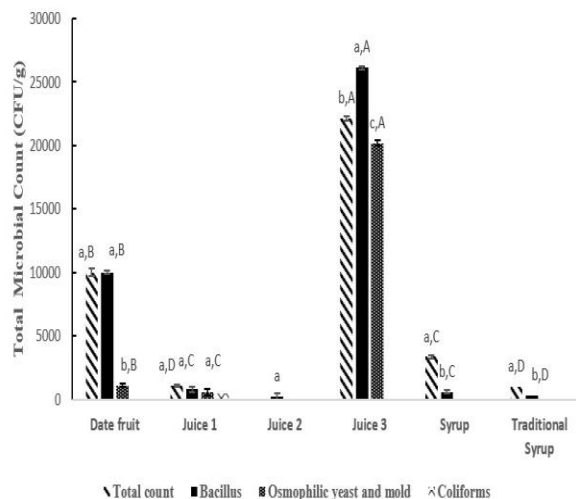


Fig 7 The abundance of each of the dominant microorganisms in different stages of date syrup production.

۲-۳-۳- بررسی مورفولوژیک نوع میکروارگانیسم‌ها

تصاویر ماکروسکوپی و میکروسکوپی مربوط به میکروارگانیسم‌های مشاهده شده در خط تولید شیر در شکل ۸ آورده شده است. کپک‌ها عموماً به جنس *آسپرژیلوس* و پنی‌سیلیوم تعلق داشتند. بررسی‌های مورفولوژیک صورت گرفته بر روی نمونه‌های کشت داده شده نشان داد که فلور میکروبی غالب در خرما احتمالاً شامل انواع کپک، مخمر و باسیلوس؛ در شربت کپک و مخمر و در شیر در اکثریت نمونه‌ها باسیلوس می‌باشد. در خرما کپک‌های *آسپرژیلوس* و پنی‌سیلیوم مشاهده شدند؛ همچنین در مواردی مخمر و باسیلوس نیز جداسازی شدند. بررسی نمونه‌های شربت طی مراحل خالص سازی نشان داد که میکروفلور غالب شربت خام قبل از فیلتر پارچه‌ای کپک می‌باشد. کپک‌های مشاهده

میکروارگانیسم‌های مختلف شامل شمارش کلی، کلی فرم، کپک و مخمرهای اسموفیل و باسیلوس در مراحل مختلف تهیه شیر در شکل ۷ نشان داده شده است. میزان باسیلوس در خرما بالا بوده که دلیل آن احتمالاً مربوط به آلودگی نمونه با خاک می‌باشد. قبل از تهیه شربت به دلیل شستشوی خرما با آب و پس از آن با رقیق شدن خرما با آب و تهیه شربت ۱ بار میکروبی کاهش می‌یابد. نمونه شیر عاری از کپک و مخمر می‌باشد که دلیل آن ممکن است مربوط به از بین رفتن کپک و مخمر طی تیمار حرارتی باشد زیرا بیشتر فرم‌های رویشی کپک و مخمر در حرارت‌های کمی بالاتر از 50°C غیر فعال شده یا از بین می‌روند [۱]. این نتیجه با نتایج مطالعه مهدی و همکاران [۲۹] مطابقت دارد. هر چند شمارش کلی باکتری‌ها و باکتری‌های باسیلوس در شیر به صفر نمی‌رسد که دلیل آن احتمالاً مربوط به دمای پائین اواپراتور و ناکافی بودن فرآیند حرارتی برای نابودی کلیه میکروارگانیسم‌های اسپورزا می‌باشد. از آنجایی که اواپراتور تحت خلا می‌باشد دمای پخت در حدود 60°C بوده و بنابراین اثر معنی داری بر روی کاهش باکتری‌های اسپوردار نخواهد داشت. در نمونه شیر تهیه شده تعداد میکروارگانیسم‌های شمارش کلی، کپک و مخمر و باکتری‌های اسپوردار به ترتیب 3×10^3 ، 0 و 6×10^2 CFU / g بود که شمارش کلی و میزان باکتری‌های اسپوردار تعداد شمارش شده بالاتر از حدود تعیین شده در استاندارد ملی می‌باشد. از این رو یافتن روشی مناسب برای سالم سازی نمونه ضروری به نظر می‌رسد. در هیچ کدام از مراحل تولید شیر به جز شربت ۱ کلی فرم مشاهده نشد که علت آن مربوط به عدم استفاده از آب آلوده، عدم دخالت دست کارکنان با محصول، غلظت بالای قند و ایجاد شرایط نامساعد برای رشد کلی فرم و استفاده از حرارت در زمان تغلیظ شربت می‌باشد. در نمونه شیر سنتی همانند شیر تولیدی کارخانه کپک و مخمر و کلی فرم مشاهده نشد، در حالی که شیر سنتی به طور معنی داری بار میکروبی کمتری نسبت به شیر تولیدی نشان داد که علت آن به استفاده از دمای بالای

