

## بررسی اثر کاویتاسیون حاصل از امواج فراصوت بر بار میکروبی و خصوصیات فیزیکی شیمیایی آب‌پرتقال فرآوری شده با امواج فراصوت

ساجد امجدی<sup>۱</sup>، آیناز علیزاده<sup>۲</sup>، لیلا روفه گری نژاد<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۰۴ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۵)

### چکیده

افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان به محصولات غذایی که با حداقل تغییرات در خصوصیات تغذیه‌ای و حسی، فرآوری شده‌اند، زمینه را برای بررسی روش‌های نوین فرآوری مواد غذایی فراهم کرده است. هدف از این مطالعه بررسی خصوصیات فیزیکی شیمیایی (اسیدیته قابل تیتر، pH، بریکس، درجه‌ی قهوه‌ای شدن و کدورت)، پارامترهای رنگی و بار میکروبی (تعداد میکروارگانیزم کل، کپک و مخمر) آب‌پرتقال فرآوری شده با امواج فراصوت (تحت شدت امواج ۳۷ و ۸۰ کیلوهرتز به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) است. نتایج حاصل حاکی از آن بود که فرآوری با امواج فراصوت هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی میزان اسیدیته، pH و مواد جامد محلول نمونه‌های آب‌پرتقال نداشته است ( $P > 0/05$ ). اختلاف درجه‌ی قهوه‌ای شدن و میزان کدورت بین نمونه‌های آب‌پرتقال معنی‌دار بوده ( $P < 0/05$ ) و امواج فراصوت باعث کاهش این دو پارامتر در نمونه‌های آب‌پرتقال گردید. بررسی پارامترهای رنگی نمونه‌های آب‌پرتقال نیز نشان داد که کاهش فرکانس امواج فراصوت و افزایش مدت زمان فرآوری باعث افزایش روشنائی ( $L^*$ ) و کاهش قرمزی ( $a^*$ ) نمونه‌ها شده است. همچنین فرآوری با امواج فراصوت به‌طور معنی‌داری باعث کاهش آلودگی میکروبی آب‌پرتقال گردید ( $P < 0/05$ ). با توجه به این نتایج می‌توان گفت که کاربرد امواج فراصوت در فرآوری آب‌میوه علاوه بر کاهش آلودگی میکروبی این محصول غذایی، به‌طور مؤثری باعث حفظ خصوصیات فیزیکی شیمیایی و حسی این محصول نیز می‌گردد.

**کلید واژگان:** آب‌پرتقال، امواج فراصوت، قابلیت نگهداری، قهوه‌ای شدن، کاویتاسیون

\*مسئول مکاتبات: l.roufegari@iaut.ac.ir

## ۱- مقدمه

حرارتی به میزان قابل توجهی کاهش یافته، همچنین خواص فیزیکی آن از جمله اسیدیته، pH، بریکس و رنگ در اثر انجام واکنش‌هایی نظیر قهوه‌ای شدن متحمل تغییراتی می‌شوند [۱۲ و ۱۳]. با این حال آب‌میوه‌های بدون فرآوری نیز می‌توانند دارای آلودگی میکروبی مخصوصاً ناشی از رشد کپک‌ها و مخمرها باشند که رشد این میکروارگانیسم‌ها باعث کاهش محتویات تغذیه‌ای آب‌میوه شده و منجر به ایجاد طعم و بویی نامطلوب می‌شوند [۱۴ و ۱۵].

در سال‌های اخیر در زمینه‌ی کاربرد امواج فراصوت در فرآوری آب‌میوه‌ها مطالعات متعددی انجام گرفته و این تکنولوژی را روشی مؤثر در افزایش ماندگاری میکروبی و حفظ خواص تغذیه‌ای و فیزیکی این محصولات غذایی گزارش کرده‌اند [۱۱، ۱۶-۱۹]. با توجه به اینکه اغلب در مطالعات قبلی از امواج فراصوت به‌عنوان روشی تکمیلی همراه با سایر روش‌های فراوری استفاده شده و همچنین رویکرد تأثیر به‌کارگیری این روش جدید در کاهش فعالیت میکروبی و حفظ خواص فیزیکی آب‌پرتقال کم‌تر مورد توجه قرار گرفته است، در این پژوهش، از امواج فراصوت به‌عنوان روشی مستقل و جایگزین برای روش حرارتی معمول در فرآوری آب‌پرتقال استفاده گردیده و میزان تأثیر آن بر خواص کیفی و جمعیت میکروبی آب‌پرتقال مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

پرتقال‌های واریته بیروتی از بازار محلی شهر تبریز خریداری شده و اتانول، سدیم هیدروکسید، معرف فنل فتالین (Merck، آلمان)، محیط کشت DRBC<sup>۳</sup> و محیط کشت PCA<sup>۴</sup> (Sigma-Aldrich، ایالات متحده آمریکا) تهیه گردید.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- تهیه آب‌پرتقال و تیمار آن با امواج فراصوت

پرتقال‌ها پس از خریداری، شستشو و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. سپس بعد از برش پرتقال‌ها به منظور آب‌گیری از آن‌ها از دستگاه آب‌میوه‌گیر

