



مطالعه اثر حرارت‌دهی اهمیک و حمام آب بر بقای اشرشیاکلی در آب هویج

سیدرامین رفیعیانی^۱، نفیسه زمین‌دار^{۲*}

۱- کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله: تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۷	هویج پس از آب‌گیری دارای عمر نگهداری بسیار پایینی می‌باشد. پاستوریزاسیون راهی مناسب برای حفظ و تجاری‌سازی این محصول می‌باشد. در این مطالعه از دستگاه اهمیک به عنوان منبع گرمایش استفاده گردید و باکتری اشرشیاکلی به عنوان شاخص کفایت غیرفعال سازی فرم رویشی باکتری برای پاستوریزاسیون انتخاب گردید. آب‌هویج تازه تحت ۳ سطح دمای ۴۸، ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد و ۶ سطح زمان ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه با ولتاژ ثابت ۱۰۰ ولت تحت فرآیند حرارتی قرار گرفت و تعداد باکتری‌های بازمانده مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین پاستوریزاسیون به روش متعارف حمام آب داغ نیز انجام گرفت و با روش اهمیک مورد مقایسه قرار گرفت که نتیجه‌ی آن کارایی بیشتر روش اهمیک را نشان داد. پاستوریزاسیون به روش اهمیک علاوه بر جلوگیری از اتلاف وقت و انرژی با سرعت بالا باعث غیرفعال شدن فرم رویشی باکتری‌ها در مدت زمان بسیار کمی شده است. تغییرات بازمانده‌های باکتری‌ها با افزایش دما و زمان به وسیله‌ی طرح کاملاً تصادفی در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. اثر روش و زمان و اثر متقابل روش و زمان بر کاهش تعداد باکتری‌های زنده‌مانده معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد بهترین نتیجه برای حرارت‌دهی اهمیک حاصل شد.
کلمات کلیدی: غیرفعال سازی، اشرشیاکلی، آب هویج، اهمیک	
DOI:10.22034/FSCT.22.158.50. * مسئول مکاتبات: n.zamindar@khuisf.ac.ir	

۱-مقدمه

آب میوه مانع مهمی در برابر رشد عوامل بیماری زای ناشی از غذا است. با این حال، تحقیقات بسیاری در مورد شیوع بیماری های ناشی از غذا شامل مصرف آب میوه منتشر شده است که توانایی آب میوه های اسیدی را برای حمل عوامل بیماری زای انسانی نشان می دهد. *اشرشیا کلی* O157: H7 می تواند در غذاها و نوشیدنی های اسیدی به خوبی زنده بماند زیرا برخی اسیدهای آلی را تحمل می کند و قابلیت سازگاری با اسید را دارد [۵]. *اشرشیا کلی* O157: H7، یک نوع پاتوژن گرم منفی، زیرمجموعه انتروهموژنیک است و توسط مرکز کنترل بیماری های ایالات متحده به عنوان یکی از پنج عامل بیماری زای برتر ذکر شده است که منجر به بستری شدن در بیمارستان می شود. بنابراین، غیرفعال سازی موثر *اشرشیا کلی* O157: H7 در غذا برای جلوگیری از شیوع بیماری و تضمین ایمنی مواد غذایی و سلامت انسان مهم است [۶].

فرایند های حرارتی از جمله پاستوریزاسیون به عنوان یک روش فرایند حرارتی برای غیرفعال سازی میکروارگانیسم های بیماری زا و فساد برای اطمینان از ایمنی و افزایش ماندگاری انواع مواد غذایی استفاده شده است. آب هویج به عنوان یک محصول تازه و پرآب، حساس به رشد میکروارگانیسم های بیماری زا می باشد که می توانند باعث عفونت های گوارشی و سمی بشود. برخی از این میکروارگانیسم ها شامل *اشرشیا کلی*، *سالمونلا*، *لیستریا* و *کلستریدیوم بوتولینوم* هستند. پاستوریزاسیون آب هویج می تواند این باکتری ها را کشته یا ضعیف کرده و از خطر بروز بیماری های غذایی جلوگیری کند. همچنین، پاستوریزاسیون می تواند عمر نگهداری آب هویج را افزوده و از نیاز به استفاده از مواد نگهدارنده و افزودنی ها بکاهد [۷]. با این حال، فناوری های حرارتی جدید در مقایسه با تیمار های حرارتی سنتی، حفظ مواد مغذی، بافت، رنگ و طعم دهنده های مواد غذایی را افزایش دهند. بنابراین، توسعه فناوری های جدید فرایند حرارتی در دهه های گذشته توجه ویژه ای را به خود جلب کرده است. از

هویج یکی از سبزی های متعلق به گروه *آپاسه*^۱ است که با نام *داکوس کاروت آل*.^۲ زده بندی می شود. هویج سبزی ریشه دار یا غده ای خوراکی است که می توان آن را خام، خورد و یا رنده شده در سالاد مصرف نمود و بیشتر در پخت سوپ ها و خورش ها کاربرد دارد. استان های آذربایجان شرقی، خوزستان، اصفهان و زنجان بیشترین سهم را در تولید هویج کشور دارا می باشند. هویج دارای مقادیر بالای بتاکارتن به عنوان پیشساز ویتامین آ. است همچنین حاوی مواد معدنی مختلف نظیر آهن، مس، منیزیم، فسفر، و ویتامین هایی نظیر گروه B و C می باشد [۱]. به طور کلی با رشد محبوبیت غذاهای آماده در بسیاری از کشور های آسیایی، شاهد افزایش تقاضا برای سبزی ها و میوه های فرآوری شده با کیفیت بالا بوده و پیش بینی می شود این روند در دهه آینده در همگی کشور های در حال توسعه جهان ادامه یابد [۲]. آب هویج یک نوشیدنی بسیار مغذی و غنی از بتاکاروتن و آنتی اکسیدان است. علاوه بر این، ریشه های هویج فیتوآلکسین ۶-متوکسیملین تولید می کنند که از رشد چندین قارچ، مخمر و کپک جلوگیری می کند و اثر ضد لیستریا را نشان می دهد. با این حال، pH بالای آب هویج (۶/۴ تا ۶/۸) همچنان محصول را برای افزایش ماندگاری به چالش می کشد، زیرا میکروارگانیسم های نامطلوب در این مقادیر pH بسیار مقاوم هستند [۳].