شده احتمالا شامل اسپرزیلوس و پنی سیلیوم می‌باشند. اسپرزیلوس‌ها غالبا قند دوست و یا حداقل قدرت تحمل قند را دارند و موجب فساد آن دسته از فرآورده‌های غذایی می‌شوند که دارای غلظت زیاد قند می‌باشند. علاوه بر این از میکروارگانیسم‌های غالب مشکل ساز در محلول‌های غلیظ قندی، مخمرهای اسموفیل هستند که در این آزمون‌ها جنس ساکارومایسس مشاهده شد. همچنین به دلیل آلودگی خرما با خاک احتمال حضور باکتری اسپوردار مانند باسیلوس‌ها و کلستریدیوم‌ها در خرما بسیار زیاد است. از میان باکتری‌های غیراسپوردار باکتری‌های لوکونوستوک و لاکتو باسیلوس‌ها موجب فساد این فرآورده می‌شوند [۳۳] که در این آزمون مشاهده نشد. احمد و رابینسون [۳۴] مشاهده نمودند که کپک اسپرزیلوس پارازیتیکوس در سطح عصاره خرما قادر به رشد بوده و بنابراین موجب سنتز آفلاتوکسین می‌شود. میزان آفلاتوکسین سنتز شده بستگی به محتوای قند (گلوکز و فروکتوز) دارد. لذا باید حین فرآوری خرما به منظور تولید شیر و محصولات مشابه آن دقت لازم صورت پذیرد زیرا خرما معمولا در شرایط گرم تولید و نگهداری شده که شرایط لازم برای رشد کپک و تولید آفلاتوکسین فراهم می‌شود.

۳-۳-۳- تست‌های بیوشیمیایی تعیین گونه باسیلوس

ابتدا باکتری‌های رشد یافته در محیط‌های PCA و OSA از نظر رنگ آمیزی گرم و اسپور مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد نمونه‌ها، باسیل گرم مثبت و اسپوردار بودند. براساس تست‌های بیوشیمیایی باکتری شاخص جدا شده از نمونه شیر خرما باسیلوس لیچنی‌فورمیس^۱ تشخیص داده شد و نتایج آن در جدول ۳ آورده شد.

1- *Bacillus Licheniformis*

Table 3 Confirmatory biochemical tests of *B. Licheniformis*

Test type	Catalase	VP	Growth in anaerobic agar	Growth at 50°C	Growth in 7% NaCl
<i>B.licheniformis</i>	+	+	+	+	+

برای سالم سازی محصول با محدودیت مواجه است، تولید محصولی سالم و با کیفیت به مشکلی جدی برای تولید کنندگان شیر مبدل شده است. بر اساس نتایج بدست آمده شیر خرمای کمترین بار میکروبی را نشان داد که بسیار پائین-تر از خرما می‌باشد. با توجه به اینکه باکتری باسیلوس بیماری را نبوده و تنها منجر به فساد فرآورده می‌شود و بر اساس کاهش قابل توجه آن در فرآیند تبدیل خرما به شیر به نظر می‌رسد تولید شیر روشی مناسب برای نگهداری خرما بوده و ضمن استفاده از خرما در تولید و فرمولاسیون غذاهای فراسودمند با استفاده از روش‌های غیر حرارتی می‌توان ماندگاری محصول را افزایش داد.