روش‌های فرآوری نقش مهمی در تعیین کیفیت، ایمنی و عمر ماندگاری محصولات غذایی دارند. روش‌های حرارتی از جمله روش‌های معمول فرآوری هستند که با کاهش جمعیت میکروبی و آنزیم‌ها باعث افزایش عمرماندگاری محصولات غذایی می‌شوند. ولی به‌رغم این اثرات مطلوب این روش‌ها باعث کاهش کیفیت تغذیه‌ای و حسی محصولات می‌گردند [۱ و ۲]. با توجه به افزایش علاقه مصرف‌کنندگان به مصرف محصولاتی با ارزش تغذیه‌ای بالا و ویژگی‌های حسی مناسب در سال‌های اخیر روش‌های فرآوری نوینی برای جایگزینی روش‌های حرارتی پیشنهاد شده است. از روش‌های غیرحرارتی می‌توان به اولترافیلتراسیون، میدان الکتریکی پالسی، دهیدراسیون اسمزی، اشعه و امواج فراصوت اشاره کرد [۳ و ۴]. فراصوت‌نا به تعریف به امواج صوتی با فرکانس‌های بالاتر از حد آستانه شنوایی انسان گفته می‌شود که نحوه‌ی استفاده از آن به دو صورت شدت بالا و شدت پایین می‌باشد [۵ و ۶]. دلایل استفاده از این روش، هزینه پایین موردنیاز برای راه‌اندازی، کاهش هدر رفتن انرژی و حفظ پروتئین‌ها، مواد رنگی و مواد مغذی و به‌طور کلی حفظ ارزش‌های تغذیه‌ای محصول می‌باشد، همچنین این تکنولوژی با ایجاد پدیده‌ی کاویتاسیون<sup>۱</sup> موجب پراکندگی<sup>۲</sup> ذرات و تخریب دیواره‌ی سلولی میکروارگانیسم‌ها می‌گردد؛ بنابراین می‌توان از این روش به‌عنوان تکنولوژی مکمل در فرایندهای مختلف استفاده کرد [۷، ۸ و ۹].

آب‌میوه‌ها توسط همه‌ی رده‌های سنی از کودکان تا بزرگسالان مصرف می‌شوند که با داشتن خواص تغذیه‌ای ارزشمند می‌توانند برای سلامتی انسان مفید باشند [۱۰]. آب‌پرتقال بیشترین سهم را در بازار مصرف آب‌میوه‌ها دارد که دلیل این امر نه‌تنها طعم و مزه‌ی آن، بلکه بیشتر به دلیل خواص تغذیه‌ای و درمانی این آب‌میوه هست. ارزش تغذیه‌ای آب‌پرتقال به میزان بالای ویتامین C در آن و همچنین به وجود مقادیر قابل توجه اسید فولیک، ویتامین B6، فلاونوئیدها، فیبرهای رژیم غذایی و چندین مواد معدنی مربوط می‌شود [۱۱]. با توجه به حساسیت بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به شرایط محیطی از جمله دما، محتوای ویتامین C آب‌پرتقال در طی فرایندهای

3. Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar  
4. Plate Count Agar

1. Cavitation  
2. Dispersion

## ۲-۲-۴- تعیین میزان قهوه‌ای شدن

۵ میلی‌لیتر از هر نمونه را به مدت ۲۰ دقیقه تحت سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (مدل PIT320، ساخت کشور ایران) کرده، سپس فاز رویی جدا و با ۵ میلی‌لیتر اتانول رقیق شده و مجدداً عمل سانتریفوژ کردن به مدت ۳۰ دقیقه تحت همان شرایط (۳۰۰۰ دور در دقیقه) انجام گرفت. در آخر میزان جذب فاز رویی هر نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی (مدل Ultrospec 2000 ساخت کشور انگلیس) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که این مقادیر میزان قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی آب‌پرتقال را نشان می‌دهند [۱۹].

## ۲-۲-۵- تعیین میزان کدورت

برای سنجش میزان کدورت، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر از هر نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ کردن، میزان جذب فاز رویی در طول موج ۶۶۰ نانومتر که نشان‌دهنده‌ی میزان کدورت است، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر نور مرئی قرائت شد [۱۱].

## ۲-۲-۶- تعیین پارامترهای رنگی

به منظور اندازه‌گیری پارامترهای رنگی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  نمونه‌های آب پرتقال، هر نمونه در جعبه مخصوص عکس‌برداری قرار داده شد و تصاویر با استفاده از دوربین عکاسی با زاویه ۴۵ درجه عمودی از بالای محفظه جعبه عکس‌برداری شد، تصاویر با فرمت JPG ذخیره گردیده و مراحل پردازش تصویر با نرم‌افزار فتوشاپ انجام گرفت. همچنین به منظور رسم منحنی استاندارد از کارت‌های استاندارد رنگ<sup>۵</sup> نیز با همان شرایط ذکر شده عکس‌برداری شد. همچنین  $\Delta E$  شاخص میزان تغییرات رنگ نسبت به رنگ شاهد به صورت زیر محاسبه شد [۹].

معادله (۲)

$$\Delta E = \sqrt{(L_0^* - L_i^*)^2 + (a_0^* - a_i^*)^2 + (b_0^* - b_i^*)^2}$$

## ۲-۲-۷- آنالیز میکروبی

ابتدا محیط‌های کشت DRBR (برای شمارش کپک و مخمر) و PCA (برای شمارش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها) طبق دستورالعمل مربوطه تهیه شد. روش کشت انجام‌گرفته در دو محیط کشت DRBR و PCA به صورت سطحی بود و ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه میکروبی روی سطح پلیت پخش شد. پلیت‌های محیط کشت PCA پس از کشت دادند داخل

5. RAL standard color sheets

(مدل Kenwood، ساخت کشور ژاپن) استفاده شده و آب‌پرتقال حاصل با کاغذ صافی و پمپ خلأ (مدل Millipore، ساخت کشور فرانسه) صاف گردید. آب میوه حاصل در داخل ظروف شیشه‌ای استریل در بسته به مقدار مشخص و یکسان (۱۰۰ میلی‌لیتر) ریخته شده و داخل مخزن حمام فراصوت (مدل Elma، ساخت کشور آلمان) تحت دمای یکسان قرار داده شدند. شرایط تیمار روی نمونه‌های مختلف مطابق جدول ۱ انجام گرفت.