در میان تمام علل احتمالی زوال مواد غذایی، انتشار میکروارگانیسم ها در مواد غذایی از اهمیت ویژه ای در صنایع غذایی برخوردار است. علاوه بر ضایعات غذایی ناشی از دور ریختن محصولات آلوده، برخی از میکروارگانیسم ها نیز می توانند مشکلات بهداشت عمومی را ایجاد کنند. این مشکلات مربوط به آسیب شناسی های ناشی از خود میکروارگانیسم یا سمومی است که توسط برخی از گونه ها ساخته می شود. بنابراین، غیرفعال سازی میکروارگانیسم ها تا تعداد قابل قبول یکی از مهم ترین نگرانی ها در زمینه فرایند مواد غذایی است [۴]. به طور سنتی تصور می شد که اسیدیته

نمونه‌ی هویج تازه را پس از پاک کردن و حذف بخش‌های زائد، پوست‌گیری کرده و به خوبی با آب مقطر شسته شده و سپس با دستگاه آب‌میوه‌گیری آبیگری شد [۱۲]. سپس pH آن تنظیم گردید و در شیشه‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری دربسته با مقاومت حرارتی بالا برای اطمینان از عاری بودن از هر میکروارگانیزم اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار ۱.۲ bar به مدت ۲۰ دقیقه) کرده و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) تا پیش از آزمون‌ها نگهداری گردید.

۲-۲-۲- محیط‌های کشت و سرم‌های رقت

سازی

در این پژوهش از سه محیط کشت، BHI، EMB و PCA و محلول رقیق‌کننده سرم فیزیولوژی در آزمایش اصلی یعنی شمارش تعداد کلنی‌های باقیمانده و از سه محیط کشت، MR-VP، SIM و سیمون سیترات برای تست تاییده ایموایک و از محیط کشت NB به همراه ۱٪ قند گلوکز، لاکتوز و ساکارز همراه با معرف فنل رد به منظور تست بررسی تخمیر قند استفاده شد، که آماده‌سازی هر کدام از آنها مطابق دستورالعمل ساخت محیط کشت شرکت سازنده انجام شد، توسط دستگاه اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار ۱.۲ bar و به مدت ۲۰ دقیقه استریل گردید و در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) تا لحظه آزمایش داخل پک‌های استریل نگهداری شد.

برای ساخت سرم‌های فیزیولوژیک مورد استفاده در رقت‌سازی، مقدار ۸.۵ گرم سدیم کلرید را با ترازوی حساس با دقت ۰.۰۰۰۱ توزین کرده و در مقداری آب مقطر حل نموده و سپس حجم آن به یک لیتر رسانیده شد. سپس با پیپت ۱۰ میلی‌لیتر مقدار ۹ میلی‌لیتر سرم را به داخل لوله‌های آزمایش ریخته در آن با پنبه محکم بسته و در ردیف‌های ۱۰ تایی دسته‌بندی گردید و سپس آنرا با اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار ۱.۲ bar به مدت ۲۰ دقیقه استریل کرده و

گرمایش اهمی می‌توان به عنوان یک فرایند حرارتی موثر برای گرم کردن مداوم محصولات غذایی با عبور جریان‌های الکتریکی از ماتریس‌های غذایی استفاده کرد. بنابراین، گرمایش اهمی می‌تواند محدودیت‌های پاستوریزاسیون معمولی را با استفاده از برق دور بزند [۸]. فناوری گرمایش اهمیک مبتنی بر عبور جریان الکتریکی متناوب از طریق یک ماده غذایی با هدف اصلی گرم کردن آن می‌باشد [۹]. مهم‌ترین مزیت مرتبط با این فرایند، امکان گرم کردن مواد سریع و یکنواخت از جمله محصولات ذره‌ای بوده و به همین دلیل، محصولاتی که با گرمایش اهمیک تحت درمان قرار گیرند، کیفیت بالاتری نسبت به محصولات فرایند شده معمولی خواهند داشت [۱۰]. از مزایای آن در مقایسه با گرمایش معمولی می‌توان به حفظ رنگ و ارزش مواد غذایی، سرعت گرمایش بالا، ایجاد گرمایش حجمی، عدم ایجاد شیب دمایی، دوستدار محیط زیست و کارایی و بازدهی بسیار بالا نام برد [۱۱].

این مطالعه به بررسی استفاده از روش حرارت‌دهی اهمیک و اثرات این روش بر غیر فعال کردن باکتری/شرشیاکلی در آب هویج پرداخته است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

نمونه هویج، متعلق به خانواده آمبلیفریا^۳ و از جنس داکوس^۴ و کاروتاه بوده و از یک باغ در اصفهان خریداری شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. مواد شیمیایی با درجه خلوص بالا از شرکت مرک آلمان تهیه گردید.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده‌سازی نمونه

3 -Umbelliferae

4- Daucus

تا موقع مصرف در پک های استریل در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی گراد) نگهداری گردید [۱۳].

۳-۲-۲- نمونه باکتری اشرشیا کلی

سوش باکتری اشرشیا کلی (۱۳۹۹PTCC) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران خریداری شد، سپس برای فعال سازی کامل سوش ابتدا آن را در محیط کشت BHI قرار داده و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور (پارس طب نوین، ایران) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت و این کار به مدت سه مرحله ۴۸ ساعته با هر بار پاساژ جدید باکتری از کشت قبل انجام شد. پس از مشاهده کدورت کافی با استفاده از سوآپ استریل نمونه برداری کرده و با روش کشت خطی به محیط کشت EMB انتقال داده شد و پس از گرمخانه گذاری ۴۰ درجه سانتی گراد و تشکیل جلای سبز نمونه اشرشیا آماده شد و با نگه داری پلیت در یخچال می توان برای مدت حدود ۳ هفته از آن استفاده کرد و به منظور بررسی خلوص باکتری تست ایموایک و تست تخمیر قند انجام شده و از باکتری اشرشیا کلی خالص جهت تهیه استاندارد نیم مک فارلند استفاده گردید [۱۴].