پس از عبور شربت ۱ از فیلتر پارچه‌ای و تولید شربت ۲ بار میکروبی به طور معنی داری کاهش یافت در حالی که بار میکروبی شربت ۲ پس از عبور از فیلتر پرس به طور معنی داری افزایش یافت (شربت ۳) و میکروفلور غالب در این مرحله مربوط به مخمر می‌باشد که اکثریت آنها را احتمالا مخمر ساکارومایسس تشکیل می‌دهد. همانطور که گفته شد، افزایش بار میکروبی پس از مرحله فیلتر پرس را می‌توان به آلودگی پارچه‌های فیلتر پرس به شربت شیفتهای قبل تولید و باقی ماندن مخمرها در آن نسبت داد که در نتیجه شربت وارد شده به این قسمت به مخمر آلوده شده و پس از خروج از فیلتر پرس با افزایش مخمر روبرو می‌گردد. نمونه‌های مربوط به شیر دارای مقدار قابل توجهی باسیلوس می‌باشند که بر اساس تست‌های بیوشیمیایی احتمالا این باسیلوس از نوع باسیلوس لیچنی فورمیس می‌باشد که در جدول ۳ نشان داده شده است. به طور کلی خرما و محصولات مشتق شده از آن بیشتر توسط مخمرهای اسموفیل (ساکارومایسس سرویسیه)، کپک‌های عامل فساد مانند آسپرژیلوس نایجر و باکتری‌های باسیلوس به ویژه

باسیلوس لیچنی فورمیس آلوده می‌شوند. باکتری باسیلوس لیچنی فورمیس به وفور در خاک یافت شده و در تمام نقاط بدن مانند پوست و روده قادر به تشکیل کلنی می‌باشد. هر چند این میکروارگانیسم برای انسان بیماری زا نیست ولی حضور آن در محصول موجب ترش شدن و کاهش کیفیت شیر می‌شود [۳۵]. از آنجایی که استفاده از تیمار حرارتی به دلیل تیره شدن شیر و اثرات منفی بر خواص حسی آن