Table 1 Processing conditions used during ultrasound treatments

Samples	Time (min)	Frequency (kHz)	Temperature (°C)
Control	-	-	-
HP	5	-	70-75
S37/5	5	37	25
S37/10	10	37	25
S37/15	15	37	25
S80/5	5	80	25
S80/10	10	80	25
S80/15	15	80	25

## ۲-۲-۲- اندازه‌گیری میزان اسیدیته

اندازه‌گیری اسیدیته در آب‌پرتقال به روش تیتراسیون توسط محلول سود ۰/۱ نرمال (NaOH) به عنوان محلول تیترانت و شناساگر فنل‌فتالین انجام شد. به طوری که ابتدا ۵ میلی‌لیتر آب‌پرتقال با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس عمل تیتراسیون توسط محلول سود تا زمانی که رنگ محلول به صورتی کم‌رنگ پایدار متمایل شود، ادامه یافت. در آخر میزان اسیدیته بر مبنای اسیدسیتریک مطابق معادله زیر محاسبه شد [۱۱].

معادله (۱)

$$\text{درصد اسیدیته قابل تیتر} = \frac{V \times N \times E \times 100}{m}$$

V: مقدار سود (۰/۱ نرمال) مصرفی، N: نرمالیه سود مصرفی، E: اکی‌والان اسیدسیتریک (۰/۰۶۷)، M: مقدار نمونه (گرم)

## ۲-۲-۳- تعیین مقدار بریکس و pH

مقدار بریکس نمونه‌ها پس از صاف کردن با کاغذ صافی، توسط دستگاه رفاکتومتر (مدل Atago، ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری و pH نمونه‌ها نیز به وسیله دستگاه pH متر (مدل Mettler Toledo، ساخت کشور سوئیس) اندازه‌گیری شد.

آب پرتقال به دلیل وجود اسیدسیتریک و اسیدآسکوربیک در ترکیب شیمیایی خود، دارای اسیددیده نسبتاً بالایی هست که این میزان اسیددیده بر ماندگاری محصول نیز تأثیر داشته و با اثر ضد میکروبی خود باعث عدم رشد میکروارگانیسم‌ها در آب پرتقال می‌گردد، به همین دلیل اسیددیده یک پارامتر مهم در تعیین روش فرآوری آب پرتقال است [۳]. با توجه به نتایج حاصل از ارزیابی میزان اسیددیده، pH و مواد جامد محلول نمونه‌های آب پرتقال که در جدول ۲ مشهود است، فرآوری با امواج فراصوت هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی میزان اسیددیده، pH و مواد جامد محلول نمونه‌های آب پرتقال نداشته است. به طوری که انرژی حاصل از امواج فراصوت، هیچ تغییری در ساختار مولکولی ترکیبات با وزن مولکولی بالا که در میزان اسیددیده، pH و بریکس محصول ایجاد نکرده است، نتایج حاصل در راستای نتایج پژوهش‌های مشابه قبلی هست، به طوری که بنا به گزارش‌های ارائه شده در این پژوهش‌ها فرآوری با امواج فراصوت هیچ تأثیر معنی‌داری بر اسیددیده، pH و بریکس آب‌انگور [۱۰]، آب‌زرشک [۲۰]، آب توت‌فرنگی [۲۱] و آب هویج [۲۲] نداشته است.

انکوباتور دردمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت نگهداری شده و پلیت‌های کپک یا مخمر (فارچ‌ها) نیز پس از کشت دادن به مدت ۷-۳ روز دردمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. بعد از اتمام زمان انکوباسیون پلیت‌های PCA، پلیت حاوی ۲۵-۲۵۰ کلنی به‌عنوان پلیت استاندارد شمارش کلی میکروارگانیسم انتخاب و شمارش گردیده ولی در پلیت‌های محیط کشت کپک مخمر، پلیت حاوی ۱۵-۱۵۰ کلنی به‌عنوان پلیت استاندارد برای شمارش انتخاب شد [۱۱، ۱۴ و ۱۵].

### ۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. تحلیل و ارزیابی (ANOVA) با استفاده از مدل خطی (G.L.M) نرم‌افزار آماری SPSS در سطح احتمال ۹۵٪ ( $P < 0.05$ ) و آزمون چند دامنه‌ای دانکن برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها انجام گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- اندازه‌گیری میزان اسیددیده، بریکس و

#### pH

Table 2 Titratable acidity, pH, and total soluble solids of orange juices

Samples	TA	pH	TSS (%Brix)
Control	0.85 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.70 ± 0.02 <sup>a</sup>	11.03 ± 0.06 <sup>a</sup>
HP	0.90 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.76 ± 0.01 <sup>a</sup>	11.10 ± 0.10 <sup>a</sup>
S37/5	0.94 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.72 ± 0.03 <sup>a</sup>	11.00 ± 0.10 <sup>a</sup>
S37/10	0.92 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.75 ± 0.02 <sup>a</sup>	11.17 ± 0.15 <sup>a</sup>
S37/15	0.93 ± 0.14 <sup>a</sup>	3.71 ± 0.01 <sup>a</sup>	11.13 ± 0.15 <sup>a</sup>
S80/5	0.89 ± 0.09 <sup>a</sup>	3.75 ± 0.01 <sup>a</sup>	11.17 ± 0.25 <sup>a</sup>
S80/10	0.89 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.72 ± 0.04 <sup>a</sup>	11.13 ± 0.15 <sup>a</sup>
S80/15	0.87 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.74 ± 0.04 <sup>a</sup>	11.13 ± 0.12 <sup>a</sup>

All of the results are presented as mean ± standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ( $p < 0.05$ ). Control (no treatment); HP (heat pasteurization); S37/5 (sonication at 37 Hz for 5 min); S37/10 (sonication at 37 Hz for 10 min); S37/15 (sonication at 37 Hz for 15 min); S80/5 (sonication at 80 Hz for 5 min); S80/10 (sonication at 80 Hz for 10 min); S80/15 (sonication at 80 Hz for 15 min). TA: titratable acidity: grams of citric acid per 100 mL of juice; TSS: total soluble solids.