به منظور تهیه استاندارد نیم مک فارلند برای آماده سازی نمونه نهایی برای تلقیح با نمونه آب هویج از دستگاه اسپکتروفتومتر (UNICO S، ۲۱۰۰، آمریکا) استفاده شد. ابتدا تعدادی از کلنی های تک بر روی محیط EMB جدا کرده و در لوله حاوی محیط BHI به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه کرده و به اصطلاح کشت شبانه انجام گرفته و از کشت شبانه برای تهیه استاندارد نیم مک فارلند استفاده شد. برای ساخت استاندارد نیمه مک فارلند در محیط کاملاً استریل ابتدا جذب را بر روی ۶۲۵ nm تنظیم کرده و با سل حاوی محیط کشت BHI خالص را به عنوان شاخص، عدد دستگاه اسپکتروفتومتر را صفر یا به اصطلاح کالیبره گردید تا میزان جذب کدورت نمونه فقط میزان جذب باکتری موجود در آن باشد. با توجه به توضیحات مطابق استاندارد جذب نمونه تلقیحی روی عدد

۰.۰۹ تنظیم شد که این عدد جذب با روش شمارش معادل تعداد $10^6 \times 1.5$ محاسبه و گزارش گردید [۱۵].

۴-۲-۲- تست تاییدی ایمویک باکتری

اشرشیا کلی

تست ایندول و تست استفاده از سیترات، توانایی باکتری ها را برای تولید آنزیم های خاص بررسی می کنند. از سوی دیگر، تست متیل رد و تست ووگس پروسکوئر، محصولات متابولیک نهایی تولید شده توسط باکتری ها را شناسایی می کنند. به این ترتیب نوع و جنس باکتری بر اساس آنزیم ها، مواد مغذی مورد نیاز و محصولات متابولیکی که تولید کرده است، مشخص می گردد [۱۶].

۵-۲-۲- تست تاییدی تخمیر قند باکتری

اشرشیا کلی

شامل سه تست تخمیر قند گلوکز، لاکتوز و ساکارز می باشد که این سه تست در محیط مایع نوترینت برات با اضافه کردن ۱٪ از هر کدام از قندها انجام می گیرد که در نهایت با اضافه کردن معرف فنول رد وجود یا عدم وجود اشرشیا کلی اثبات می شود. بدین صورت که با تغییر رنگ معرف فنول رد در هر سه نوع قند از قرمز به زرد اثبات وجود اشرشیا کلی می باشد [۱۵].

۶-۲-۲- تنظیم pH

دامنه پاستوریزاسیون مربوط به مواد غذایی با pH کمتر از ۴.۶ می باشد و از آنجایی که آب هویج مورد استفاده در این پژوهش دارای pH اولیه ۶.۶ می باشد و در دامنه پاستوریزاسیون نمی باشد باید با استفاده از اسید های خوراکی و با توجه به حد مجاز استفاده آنها، نمونه وارد دامنه شود [۱۷]. به همین منظور نمونه آب هویج در یه ظرف ریخته شده و الکتروود pH متر در آن قرار می گیرد، سپس به آرامی مخلوط فسفریک اسید و گلیکودلتا لاکتون (نسبت ۱ به ۳) را به آرامی به نمونه اضافه نموده و هم زده شد. هدف ایجاد

و بلافاصله در مخلوط آب و یخ سرد و برای مرحله کشت آماده شد. در این روش نیز همان طور که در روش قبلی توضیح داده شد مدت زمان افزایش دما مهم بوده و اندازه گیری می‌شود [۲۰].

۹-۲-۲- شمارش تعداد کلنی های باقی مانده

با توجه به اینکه طبق مقررات FDA حداقل نیاز پاستوریزاسیون را به میزان $\log 5$ کاهش میکروارگانیسم های بیماری زا که قادر به رشد در محصول هستند الزامی می کند [۲۱]. به منظور اندازه‌گیری تعداد باکتری‌های /شرشیاکلی زنده مانده در نمونه آب‌هویج بعد از فرایندهای اعمال شده، یک میلی‌لیتر از نمونه با استفاده از نه سری ۹ میلی‌لیتری لوله‌های رقیق‌کننده که حاوی محلول رقیق‌کننده آب پپتونه یا سرم فیزیولوژی تهیه شده بود، به روش رقت سازی ترتیبی رقیق گردید. سپس از لوله‌های 10^{-1} تا 10^{-9} هر کدام با ۳ تکرار به روش کشت پورپلیت در محیط کشت پلیت کانت آگار کشت داده شد و بعد از کشت به دست آمده از بین رقت 10^{-1} تا 10^{-9} از کشت انجام شده، شمارش گردید [۱۶]، سپس کشت آمیخته یا پورپلیت برای شمارش میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه به کار رفت، سپس به مدت ۴۸ ساعت پلیت‌ها به صورت برعکس گرمخانه گذاری شدند تا کلنی‌ها رشد کنند. شمارش با استفاده از دستگاه کلنی کانت، تعداد کلنی‌ها در هر رقت شمارش و سپس با استفاده از فرمول محاسبه با روش cfu/mL محاسبه و گزارش شد [۱۵].

$\text{cfu/mL} = \text{عکس رقت} \times \text{تعداد کلنی شمارش شده}$
عکس حجم نمونه (۲)

۱۰-۲-۲- تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

pH ۴.۴ میباشد. چون تغییرات شدید می‌باشد از این مخلوط تا ۵pH استفاده کرده و مابقی را با محلول ۳مولار فسفریک اسید تنظیم نموده، همچنین محاسبه میزان استفاده اسید با استفاده از رابطه هندرسون-هاسل باخ انجام می‌گیرد [۱۸].

(۱)

$$\text{pH} = \text{pk}_a + \log_{10} \left(\frac{[A^-]}{[HA]} \right)$$

که در رابطه بالا HA غلظت اسید، A^- غلظت پایه مزدوج و pk_a لگاریتم منفی ثابت تفکیک اسید می‌باشد [۱۹].

۷-۲-۲- پاستوریزاسیون به روش حمام آب داغ

ابتدا حمام آب را روشن کرده تا به دمای هدف (دماهای ۴۸، ۵۵، ۶۲ درجه سانتی‌گراد) برسد. پک استریل را با ۲۵۰ میلی لیتر نمونه تلقیح شده پرکرده، درون حمام قرار داده و با یک دماسنج، دمای نمونه مورد کنترل قرار می‌گیرد تا به عدد مورد نظر برسد (مدت زمانی که نمونه طی میکند تا از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دمای هدف برسد به اصلاح زمان افزایش دما^۶ نامیده می‌شود و از آن جایی که در محاسبات حرارتی حائز اهمیت است در این پژوهش اندازه‌گیری شده است). در این پژوهش شمارش باکتری های زنده مانده در نمونه در دماهای ۴۸، ۵۵، ۶۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ زمان ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ ثانیه مورد بررسی قرار گرفت.