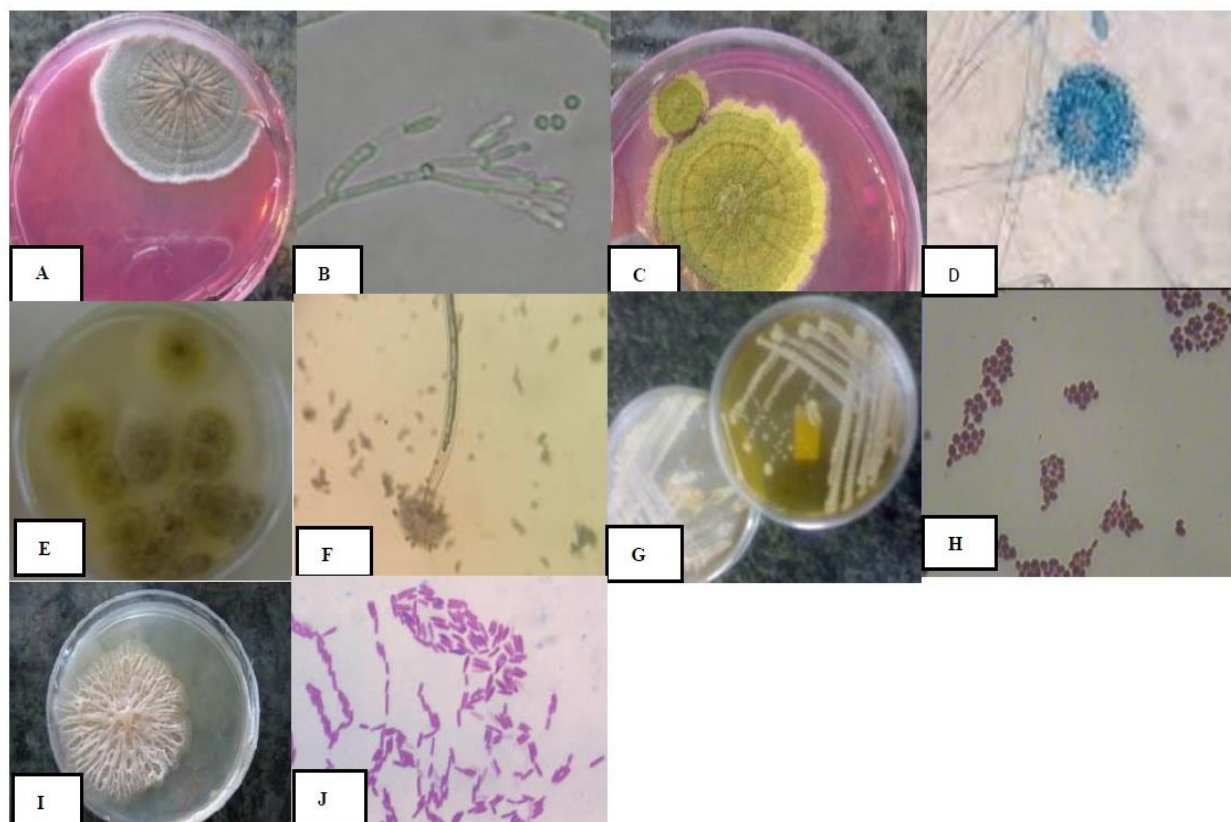


Fig 8 A: Macroscopic, and B: microscopic images of *Penicillium*, C & E: macroscopic, and D & F: microscopic images of *Aspergillus*, G subculture and H: microscopic images of *Saccharomyces*, I: macroscopic, and J: Gram stain images of *B. licheniformis*.

فنولی وابسته است. مقایسه دو نمونه شیر صنعتی با شیر سنتی محتوای بالاتر ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری برای شیر تولیدی در مقایسه شیر سنتی نشان داد که دلیل حفظ بهتر ترکیبات زیست فعال در شیر صنعتی به اعمال فرآیند حرارتی ملایم‌تر در آن نسبت داده می‌شود. نتایج آزمون میکروبی کاهش میزان بار میکروبی در مراحل مختلف تولید از ماده اولیه تا محصول نهایی را نشان داد به طوری که شیر خرما بار میکروبی بسیار کمی در مقایسه با سایر نمونه‌های خرما و شربت‌های ۱، ۲ و ۳ نشان داد. نتایج بررسی مورفولوژی نشان داد که فلور میکروبی غالب در خرما احتمالا شامل انواع کپک، مخمر و باکتری باسیلوس؛ در شربت کپک و مخمر و در شیر در اکثریت

۴- نتیجه گیری

استفاده از خرما و فرآورده‌های حاصل از آن به دلیل بالا بودن محتوای قندهای احیاء کننده و پائین بودن میزان ساکارز به جای قند به حفظ سلامت جامعه و فرمولاسیون غذاهای شیرین برای بیماران دیابتی کمک بسزایی می‌نماید. در این مطالعه ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی محصول شیر خرما از ابتدای ورود خرما در خط تولید تا تبدیل آن به شیر مورد بررسی قرار گرفت. ترکیبات پلی فنولی خرما از لحاظ ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و ضد رادیکالی بسیار فعال بوده و این ویژگی‌ها مستقیما به محتوای ترکیبات

Table S1. Simplified table of biochemical tests to identify *Bacillus* species:

Test type	Result	Test path
1 Catalase	positive	2
	negative	17
2 Voges-Proskauer	positive	3
	negative	10
3 Growth in anaerobic agar	positive	4
	negative	9
4 Growth at 50°C	positive	5
	negative	6
5 Growth in 7% NaCl	positive	<i>B. licheniformis</i>
	negative	<i>B. coagulans</i>
6 Acid and gas from glucose	positive	<i>B. polymyxa</i>
	negative	7
7 Reduction of NO ₃ to NO ₂	positive	8
	negative	<i>B. alvei</i>
8 Parasporal body in sporangium	positive	<i>B. thuringiensis</i>
	negative	<i>B. cereus</i>
9 Hydrolysis of starch	positive	<i>B. subtilis</i>
	negative	<i>B. pumilus</i>
10 Growth at 65°C	positive	<i>B. stearothersophilus</i>
	negative	11
11 Hydrolysis of starch	positive	12
	negative	15
12 Acid and gas from glucose (inorganic N)	positive	<i>B. macerans</i>
	negative	13
13 Width of rod 1.0µm or greater	positive	<i>B. megaterium</i>
	negative	14
14 pH in V-P broth <6.0	positive	<i>B. circulans</i>
	negative	<i>B. firmus</i>
15 Growth in anaerobic agar	positive	<i>B. laterosporus</i>
	negative	16
16 Acid from glucose (inorganic N)	positive	<i>B. brevis</i>
	negative	<i>B. sphaericus</i>
17 Growth at 65°C	positive	<i>B. stearothersophilus</i>
	negative	18
18 Decomposition of casein	positive	<i>B. larvae</i>
	negative	19
19 Parasporal body in sporangium	positive	<i>B. popilliae</i>
	negative	<i>B. lentimorbus</i>

نمونه‌ها باکتری باسیلوس می‌باشد. هرچند با توجه به امکان حضور باکتری‌های اسپوردار به ویژه باکتری باسیلوس لیچنی فورمیس در محصول نهایی، یافتن راهکاری مناسب برای سالم سازی محصول نهایی بدون اثر بر ویژگی‌های حسی فرآورده ضروری به نظر می‌رسد. در پایان می‌توان نتیجه گیری نمود که تولید شیر خرمای درجه ۳ راهکاری مناسب برای استفاده از خرماهای با کیفیت پائین بوده و موجب افزایش ارزش افزوده محصولات کشاورزی می‌شود. بر اساس یافته‌های بدست آمده شیر خرمای به دلیل دارا بودن محتوای قند احیاء کننده بالا نسبت به منابع دیگر شیرین‌تر بوده و ضمن قرار داشتن در محدوده قابل قبول شاخص گلاسیمیک برای فرمولاسیون غذاهای عملگرا به ویژه برای بیماران دیابتی به دلیل دارا بودن محتوای ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی و فیبر بالا گزینه مناسبی به شمار می‌رود. هر چند به منظور استفاده از آن در فرمولاسیون غذاهای فراسودمند می‌توان از سایر روش‌های سالم سازی غیر حرارتی استفاده نموده و از این طریق کمترین اثر بر خواص حسی محصول را موجب شد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از همکاری شرکت شیرین توشه بهاران (بهار، همدان) به دلیل در اختیار گذاشتن امکانات کافی برای انجام این پژوهش نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشند.