قهوه‌ای شدن نمونه‌ی شاهد و نمونه‌ی S37/15 هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده و همچنین میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌های فرآوری شده با امواج فراصوت به طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌ی فرآوری شده با روش حرارتی بود. فرایند قهوه‌ای شدن آب مرکبات که اکسیداسیون ویتامین C نیز گفته می‌شود باینکه در کل یک فرایند غیر آنزیمی است، ولی

#### ۳-۲- تعیین میزان قهوه‌ای شدن

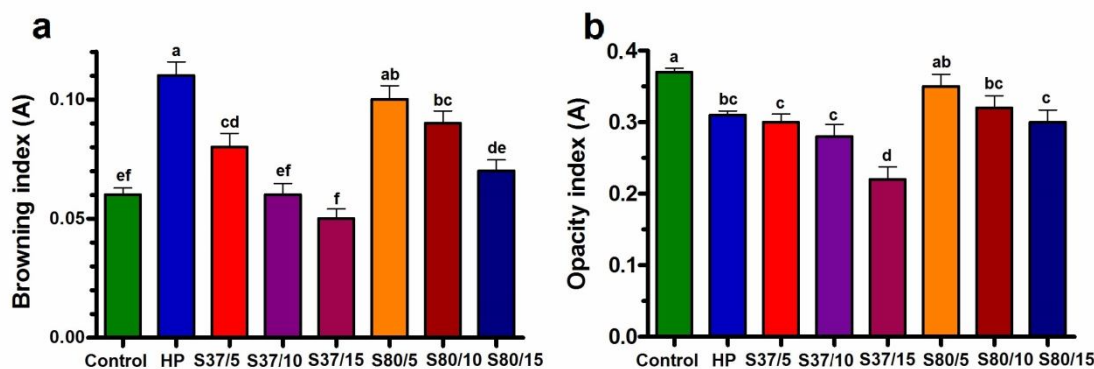
نتایج حاصل از ارزیابی میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌های آب پرتقال در نمودار a شکل ۱ قابل مشاهده است. با توجه به این نتایج میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌ها با افزایش فرکانس امواج فراصوت افزایش یافته ولی با افزایش مدت‌زمان فرآوری با امواج فراصوت کاهش یافته است. با این حال میان میزان

امواج و زمان فراصوت بر روی میزان کدورت نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری داشته است ( $p < 0.05$ ). به طوری که میزان کدورت با کاهش فرکانس امواج و افزایش مدت زمان فرآوری با امواج فراصوت کاهش یافته است. با توجه به این که علت بی‌ثباتی حالت ابری در آب مرکبات، هیدرولیز گروه‌های متیل است رازپوتین و تشکیل ژل پکتات کلسیم هست، تیمار توسط امواج فراصوت نیز می‌تواند، با غیرفعال کردن آنزیم پوتین متیل است رازو افزایش وزن مولکولی ذرات معلق که موجب رسوب آن‌ها می‌گردد، باعث کاهش میزان حالت ابری نمونه‌های آب پرتقال گردد. در پژوهش‌هایی که باهدف بررسی تأثیر فرآوری با امواج فراصوت بر خصوصیات فیزیکی شیمیایی آب‌میوه‌ها از جمله آب سیب و آب هویج انجام گرفته فرکانس امواج و مدت‌زمان فرآوری را دو عامل مؤثر بر میزان کدورت آب میوه‌ها دانسته‌اند. Jabbar و همکاران (۲۰۱۴) در گزارشی که از بررسی میزان کدورت آب هویج فرآوری شده با دو روش همزمان آنزیم‌بری و سونیکاسیون ارائه دادند، علت کاهش کدورت نمونه‌های آب هویج را کاهش پیگمان‌های قهوه‌ای و غیرفعال شدن آنزیم‌های عامل ایجاد کدورت مثل پکتین متیل است را دانستند [۲۲]. Vasantha و Yu (۲۰۱۲) نیز کاهش فرکانس امواج فراصوت و افزایش زمان فرآوری را عاملی مؤثر در کاهش کدورت آب‌میوه‌های سیب و هویج فرآوری شده با روش فراصوت گزارش کردند [۲۴].

مرحله‌ی اکسید شدن L آسکوربیک اسید می‌تواند تحت اثر آنزیم اسکوربیک اکسیداز رخ دهد همچنین حرارت نیز عامل مهمی دیگر در انجام این واکنش نامطلوب است [۱۱]. با توجه به این نکات در اثر برخورد امواج فراصوت و ایجاد پدیده کاویتاسیون در نمونه‌های آب‌پرتقال، این آنزیم اکسیدکننده‌ی ویتامین C کاهش یافته و همچنین با توجه به نبودن حرارت در این روش فرآوری میزان قهوه‌ای شدن کاهش می‌یابد. همچنین با افزایش زمان فرآوری با امواج فراصوت اثر تخریبی این امواج بر روی آنزیم اکسیدکننده‌ی آسکوربیک اسید بیشتر شده در نتیجه کاهش بیشتری در میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌ها مشاهده شد، ولی با افزایش فرکانس امواج کاروتنوئیدها نیز تخریب گردیده و میزان قهوه‌ای شدن افزایش یافت. نتایج حاصل از پژوهش Guerrouj و همکاران (۲۰۱۶) نیز نشان داد که با افزایش مدت‌زمان تیمار آب‌پرتقال با امواج فراصوت میزان قهوه‌ای شدن کاهش یافته و با افزایش فرکانس امواج میزان آن افزایش می‌یابد [۱۱]. Valdramidis و همکاران (۲۰۱۰) نیز با بررسی میزان اسیدآسکوربیک و قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی آب‌پرتقال فرآوری شده با امواج فراصوت، این روش را در کاهش میزان قهوه‌ای شدن مؤثر دانستند [۲۳].