۸-۲-۲- پاستوریزاسیون به روش اهمیتیک

در این روش نمونه‌ها را در سل مخصوص دستگاه که قبلا توسط اتوکلاو استریل شده ریخته و در دماهای ۴۸، ۵۵، ۶۲ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و در زمان‌های ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ ثانیه پس از رسیدن به دمای هدف نمونه‌برداری گردید. برای این کار از سرنگ استریل ۱۰ میلی لیتر استفاده شد و نمونه گرفته شده را در فالكون های در بسته ای که قبلا توسط اتوکلاو استریل شده بود ریخته شد

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج ارزیابی پارامتر تعداد بازمانده‌های

اشرشیاکی پس از پاستوریزاسیون

نتایج پژوهش در دو روش حمام آب و اهمیک در ولتاژ ۱۰۰ ولت در سه دمای ۴۸، ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد و طی ۶ زمان ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه در جدول (۱) ارائه شده است. نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از این است که متغیرهای تعداد بازمانده‌های اشرشیاکی در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شدند.

برای تجزیه و تحلیل آماری تعداد میکروب های اشرشیاکی باقی مانده پس از هر تیمار اندازه گیری شد و لگاریتم این داده ها برای تحلیل آماری در نظر گرفته شد. تمام داده ها در سه تکرار بررسی شدند و اگر تفاوت شمارش یک تیمار بیش از ۱۵٪ بود، داده های آن تیمار تکرار گردید. اثر دو متغیر مستقل روش حرارت دهی (دو سطح اهمیک و حمام آب) و زمان حرارت دهی (۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ثانیه) بر متغیر وابسته تعداد اشرشیاکی باقی مانده به صورت جداگانه در دماهای ۴۸، ۵۵، ۶۲ درجه سانتی‌گراد در قالب آزمون فاکتوریل طرح کاملا تصادفی و با نرم افزار SAS انجام شد، مقایسه میانگین‌ها با استفاده آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

Table (1) Analysis of variance of *Escherichia coli* survivors

Sources of changes	Degrees of freedom	average of squares		
		48°C	55°C	62°C
Time	5	0.374 **	0.83 **	25.32 **
Method	1	0.021 **	0.042 *	1.77 **
The interaction of time in the method	5	0.008 **	0.072 **	0.30 **
error	22	0.001	0.01	0.00

ns و * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار شدن در سطح آماری ۵ و ۱ درصد

زمان ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه که زمان تیمار شاهد می‌باشد، به روش اهمیک و حمام آب در جدول (۲) ارائه گردیده که نتایج نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشد. در دماهای بالاتر، تعداد باقی مانده ها در دماهای ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد در روش حمام بخار کمتر است.

۳-۲- نتایج ارزیابی پاستوریزاسیون به روش

اهمیک و حمام بخار

با استفاده از طرح کاملا تصادفی در این پژوهش در ولتاژ ۱۰۰ ولت و در سه دمای ۴۸، ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد و طی ۶

Table (2) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors in conventional and ohmic methods

Temperature		48°C	55°C	62°C
Method				
Conventional (water bath)		4.80 ± 0.05 ^a	4.51 ± 0.06 ^a	2.58 ± 0.43 ^b
Ohmic		4.75 ± 0.06 ^b	4.58 ± 0.10 ^b	3.03 ± 0.49 ^a
LSD 5%		0.02	0.06	0.03

زمان افزایش دما و زمان حرارت‌دهی را باید مورد بررسی قرار داد. زمان افزایش دما یا زمانی که طول می‌کشد تا تیمار از دمای محیط یعنی ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دمای هدف (در

با توجه به جدول (۲) به وضوح می‌توان دریافت که فقط مقایسه تعداد باکتری‌های بازمانده در دو روش گویای شدت میکروب کشی و پاستوریزاسیون نمی‌باشد بنابراین دو فاکتور

این آزمایش ۴۸، ۵۵، ۶۲ درجه سانتی‌گراد) برسد، از این نظر تر باشد شاهد از دست رفتن تعداد زیادی از میکروب‌ها مهم بوده زیرا در این بازه زمانی حرارت‌دهی صورت گرفته و میکروب‌کشی انجام می‌شود و هر چه این زمان طولانی‌تر باشد شاهد از دست رفتن تعداد زیادی از میکروب‌ها خواهیم بود [۲۲].

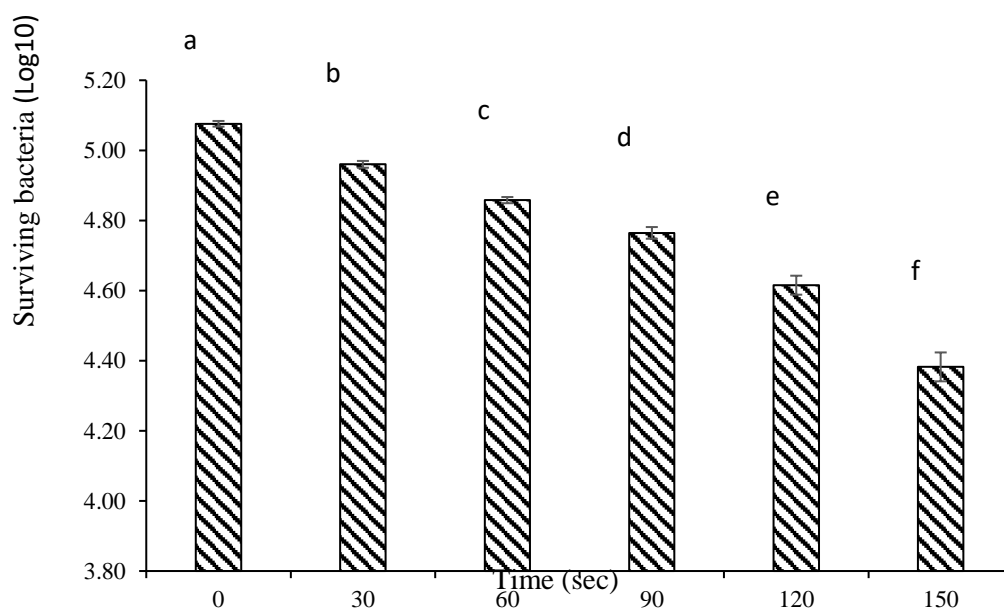
Table (3) Come up time for conventional and ohmic methods

Methods	48°C	55°C	62°C
Water bath	1':20"	1':46"	2':18"
Ohmic	0':34"	0':40"	0':52"
Time difference	0':46"	0':56"	1':26"

حرارت‌دهی در دماهای ۴۸، ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد و زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه است.