۶- پیوست

۷- منابع

- [1] Ramard Ghadiri, Gh., & Kalbasi Ashtari, A. (2012). Investigating the chemical and microbial characteristics of apple Lavashak. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 7(4), 324-329.
- [2] Vaezi zadeh, M., Ghazanfari moghadam, A., & Fooladi, M. H. (2011). An Investigation and Modeling of Sugar Reduction, Bioethanol and Carbon Dioxide Production during Fermentation of Date Fruits. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 41(2), 121-246.
- [3] FAO. 2012. Available at: <http://www.Fao.org>.
- [4] Al-Rawahi AS, Kasapis S, & Al-Bulushi I M. (2005). Development of a date confectionary: Part 1 relating formulation to instrumental texture. *International J of food properties*, 8, 457-468.
- [4] Al-Rawahi AS, Kasapis S, & Al-Bulushi I M. (2005). Development of a date confectionary: Part 1 relating formulation to instrumental texture. *International J of food properties*, 8, 457-468.
- [5] Sanchez Zapata E, Fernandez Lopez J, Penaranda M, Fuentes Zaragoza E, Sendra E, Sayas E, & Perez Alvarez J A. (2011). Technological properties of date paste obtained from date by-products and its effect on the quality of a cooked meat product. *Food Research International*, 44, 7, 2401-2407.
- [6] Abarc, M. L, Bragulat, M. R, Castella, G., & Cabanes F. J. (1994). Mycoflora and aflatoxin producing strains in animal mixed feeds. *Journal of food portection*, 57, 256-258.
- [7] Al Farsi, M. (2003). Clarification of date juice. *International Journal of Food Science*, 38, 241-245.
- [8] Tavakolipour, H., & Kalbasi Ashtari, A. (2013). Determination of rheological properties of grape molasses. *Journal of Food Science and Technology*, 40 (10), 129-137.
- [9] Noshirvani, N., Fasihi, H., Nourmohammadi, E., & Moradipayam, A. (2017). Study on the antioxidant and antifungal activities of extract and pulp of date (*Phoenix dactylifera* L.) by-products. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 12(3), 77-88.
- [10] Abbes, F., Kchaou, W., Blecker, C., Ongena, M., Lognay, G. (2013). Effect of processing conditions on phenolic compounds and antioxidant properties of date syrup. *Industrial Crops and Products*, 44. 634-642.
- [11] Sun, T., Powers, J. R., & Tang, J. (2007). Loss of rutin and antioxidant activity of asparagus juice caused by pectolytic enzyme preparation from *Aspergillus niger*. *Food Chemistry*, 105, 173-178.
- [12] Gad, A. S., Kholif, A. M., & Sayed, A. F. (2010). Evaluation of nutritional value of functional yogurt resulting from combination of date syrup and skim milk. *American Journal of Food Technology*, 5(4), 250-259.
- [13] Homayouni Rad, A., Vaghefmehrabany, L., Vaghefmehrabany, E., & Javadi, M. (2013). Glycaemic index and load of dietetic sour cherry jam prepared with date syrup in healthy persons. *Journal of Kerman University of Medical Sciences*, 20(2), 193.
- [14] Gouhari Ardebili, A., Habibi Najafi, M. B., & Hadad Khodaparast, M. (2005). Effect of date syrup as a substitute for sugar on the physicochemical and sensory properties of soft ice cream. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 1(2), 23-32.
- [15] Mesbahi Gh, Mansour H, Majzoobi M, & Farahnaky A. (2016). Effect of sucrose replacement with date syrup and date liquid sugar on rheological properties of biscuit dough. *Journal of Food Science and Technology*, 58 (13), 45-55.
- [16] Karazahyan R, Ehtiati A, Nazari Z, & Mehraban Sanghatash, M. (2021). Optimizing the formulation of functional cake with date syrup and inulin. *Journal of Food Science and Technology*, 111 (18), 147-157.
- [17] Ehteshami Moein Abadi, M. J., Khodaparast, M., & Habibi Najafi, M. B. (2003). Investigation of the level of contaminants in traditionally grape syrup. *Agriculture*, 5(1), 1-6.
- [18] Kabkab date-Specifications and test methods, Iranian National Standardization Organization. INSO 803, 4st. Edition, 2022.
- [19] AOAC. (1990). Official methods of analysis. Association of official analytical chemists, 15th ed. University of Alabama. Washington DC