### ۳-۳- تعیین میزان کدورت

نمودار b شکل ۱ میزان کدورت در نمونه‌های آب‌پرتقال را نشان می‌دهند. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، فرکانس



**Fig 1** Effects of ultrasound on the browning index (a) and opacity index (b) of orange juices. All of the results are presented as mean  $\pm$  standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ( $p < 0.05$ ). Control (no treatment); HP (heat pasteurization); S37/5 (sonication at 37 Hz for 5 min); S37/10 (sonication at 37 Hz for 10 min); S37/15 (sonication at 37 Hz for 15 min); S80/5 (sonication at 80 Hz for 5 min); S80/10 (sonication at 80 Hz for 10 min); S80/15 (sonication at 80 Hz for 15 min).

## ۳-۴- تعیین پارامترهای رنگی

جدول ۲ نتایج حاصل از آنالیز پارامترهای رنگی نمونه‌های آب‌پرتقال را نشان می‌دهد. پارامتر رنگی  $L^*$  معادل میزان روشنایی بوده و بین صفر (مشکی) تا صد (انعکاس نور کامل) هست. افزایش فرکانس امواج فراصوت باعث کاهش میزان  $L^*$  نمونه‌های آب‌پرتقال شده و افزایش مدت زمان فرآوری نیز باعث افزایش میزان  $L^*$  شده است، به طوری که بیشترین میزان این پارامتر رنگی مربوط به نمونه‌ی S37/15 هست و به طور معنی‌داری بیشتر از مقادیر این پارامتر در نمونه‌های شاهد و فرآوری شده با فرآیند حرارتی است. با توجه به این که میزان  $L^*$  نشان‌دهنده‌ی شفافیت آب‌میوه بوده و با میزان کدورت آن رابطه‌ی عکس دارد، بنابراین این نتایج می‌تواند تصدیق‌کننده‌ی نتایج حاصل از ارزیابی کدورت آب‌میوه‌ها باشد و علت تغییرات  $L^*$  در نتیجه تغییر فرکانس و زمان را می‌توان نظیر آنچه در بحث کدورت ذکر شد، مربوط به غیرفعال شدن آنزیم‌ها دانست که با کاهش میزان کدورت موجب افزایش شفافیت و پارامتر  $L^*$  گردیده است. مقادیر پارامتر رنگی  $a^*$  نامحدود بوده و مقادیر مثبت معادل رنگ قرمز و مقادیر منفی

معادل رنگ سبز هست. نتایج حاصل از بررسی این پارامتر رنگی در نمونه‌های آب‌پرتقال نشان داد که افزایش مدت زمان فرآوری با امواج فراصوت باعث کاهش میزان پارامتر  $a^*$  شده و با افزایش فرکانس امواج فراصوت میزان این پارامتر رنگی افزایش یافته است. بیشترین میزان پارامتر رنگی  $a^*$  مربوط به نمونه‌ی فرآوری شده با فرآیند حرارتی بوده و کمترین نیز مربوط به نمونه‌ی S37/15 بود. با توجه به این که کمترین پارامتر رنگی  $a^*$  (رنگ قرمز) و میزان قهوه‌ای شدن آب‌پرتقال رابطه‌ی مستقیمی وجود دارد، بنابراین این نتایج تصدیق‌کننده‌ی نتایج حاصل از تعیین میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌های آب‌پرتقال است. نتایج حاصل از ارزیابی میزان پارامتر  $b^*$  که مقادیر مثبت آن معادل رنگ زرد و مقادیر منفی معادل رنگ آبی هست، نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های آب‌پرتقال نبوده و فرآوری با امواج فراصوت هیچ تأثیر معنی‌داری روی میزان این پارامتر نداشته است. همچنین با محاسبه‌ی  $\Delta E$  که میزان اختلاف بین پارامترهای رنگی نمونه‌های فرآوری شده با نمونه‌ی شاهد (آب‌پرتقال تازه) هست، هیچ اختلافی معنی‌داری بین نمونه‌های آب‌پرتقال از نظر این شاخص مشاهده نشد.