۳-۳- نمودار مقایسات میانگین تعداد بازمانده‌های اشرشیاکلی نسبت به زمان

شکل‌های (۱)، (۲) و (۳) که به ترتیب نشان دهنده نمودار میانگین لگارتیم (پایه ۱۰) تعداد بازمانده‌ها طی فرآیند

Figure (1) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors at different times at 48 °C

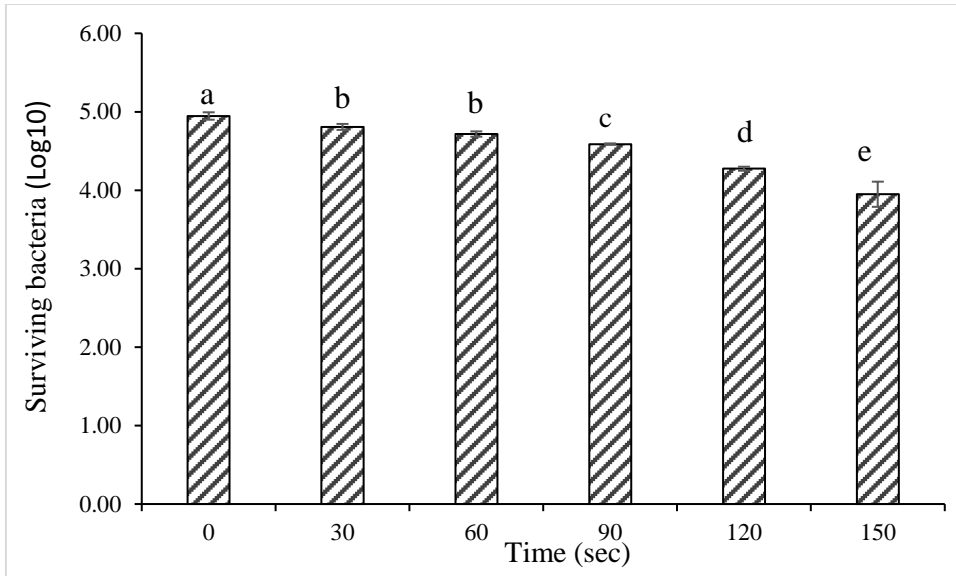


Figure (2) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors at different times at 55 °C

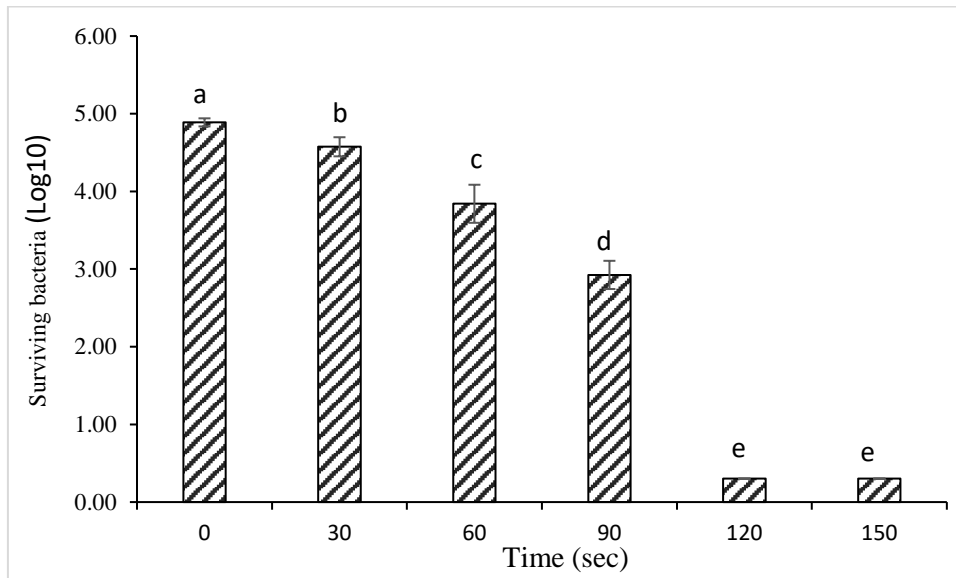


Figure (3) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors at different times at 62 °C

۴-۳- نمودار مقایسات میانگین اثر متقابل روش‌ها در زمان‌های مختلف با تاثیر زمان افزایش دما

در نمودارهای (۴) الی (۶) نتایج مقایسات میانگین پاستوریزاسیون باکتری *اشرشیاکلی* به دو روش اهمیت و حمام آب آورده شده که در آن ستون اول هر نمودار نمونه

با توجه به نمودارهای ۱، ۲، ۳، تیمار اول اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ با بقیه تیمارها دارد. با افزایش دما تا ۶۲ درجه سانتی‌گراد تعداد بازمانده‌ها به گونه‌ای کاهش یافته که در تیمارهای ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه در دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد این مقدار به صفر رسیده است و کاهش باکتری‌ها نسبت به بقیه تیمارها در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. در کل بیش‌ترین میزان میکروب‌کشی در دمای ۶۲ درجه و زمان ۱۲۰ ثانیه رخ داده است و با افزایش دما و گذشت زمان میزان میکروب‌کشی افزایش یافته است.

شاهد و در لحظه ۰ ثانیه در هر دما می‌باشد و تیمارهای دیگر در سه دمای ۴۸، ۵۵ و ۶۲ درجه سانتی‌گراد و طی ۵ زمان اهمیک آورده شده است.