- [20] Date syrup-specifications and tests methods, Iranian National Standardization Organization. INSO 5075, 1st. Edition, Nov. (2013).
- [21] Noshirvani, N., Fasihi, H., & Moradipayam, A. (2015). Study on the antioxidant effects of extract and powder of green walnut hulls on the oxidation of sunflower oil. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 10(3), 79-90.
- [22] Dworkin, M. (2006). The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria (Vol. 7). S. Falkow, E. Rosenberg, E. Stackebrandt, & K. H. Schleifer (Eds.). New York, NY: Springer.
- [23] Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique, Iranian National Standardization Organization. INSO 5272-1, 1st. Edition, (2015).
- [24] Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0.95, Iranian National Standardization Organization. ISIRI 10899-2, 1st. Edition, (2008).
- [25] Microbiology of Canned foods- Commercial sterility- Specifications and test methods, Iranian National Standardization Organization, INSO 2326, 4th. Edition, (2016).
- [26] Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony-count technique, National Standardization Organization, ISIRI 9263, 1st. Edition, (2007).
- [27] Al-Hooti, S. N., Sidhu, J. S., Al-Saqer, J. M., & Al-Othman, A. (2002). Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. *Food chemistry*, 79(2), 215-220.
- [28] Raiesi Ardali., F., Rahimi, E., Tahery, S., & Shariati, M. A. (2014). Production of a new drink by using date syrup and milk. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 4(2), 67-72.
- [29] Mahdi, Z. I., El-Sharnouby, G. A., & Sharoba, A. (2022). Physicochemical Properties and Microbiological Quality of Dates Syrup Prepared from some Egyptian and Iraqi Dates Palm (*Phoenix dactylifera* L.) Fruits. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(13), 175-184.
- [30] Farahnaky, A., Mardani, M., Mesbahi, G., Majzoobi, M., & Golmakani M. T. (2018). Some physicochemical properties of date syrup, concentrate, and liquid sugar in comparison with sucrose solutions. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18, 657-668.
- [31] Charia, N., Smaali, M. I., Martinez Tome, M., Mrabet, A., Murcia, M. A., & Ferchichi, A. (2009). Simple phenolic composition, flavonoid contents and antioxidant capacities in water-methanol extracts of Tunisian common date cultivars (*Phoenixdactylifera* L.). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, s7, 316-329.
- [32] Taleb, H., Maddocks, S. E., Morris, R. K., & Kanekanian, A. D. (2016). The antibacterial activity of date syrup polyphenols against *S. aureus* and *E. coli*. *Frontiers in microbiology*, 7, 198.
- [33] Kim, Se., & Rajapakse, N. (2005). Enzyme production and biological activities of chitosan oligosaccharides (COS): A review. *Carbohydrate Polymers Science direct*, 62, 357-368.
- [34] Ahmed, I. A., & Robinson, R. K. (1999). The ability of date extracts to support the production of aflatoxins. *Food Chemistry*, 66, 3, 307-312.
- [35] Heshmati, A., Azizi, M., Ghadimi, S. (2017). Influence of Ethanol and Methanol Extracts of Walnut Leaf and Green Hull on *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus Licheniformis* and *Aspergillus niger* in Date Syrup. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 11 (4) ,81-88.



Scientific Research

Investigating the chemical and microbial characteristics of date syrup during the production stages (from the raw material to the final product)Nooshin Noshirvani^{1*}, Atefeh Mohebbi²

1. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Tuyserkan Faculty of Engineering & Natural Resources, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
2. Lecturer, Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Hamedan, Iran

ABSTRACT

ARTICLE INFO

The purpose of this study is to investigate the chemical and microbial properties of date syrup during different stages of production line from the raw material to the final product. The amounts of total soluble solids, pH, acidity, total and reducing sugars, polyphenolic compounds, antioxidant activity and microbial count were measured and the type of microorganisms was determined based on phenotypic characteristics in different stages of production. The obtained results showed that during the stages of juice clarification and concentration, pH gradually decreased and acidity, total sugar, reducing sugar and total solid matter increased and reached their maximum in the syrup. Comparison of traditional syrup with factory produced syrup indicated more pH and acidity, total and reducing sugar, total soluble solid, polyphenolic compounds and lower antioxidant activity for traditional syrup compared to the produced one. In general, the content of polyphenolic compounds and antioxidant activity gradually decreased in different stages of production, so that date syrup (279 mg of gallic acid per 100 grams of sample and 33%) indicated higher content of polyphenolic compounds and antioxidant activity than dates (388 mg of gallic acid per 100 g of sample and 57%). The results of the microbial test revealed the lowest microbial load for the produced syrup compared to dates and different syrups. However, the presence of *B. licheniformis* in the syrup makes the product sour, in this regard finding a suitable solution to increase the shelf life of the product seems necessary. The traditional syrup showed a lower microbial load than the produced syrup, although *B. licheniformis* was observed in the traditional syrup despite the high heat treatment. Based on the obtained results, the date syrup was free of coliforms, which indicates maintaining the hygienic principles of manufacture during the production line.

Article History:

Received: 2023/2/3

Accepted: 2023/7/26

Keywords:

Dates,
Syrup,
Microbial properties,
Chemical properties

DOI: 10.22034/FSC.T.20.139.109**DOR:** 20.1001.1.20088787.1402.20.139.7.1

*Corresponding Author E-Mail:
N.noshirvani@basu.ac.ir