Table 3 Color parameters of orange juices

Samples	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
Control	58.96 ± 1.28 <sup>a</sup>	8.31 ± 1.32 <sup>b</sup>	59.17 ± 0.77 <sup>a</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>a</sup>
HP	58.57 ± 0.49 <sup>a</sup>	10.58 ± 0.66 <sup>a</sup>	58.01 ± 1.93 <sup>a</sup>	3.27 ± 0.79 <sup>a</sup>
S37/5	57.89 ± 0.13 <sup>b</sup>	8.59 ± 1.13 <sup>a</sup>	59.04 ± 0.64 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.97 <sup>a</sup>
S37/10	58.77 ± 0.10 <sup>ab</sup>	6.33 ± 0.09 <sup>bc</sup>	59.82 ± 0.39 <sup>a</sup>	2.39 ± 0.85 <sup>a</sup>
S37/15	59.06 ± 0.20 <sup>a</sup>	5.20 ± 0.47 <sup>c</sup>	59.04 ± 0.13 <sup>a</sup>	2.44 ± 1.17 <sup>a</sup>
S80/5	57.98 ± 0.69 <sup>b</sup>	8.31 ± 0.09 <sup>ab</sup>	59.17 ± 0.52 <sup>a</sup>	1.96 ± 0.32 <sup>a</sup>
S80/10	58.38 ± 0.28 <sup>ab</sup>	6.61 ± 0.32 <sup>abc</sup>	59.56 ± 0.39 <sup>a</sup>	1.67 ± 0.51 <sup>a</sup>
S80/15	58.77 ± 0.49 <sup>ab</sup>	6.43 ± 0.09 <sup>bc</sup>	58.66 ± 1.29 <sup>a</sup>	2.12 ± 1.05 <sup>a</sup>

All of the results are presented as mean ± standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ( $p < 0.05$ ). Control (no treatment); HP (heat pasteurization); S37/5 (sonication at 37 Hz for 5 min); S37/10 (sonication at 37 Hz for 10 min); S37/15 (sonication at 37 Hz for 15 min); S80/5 (sonication at 80 Hz for 5 min); S80/10 (sonication at 80 Hz for 10 min); S80/15 (sonication at 80 Hz for 15 min).

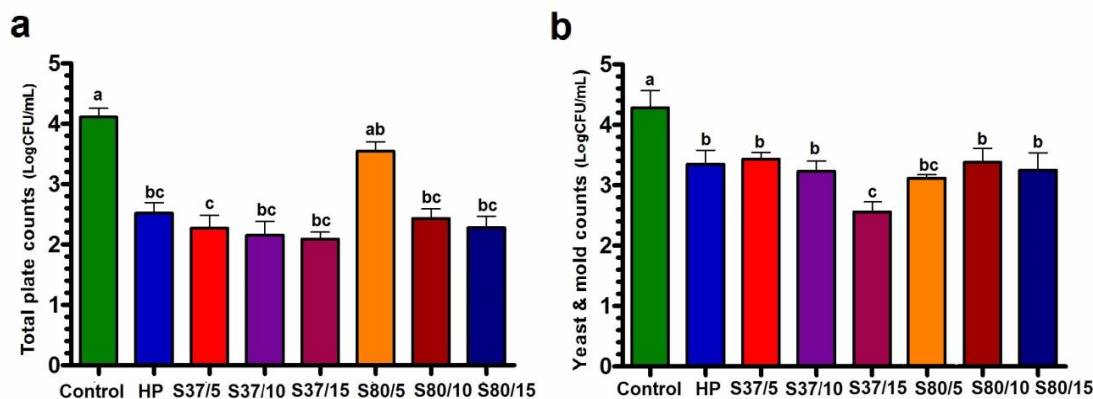
کل میکروارگانیسم‌ها در همه‌ی نمونه‌ها کمتر از ۵ Cfu/ml هست. این نتیجه نشان‌دهنده‌ی کفایت فرآوری با امواج فراصوت در کاهش جمعیت میکروارگانیسم‌ها آب‌پرتقال هست، به طوری که حتی تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های فرآوری شده با امواج فراصوت کمتر از نمونه‌ی فرآوری شده با فرآیند حرارتی بوده و کمترین تعداد کل میکروارگانیسم مربوط به نمونه‌ی S37/15 بود. با وجود اینکه

## ۳-۵- آنالیز میکروبی

نمودارهای شکل ۲ نتایج حاصل از آنالیز میکروبی نمونه‌های آب‌پرتقال را نشان می‌دهد. طبق استاندارد اعلام شده توسط سازمان غذا و داروی آمریکا میزان مجاز تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در آب‌پرتقال ۵ Cfu/ml هست [۱۹] که این استاندارد در تمامی نمونه‌های آب‌پرتقال رعایت شده و تعداد

حباب‌های کوچک در آب‌پرتقال می‌شود که انتشار سریع این حباب‌های کوچک و برخوردشان با غشای سلولی میکروارگانیسم‌ها باعث ایجاد سوراخ‌هایی ریز در سطح دیواره و نشت محتویات سلولی به بیرون شده و در نتیجه این پدیده، مرگ سلولی اتفاق می‌افتد که با افزایش مدت‌زمان فراوری این پدیده تشدید شده و میزان مرگ سلولی افزایش می‌یابد. پژوهش‌های متعددی کاربرد امواج فراصوت را روشی مؤثر در کاهش بار میکروبی و افزایش قابلیت نگهداری آب‌میوه‌هایی نظیر آب زغال اخته [۹]، آب‌پرتقال [۱۱]، آب هویج [۱۶]، آب‌توت‌فرنگی [۱۸] گزارش کرده‌اند، به طوری که کائوتاسیون ایجاد شده توسط این امواج با تخریب دیواره‌ی سلولی باکتری‌ها، حساسیت این میکروارگانیسم‌ها را به حرارت، دما، فعالیت آبی، فشار اسمزی افزایش می‌دهد.