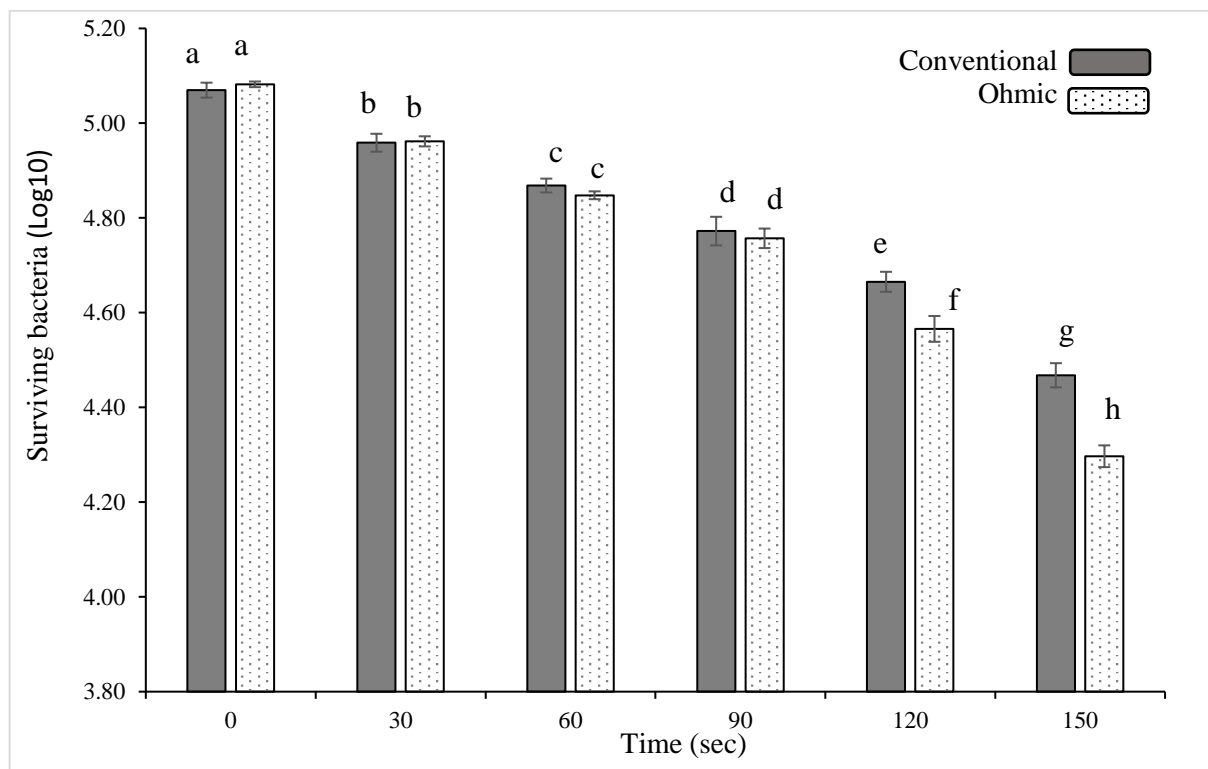


Figure (4) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors affected by interaction of time and heating method at 48 °C

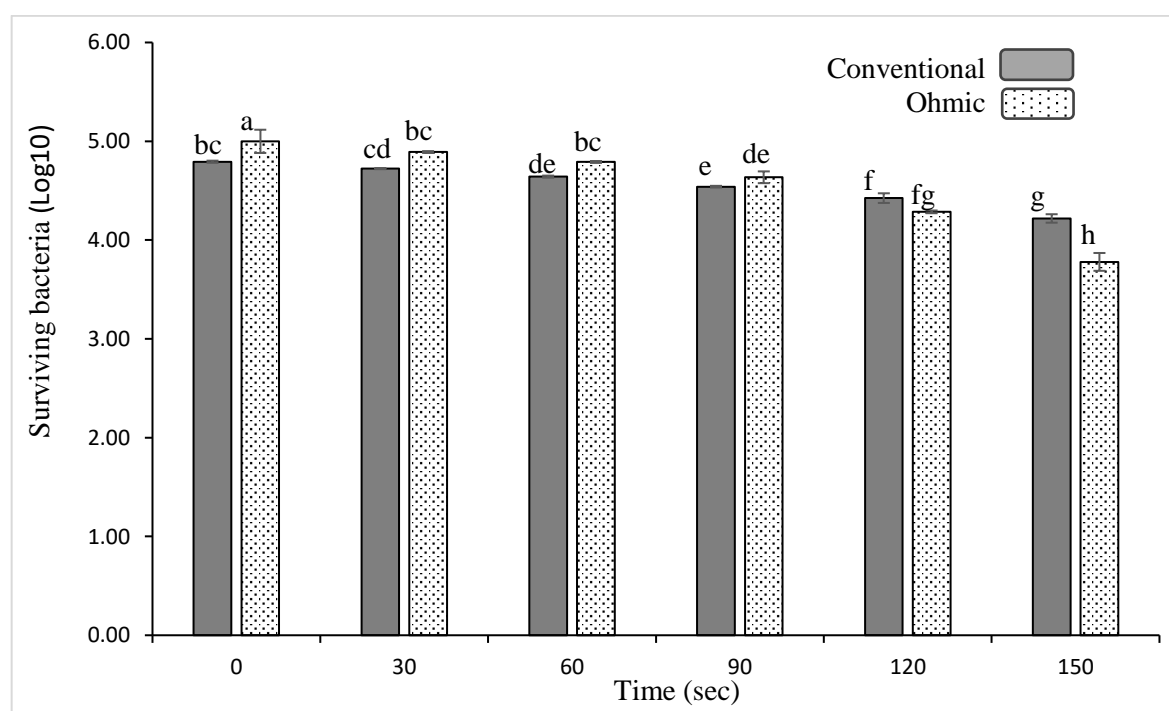
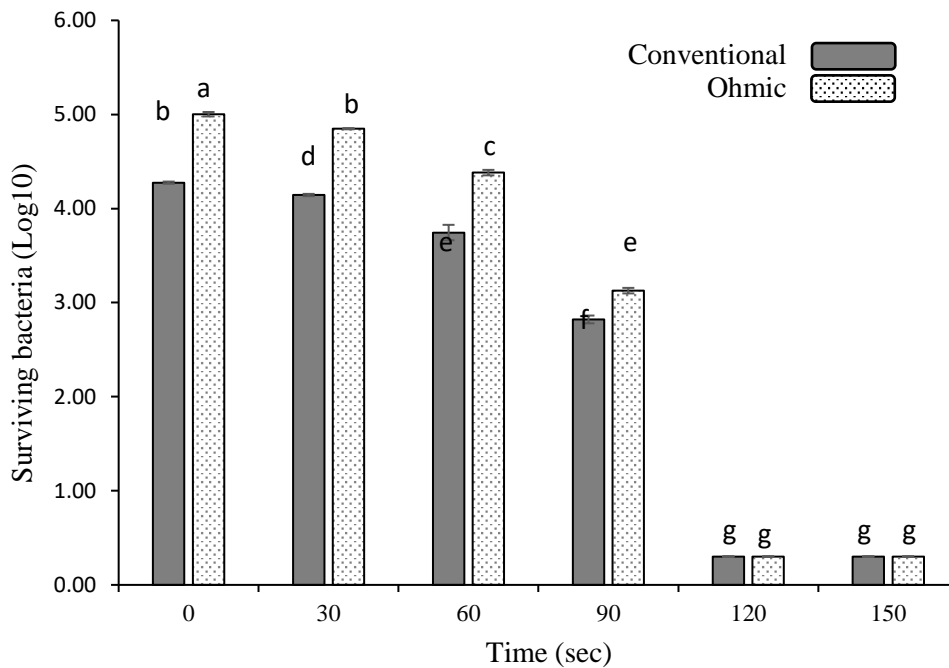