بین نمونه‌های فراوری شده با امواج فراصوت از نظر تعداد کل میکروارگانیسم‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، ولی قابل‌توجه است که هر چه قدر فرکانس امواج فراصوت کم و زمان فراوری بیشتر بوده موجب کاهش بیشتر تعداد کل میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های آب‌پرتقال شده است. نتایج حاصل از شمارش کپک و مخمر در نمونه‌های آب‌پرتقال نیز حاکی از آن بود که فراوری با امواج فراصوت به طور معنی‌داری باعث کاهش این میکروارگانیسم‌ها شده و همانند نتایج حاصل از شمارش تعداد کل میکروارگانیسم‌ها افزایش زمان فراوری موجب کاهش بیشتر تعداد کپک و مخمر در نمونه‌های آب‌پرتقال شده است. به طوری که کمترین تعداد کپک و مخمر در نمونه‌ی S37/15 مشاهده شد. کائوتاسیون ناشی از امواج فراصوت باعث تشکیل، رشد و متلاشی شدن



**Fig 2** Survival of total plate counts (a) and fungi (b) of orange juices. All of the results are presented as mean  $\pm$  standard deviation of the means. Points labeled with different subscript letters in the same group are significantly different ( $p < 0.05$ ). Control (no treatment); HP (heat pasteurization); S37/5 (sonication at 37 Hz for 5 min); S37/10 (sonication at 37 Hz for 10 min); S37/15 (sonication at 37 Hz for 15 min); S80/5 (sonication at 80 Hz for 5 min); S80/10 (sonication at 80 Hz for 10 min); S80/15 (sonication at 80 Hz for 15 min).

میزان قهوه‌ای شدن نمونه‌های فراوری شده با امواج فراصوت به طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌ی فراوری شده با روش حرارتی بود. ارزیابی پارامترهای رنگی نمونه‌های آب‌پرتقال نیز حاکی از آن بود که افزایش فرکانس امواج فراصوت باعث کاهش میزان  $L^*$  و افزایش میزان  $a^*$  نمونه‌های آب‌پرتقال شده و افزایش مدت زمان فراوری نیز باعث افزایش میزان  $L^*$  و کاهش میزان  $a^*$  شده است. همچنین فراوری با امواج فراصوت هیچ تأثیر معنی‌داری بر روی میزان اسیدیته، pH و مواد جامد محلول نمونه‌های آب‌پرتقال نداشت ( $P > 0.05$ ). با توجه به نتایج حاصل از هم‌ی آزمایش‌های انجام‌گرفته، نمونه‌ی

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش برای بررسی تأثیر فراوری با امواج فراصوت در کاهش فلور میکروبی آب‌پرتقال، تعداد کل میکروارگانیسم‌ها و میزان کپک و مخمر نمونه‌های آب‌پرتقال مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل حاکی از آن بود که امواج فراصوت بیشتر از فرآیند حرارتی معمول باعث کاهش آلودگی میکروبی آب‌پرتقال می‌گردد. همچنین بررسی میزان قهوه‌ای شدن و کدورت نمونه‌های آب‌پرتقال نشان داد که با کاهش فرکانس امواج و افزایش مدت زمان فراوری با امواج فراصوت این دو پارامتر در نمونه‌های آب‌پرتقال کاهش یافته است، به طوری که

- Ayerdi, S. G., & Montalvo-González, E. (2017). Thermosonication: An alternative processing for fruit and vegetable juices. *Trends in food science & technology*. 61: 26-37.
- [8] Aguilar, K., Garvín, A., Ibarz, A., & Augusto, P. E. (2017). Ascorbic acid stability in fruit juices during thermosonication. *Ultrasonics Sonochemistry*. 37: 375-381.
- [9] Mohideen, F. W., Solval, K. M., Li, J., Zhang, J., Chouljenko, A., Chotiko, A., . . . Sathivel, S. (2015). Effect of continuous ultra-sonication on microbial counts and physico-chemical properties of blueberry (*Vaccinium corymbosum*) juice. *LWT-Food Science and Technology*. 60(1): 563-570.
- [10] Ordóñez-Santos, L. E., Martínez-Girón, J., & Arias-Jaramillo, M. E. (2017). Effect of ultrasound treatment on visual color, vitamin C, total phenols, and carotenoids content in Cape gooseberry juice. *Food Chemistry*. 233(Supplement C): 96-100.
- [11] Guerrouj, K., Sánchez-Rubio, M., Taboada-Rodríguez, A., Cava-Roda, R. M., & Marín-Iniesta, F. (2016). Sonication at mild temperatures enhances bioactive compounds and microbiological quality of orange juice. *Food and Bioproducts Processing*. 99(Supplement C): 20-28.
- [12] Khandpur, P., & Gogate, P. R. (2015). Understanding the effect of novel approaches based on ultrasound on sensory profile of orange juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 27(Supplement C): 87-95.
- [13] Samani, B. H., Khoshtaghaza, M. H., Lorigooini, Z., Minaei, S., & Zareiforoush, H. (2015). Analysis of the combinative effect of ultrasound and microwave power on *Saccharomyces cerevisiae* in orange juice processing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 32(Supplement C): 110-115.
- [14] Elvira, L., Durán, C. M., Urréjola, J., & de Espinosa, F. R. M. (2014). Detection of microbial contamination in fruit juices using non-invasive ultrasound. *Food Control*. 40: 145-150.
- [15] Ortuño, C., Balaban, M., & Bedito, J. (2014). Modelling of the inactivation kinetics of *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* and pectin methylesterase in orange juice treated with ultrasonic-assisted supercritical carbon dioxide. *The Journal of S37/15* با داشتن کمترین تغییر در خصوصیات فیزیکی شیمیایی طبیعی و کمترین بار میکروبی نمونه‌ی بهینه بین نمونه‌های فراوری شده با امواج فراصوت هست. در آخر می‌توان گفت که کاربرد امواج فراصوت در فراوری آب‌میوه علاوه بر کاهش آلودگی میکروبی این محصول غذایی، به‌طور مؤثری باعث حفظ خصوصیات فیزیکی شیمیایی و حسی این محصول نیز می‌گردد که نشان‌دهنده‌ی پتانسیل بالای این فناوری برای جایگزینی فرآیندهای معمول حرارتی هست.