Figure (5) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors affected by interaction of time and heating method at 55 °C**Figure (6) Mean comparison of *Escherichia coli* survivors affected by interaction of time and heating method at 62 °C**

سه تیمار حمام آب ۶۰ ثانیه، حمام آب ۹۰ ثانیه و اهمیک ۹۰ ثانیه اختلاف آماری معنی داری وجود ندارد. اگرچه بین حمام آب و اهمیک ۹۰ ثانیه و همچنین حمام آب و اهمیک ۱۲۰ ثانیه اختلاف آماری خاصی دیده نمی شود ولی بین حمام آب و اهمیک ۱۵۰ ثانیه با یکدیگر و با تیمارهای زمان های دیگر اختلاف آماری معنی دار وجود دارد ($p > 0.05$).

در دمای ۶۲ درجه سانتی گراد با پیشرفت زمان کاهش معنی دار در تعداد میکروب زنده مانده در هر دو روش اهمیک و سنتی مشاهده می شود. در مقایسه اثر متقابل مدت و زمان ملاحظه می شود در زمان های ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه بین دو تیمار حمام آب و اهمیک در هر بازه زمانی اختلاف آماری معنی داری در سطح احتمال ۵٪ $p < 0.05$ وجود دارد و شمارش در روش سنتی پایین تر است. علت این امر طولانی تر بودن زمان افزایش دما در این روش است (جدول ۳) که خود این زمان اثر کشندگی دارد. در زمان های ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه، بین تیمار اهمیک و حمام آب اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵٪ $p > 0.05$ وجود ندارد (نمودار ۶).

با توجه به نتایج مقایسات میانگین، دو تیمار اول هر نمودار نمونه‌ی شاهد در آن دما می باشد. با توجه به نمودارها وجود اختلاف آماری معنی داری بین نمونه های شاهد و بقیه تیمارها وجود دارد که نشان دهنده ی کاهش شدید تعداد باکتری های اشرشیاکلی پس از تیمار حرارتی می باشد.

در دمای ۴۸ درجه سانتی گراد با پیشرفت زمان کاهش معنی دار در تعداد میکروب زنده مانده در هر دو روش اهمیک و سنتی مشاهده می شود. در مقایسه اثر متقابل مدت و زمان ملاحظه می شود در زمان های ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه بین دو تیمار حمام آب و اهمیک در هر بازه زمان اختلاف آماری معنی داری در سطح احتمال ۵٪ $p > 0.05$ وجود ندارد، برخلاف آن در زمان های ۱۲۰ و ۱۵۰ ثانیه، بین تیمار اهمیک و حمام آب اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵٪ $p < 0.05$ وجود دارد (نمودار ۴)

در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد (نمودار ۵) بین سه تیمار شاهد حمام آب، ۳۰ ثانیه اهمیک و ۶۰ ثانیه اهمیک و همچنین بین

log از میکروارگانیزم های بیماری زا که قادر به رشد در محصول هستند شرایط ۶۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲۰ ثانیه برای برآوردن حداقل نیاز پاستوریزاسیون در هر دو روش اهمیک و حمام آب کافی است. مقایسه زمان افزایش دما پیش از پاستوریزاسیون هر دو روش اهمیک و حمام آب داغ این نکته حائز اهمیت است که در همه موارد زمان افزایش دمای روش حمام آب بیشتر از روش اهمیک بوده و در این حین حرارت دهی انجام شده است و اثر کشندگی وجود داشته است. اهمیک به دلیل صرف مدت زمان خیلی کوتاه‌تر برای رسیدن به دمای مورد نظر فرآیند و پاستوریزاسیون کامل علاوه بر صرفه در وقت که در صنعت نشان‌گر تولید بیشتر در یک بازه زمانی مشخص و کاهش هزینه‌ها می‌باشد، بیان‌گر صرفه‌جویی در انرژی نیز می‌باشد. در صنعت در اکثر مواقع برای تولید بخار آب و ایجاد حرارت در بویلر ها از سوخت‌های فسیلی استفاده می‌شود ولی برخلاف آن اهمیک دوستدار محیط زیست بوده و با مصرف کمتر انرژی و زمان کمتر باعث حفظ مواد مغذی و افزایش کیفیت محصول می‌شود.

بین تمام تیمارهای اهمیک و حمام آب شاهد و زمان های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه به طور جداگانه اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال $p > 0.05$ وجود دارد بر خلاف آنها بین چهار تیمار آخر یعنی اهمیک و حمام آب ۱۲۰ ثانیه و ۱۵۰ ثانیه هیچ اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. در این دما با نگاه کلی اگرچه بین تیمار های شاهد حمام آب و اهمیک ۳۰ ثانیه و همچنین حمام آب ۶۰ ثانیه و اهمیک ۹۰ ثانیه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما بین دو تیمار اهمیک و حمام آب ۱۲۰ ثانیه با تمام نمونه های زمان های ماقبل آن اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال $p > 0.05$ وجود دارد. همچنین این نتایج با نتایج کشانی و همکاران (۲۰۲۰) در یک راستا می‌باشد [۲۳].

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش هدف غیر فعال‌سازی فرم رویشی باکتری *اشرشیاکلی* در آب‌هویج است. با توجه به لزوم کاهش ۵

۵- منابع

- [1] Karamian, A., hazbavi, i., & Shahbazi, F. (2019). Behavior of ohmic heating of carrot juice affected by electrode and voltage gradient. *Innovative Food Technologies*, 7(1), 31-40. <https://doi.org/10.22104/jift.2019.3199.1769>
- [2] Mahmoodi, M. J., & Azadbakht, M. (2019). Investigating the effects of blanching and ohmic heating at microwave drying on some quality characteristics of carrot slices. *Innovative Food Technologies*, 6(2), 247-256. <https://doi.org/10.22104/jift.2018.3130.1750>
- [3] Pokhrel, P. R., Toniazzo, T., Boulet, C., Oner, M. E., Sablani, S. S., Tang, J., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2019). Inactivation of *Listeria innocua* and *Escherichia coli* in carrot juice by combining high pressure processing, nisin, and mild thermal treatments. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 54, 93-102. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.03.007>
- [4] Müller, W. A., Ferreira Marczak, L. D., & Sarkis, J. R. (2020). Microbial inactivation by ohmic heating: Literature review and influence of different process variables. *Trends in Food Science & Technology*, 99, 650-659. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.021>
- [5] Lee, J.-Y., Kim, S.-S., & Kang, D.-H. (2015). Effect of pH for inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in orange juice by ohmic heating. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1, Part 1), 83-88. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.01.020>
- [6] Shao, L., Tian, X., Yu, Q., Xu, L., Li, X., & Dai, R. (2019). Inactivation and recovery kinetics of *Escherichia coli* O157:H7 treated with ohmic heating in broth. *LWT*, 110, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.062>
- [7] Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Wu, T., Hashim, M. M., Lei, S., Zhu, X., & Zeng, X. (2014). Quality of carrot juice as influenced by blanching and sonication treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.007>
- [8] Hashemi, S. M. B., Mahmoudi, M. R., Roohi, R., Torres, I., & Saraiva, J. A. (2019). Statistical modeling of the inactivation of spoilage microorganisms during ohmic heating of sour

- orange juice. *LWT*, 111, 821-828. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.077>
- [9] Gamboa-Santos, J., et al. (2012). "Effects of conventional and ultrasound blanching on enzyme inactivation and carbohydrate content of carrots." *European Food Research and Technology* 234(6): 1071-1079. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1726-7>
- [10] Brochier, B., et al. (2016). "Influence of moderate electric field on inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase and on phenolic compounds of sugarcane juice treated by ohmic heating." *Lwt* 74: 396-403. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.001>
- [11] Gomes, C. F., et al. (2018). "Ohmic blanching of Tetsukabuto pumpkin: Effects on peroxidase inactivation kinetics and color changes." *Journal of Food Engineering* 233: 74-80. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.001>
- [12] Zhang, Y., Wang, Y., Zhou, L., & Liao, X. (2010). A comparative study of inactivation of peach polyphenol oxidase and carrot polyphenol oxidase induced by high-pressure carbon dioxide. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(11), 2297-2305. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02403.x>
- [13] Bikle, D. D., Siiteri, P. K., Ryzen, E., Haddad, J. G., & Gee, E. (1985). Serum Protein Binding of 1,25-Dihydroxyvitamin D: A Reevaluation by Direct Measurement of Free Metabolite Levels*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 61(5), 969-975. <https://doi.org/10.1210/jcem-61-5-969>
- [14] Dai, Y., Wen, Z., Ye, T., Deng, G., Zhang, M., Deng, Q., et al. (2018). Empirical treatment with non-anti-tuberculosis antibiotics decreased microbiological detection in cervical tuberculous lymphadenitis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 92(3), 245-249. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.06.008>
- [15] Crone, P. B. (1948). The counting of surface colonies of bacteria. *Epidemiology and Infection*, 46(4), 426-430. <https://doi.org/10.1017/S0022172400036603>
- [16] Buttiaux, R., Samaille, J., & Pierens, Y. (1957). Identification of Coliform Bacteria Isolated from Water. Eijkman Test and Production of Indole at 44°C. IMViC Tests. [L'identification des Escherichae des eaux. Test d'Eijkman et production d'indole à 44°C. Tests I.M.V.I.C.]. *Ann. Inst. Pasteur, Lille*, 8, 137-149. <https://doi.org/10.5555/19572702971>
- [17] Abbasi, Z., Jafari, M., & Fazel, M. (2019). Potential of microencapsulation to protect ascorbic acid under different temperature and pH during heating process. *Brazilian Journal of Technology*, 2(2), 573-589. <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJT/article/view/2067>
- [18] Kedia, P., Badhe, Y., Gupta, R., Kausley, S., & Rai, B. (2023). Modeling the effect of pH on the permeability of dried chitosan film. *Journal of Food Engineering*, 358, 111682. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111682>
- [19] Knirsch, M. C., Alves dos Santos, C., Martins de Oliveira Soares Vicente, A. A., & Vessoni Penna, T. C. (2010). Ohmic heating – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(9), 436-441. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.06.003>
- [20] Mokhtari, M., Zamindar, N., Zia, M., Doudi, M., & Ghasemi Sepero, N. (2024). Inactivation of *Byssoschlamys fulva* during ohmic heating of tomato juice. *Food Science and Technology International*, 10820132231222509. <https://doi.org/10.1177/10820132231222509>
- [22] USFDA. 2018. Small Entity Compliance Guide: Juice HACCP. Available from: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/small-entity-compliance-guide-juice-haccp> [Accessed 30 November 2018].
- [22] Keshani, M., Zamindar, N., & Hajian, R. (2021). Physicochemical properties of frozen tuna fish as affected by immersion ohmic thawing and conventional thawing. *Food Science and Technology International*, 28(8), 728-734. <https://doi.org/10.1177/10820132211056776>
- [23] Keshani, M., Zamindar, N., & Hajian, R. (2020). Effect of Immersion Ohmic Heating on Thawing Rate and Properties of Frozen Tuna Fish. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(5), 621-628. <https://doi.org/10.22067/ifstrj.v16i5.82797>



Scientific Research

Investigating the effect of ohmic and water bath heating on surviving of *Escherichia coli*

Syedramin Rafiaei¹, Nafiseh Zamindar^{r*},

1- Master Student, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/4/4

Accepted:2024/9/28

Keywords:

Inactivation,
Escherichia coli,
carrot juice,
Ohmic heating.

DOI: 10.22034/FSCT.22.158.50.

*Corresponding Author E-
n.zamindar@khuisf.ac.ir

Carrot juice has a very short shelf-life after production. Pasteurization is a suitable way to preserve and commercialize this product. In this study, an ohmic device was used as a heat source and *Escherichia coli* was chosen as an indicator of the effectiveness of bacterial inactivation for pasteurization. Fresh carrot juice was subjected to 3 temperature levels of 48, 55, and 62°C and 6 time levels of 0, 30, 60, 90, 120, and 150 seconds at a constant voltage of 100 volts under thermal processing and the number of surviving bacteria was investigated. Conventional hot water bath pasteurization was also performed and compared with the ohmic method, which proved the greater efficiency of the ohmic method. Ohmic pasteurization not only prevents waste of time and energy but also leads to the inactivation of bacterial vegetative forms in a very short time at high speed. The changes in surviving bacteria with increasing temperature and time were significant at the 1% probability level using a completely randomized method. At 62°C, the best result for *Escherichia coli* was obtained.