## ۵- منابع

- [1] Irkilmez, M. U., Başlar, M., Sağdıç, O., Arici, M., & Ertugay, M. F. (2017). The effect of ultrasonic treatments on turbidity, microbial load, and polyphenol oxidase (PPO) activity of plum nectar. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(2): 380-387.
- [2] Zinoviadou, K. G., Galanakis, C. M., Brnčić, M., Grimi, N., Boussetta, N., Mota, M. J., Barba, F. J. (2015). Fruit juice sonication: Implications on food safety and physicochemical and nutritional properties. *Food Research International*. 77: 743-752.
- [3] Dabir, M. P., & Ananthanarayan, L. (2017). Effect of thermosonication on peroxidase, pectin methylesterase activities and on bioactive compounds in custard apple juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 11(4): 1623-1629.
- [4] Samani, B. H., Khoshtaghaza, M. H., Minaei, S., Zareiforoush, H., Eshtiaghi, M. N., & Rostami, S. (2016). Design, development and evaluation of an automatic fruit-juice pasteurization system using microwave-ultrasonic waves. *Journal of food science and technology*. 53(1): 88-103.
- [5] Bora, S. J., Handique, J., & Sit, N. (2017). Effect of ultrasound and enzymatic pre-treatment on yield and properties of banana juice. *Ultrasonics Sonochemistry*. 37: 445-451.
- [6] Rojas, M. L., Leite, T. S., Cristianini, M., Alvim, I. D., & Augusto, P. E. (2016). Peach juice processed by the ultrasound technology: Changes in its microstructure improve its physical properties and stability. *Food Research International*. 82: 22-33.
- [7] Anaya-Esparza, L. M., Velázquez-Estrada, R. M., Roig, A. X., García, H. S., Sayago-



- followed by high pressure processing on prebiotic cranberry juice. *Food Chemistry*. 218: 261-268.
- [21] Tomadoni, B., Cassani, L., Viacava, G., Moreira, M. D. R., & Ponce, A. (2017). Effect of ultrasound and storage time on quality attributes of strawberry juice. *Journal of Food Process Engineering*. 40(5): e12533.
- [22] Jabbar, S., Abid, M., Wu, T., Muhammad Hashim, M., Hu, B., Lei, S., . . . Zeng, X. (2014). Study on combined effects of blanching and sonication on different quality parameters of carrot juice. *International journal of food sciences and nutrition*. 65(1): 28-33.
- [23] Valdramidis, V., Cullen, P. J., Tiwari, B., & O'Donnell, C. (2010). Quantitative modelling approaches for ascorbic acid degradation and non-enzymatic browning of orange juice during ultrasound processing. *Journal of food engineering*. 96(3): 449-454.
- [24] Vasantha Rupasinghe, H., & Yu, L. (2012). Emerging preservation methods for fruit juices and beverages. *Food additive*. 10: 32-48.
- Supercritical Fluids. 90(Supplement C): 18-26.
- [16] Adiamo, O. Q., Ghafoor, K., Al-Juhaimi, F., Babiker, E. E., & Ahmed, I. A. M. (2018). Thermosonication process for optimal functional properties in carrot juice containing orange peel and pulp extracts. *Food Chemistry*. 245: 79-88.
- [17] Antonio-Gutiérrez, O., López-Malo, A., Ramírez-Corona, N., & Palou, E. (2017). Enhancement of UVC-light treatment of tangerine and grapefruit juices through ultrasonic atomization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 39: 7-12.
- [18] Bhat, R., & Goh, K. M. (2017). Sonication treatment convalesce the overall quality of hand-pressed strawberry juice. *Food Chemistry*. 215: 470-476.
- [19] Evelyn, & Silva, F. V. M. (2016). High pressure processing pretreatment enhanced the thermosonication inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in orange juice. *Food Control*. 62(Supplement C): 365-372.
- [20] Gomes, W. F., Tiwari, B. K., Rodriguez, Ó., de Brito, E. S., Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2017). Effect of ultrasound

## Cavitation effects of sonication on microbial load and physicochemical properties of orange juice

Amjadi, S.<sup>1</sup>, Alizadeh, A.<sup>2</sup>, Roufegarinejad, L.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc., Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Food Sciences, Tabriz branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

(Received: 2017/12/25 Accepted:2018/02/04)

Strong interest of consumers in acquiring minimally processed foods that conserve the different micronutrients has raised the need to study the effect of food processing methods on quality attributes. The aim of this study was to determine the effect of ultrasound treatment (for 5, 10, 15 min at 37 and 80 kHz frequency) on physicochemical properties (titratable acidity, pH, °Brix, browning index, opacity), color attributes and microbial load (total microbial population, yeast and mold, and coliforms) of orange juice. Results showed non-significant changes for titratable acidity, °Brix, and pH in sonicated samples compared to control ( $p > 0.05$ ). The difference between browning and opacity indexes of the sonicated samples and heating treatment sample was significant ( $p < 0.05$ ) and the sonication caused to decrease the browning and opacity indexes of orange juices. The color parameters investigation of orange juice samples showed that the decreasing of frequency sonication and increasing the time of treatment leads to increase the lightness ( $L^*$ ), and decrease of the redness ( $a^*$ ) of orange juice samples. Significant reductions in the microbial load corresponding to sonication time were also recorded ( $p < 0.05$ ). Results of the present study indicate that sonication coupled with mild temperatures may be employed as a suitable technique for orange juice processing, and may be applied to improve its safety, sensorial and nutritional quality.

**Keywords:** Browning degree, Cavitation, Orange juice, Shelf life, Sonication

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: l.roufegari@iaut.ac.ir