



طراحی و ساخت سیستم فرآوری آبلیمو توسط میدان الکتریکی پالسی و ارزیابی ویژگی‌های کیفی آن

عادل دزیانی^۱، امان محمد ضیایی فر^{۲*}، سید مهدی جعفری^۳، سارا آقاجان زاده^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۲- دکتری، دانشیار، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳- دکتری، استاد، گروه مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- دکتری، دکتری مهندسی مواد و طراحی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۵

کلمات کلیدی:

آبلیمو،

میدان الکتریکی پالسی،

آنزیم PME،

آسکوربیک اسید،

کدورت .

آبلیمو فرآورده غیر تخمیری با اسیدیته بالا و منبع غنی از اسید آسکوربیک و ترکیبات فنلی می‌باشد که از فعالیت رادیکال‌های آزاد در بدن جلوگیری می‌کند. امروزه به منظور حفظ کیفیت محصول از روش‌های نوین غیرحرارتی جهت فرآوری ماده غذایی استفاده می‌شود. هدف از این پژوهش طراحی و ساخت سیستم مداوم میدان الکتریکی پالسی (PEF) و تأثیر آن بر میزان تخریب آنزیم پکتین متیل استراز و محتوای اسید آسکوربیک و ترکیبات فنلی، اندیس ابری شدن و قهوه‌ای شدن و خصوصیات حسی در آبلیمو می‌باشد. در این پژوهش موج مربعی شکل دوقطبی به عرض ۱۰ میکروثانیه و فرکانس ثابت ۱۰۰۰ هرتز مورد استفاده قرار گرفت. در محفظه فرآوری این دستگاه از دو الکترود از جنس استیل ضدزنگ به طول و ضخامت به ترتیب ۱۰۰ و ۰/۵ میلی‌متر استفاده شد. آبلیمو در مدت ۵۰۰، ۵۷۱، ۶۶۶، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میکروثانیه تحت فرآیند PEF با شدت میدان الکتریکی پالسی ۲۲/۲۲، ۳۳/۳۳، ۴۴/۴۴ و ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر قرار گرفت. به‌طورکلی با افزایش میدان از ۲۲/۲۲ به ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در یک‌زمان ثابت فرآوری میزان تخریب آنزیم PME به‌طور میانگین ۲۵ درصد افزایش یافت. اعمال بالاترین شدت میدان الکتریکی پالسی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه موجب تخریب ۱۴ درصدی اسید آسکوربیک در مقایسه با نمونه تازه شد. با افزایش میدان الکتریکی پالسی میزان کدورت نمونه و اندیس قهوه‌ای شدن افزایش یافت. استفاده از میدان الکتریکی پالسی با شدت بالا موجب افزایش میزان تخریب آنزیم PME و حفظ کدورت در محصول فرآوری شده در مقایسه با نمونه تازه شد. حفظ خصوصیات حسی آبلیمو فرآوری شده با PEF در مدت‌زمان نگهداری نشان داد که استفاده از روش غیرحرارتی میدان الکتریکی پالسی می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد امیدوارکننده در فرآوری محصولات غذایی باشد.

DOI: 10.22034/FSCT.19.132.33
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.3.6

* مسئول مکاتبات:

ziaiifar@gmail.com

۱- مقدمه

میوه لیمو یکی از مرکبات مهم از بعد اقتصادی در ایران می‌باشد که امروزه در تمام دنیا مصرف می‌گردد. در میوه لیمو ترکیبات بیواکتیو مهمی وجود دارد. مهم‌ترین این ترکیبات، اسید آسکوربیک، فلاونوئید ها، لیمونوئید و انواع فیتواسترول ها می‌باشد. از ترکیبات فلاونوئیدی مهم در لیمو روتین می‌باشد که از فعالیت‌های رادیکال‌های آزاد در بدن جلوگیری می‌کند و همچنین دارای خواص ضدالتهاب، ضد حساسیت و ضد میکروبی می‌باشد. آب‌لیمو^۱ فرآورده غیرتخمیری است که با روش‌های مکانیکی از آندوکارپ میوه تازه، رسیده و سالم لیموترش به دست می‌آید. اسیدیته آب‌لیمو ۵/۵ (اسیدسیتریک) و $\text{pH} = 2.3 - 2.8$ می‌باشد. آب‌لیمو به‌عنوان طعم‌دهنده در غذاها و همچنین در تهیه انواع نوشابه‌های گازدار استفاده می‌گردد. در بسیاری از مناطق دنیا از آب‌لیمو در درمان بسیاری از بیماری‌ها استفاده می‌گردد. آب‌لیمو منبع غنی از ویتامین ث یا اسید آسکوربیک می‌باشد که در حدود ۱۰/۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم تخمین زده شده است [۱].

افزایش زمان ماندگاری مواد غذایی به‌طور سنتی با فرآوری حرارتی به‌تنهایی یا توأم با روش‌های نگهداری شیمیایی و بیوشیمیایی امکان‌پذیر شده است. با این وجود فرآوری حرارتی تا حدودی کیفیت محصول و تازگی آن را کاهش می‌دهد؛ بنابراین روش فرآوری ایده آل فرایندی است که با حداقل آسیب به ساختار و افت ترکیبات مغذی در محصول، میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های مخرب را غیرفعال ساخته و واکنش‌های تخریب‌کننده را متوقف سازد. امروزه استفاده از فرایندهای غیرحرارتی نوین از جمله میدان‌های پالس الکتریکی جهت جلوگیری از کاهش کیفیت آب‌میوه نسبت به فرایند حرارتی مرسوم به‌عنوان یک رویکرد امیدوارکننده موردتوجه قرار گرفته است. پایین بودن pH در برخی میوه‌های از جمله آب‌لیمو تازه منجر به حفظ آن از رشد باکتری‌های بیماری‌زا می‌گردد. این در حالی است که استفاده از آب‌لیمو در مدت‌زمان طولانی‌تر منجر به مشکلات جدید بهداشت عمومی مرتبط با حضور میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا شده است [۲].

فرآوری میدان الکتریکی پالسی^۲ را می‌توان به‌عنوان جایگزینی بالقوه برای فرایند حرارتی سنتی غذاها در نظر گرفت. فناوری PEF در مقایسه با فرایندهای حرارتی به‌عنوان یک مزیت ارائه شده است، زیرا با حفظ بهتر رنگ، عطر و طعم، بافت و ارزش غذایی محصول حفظ و آنزیم‌های مضر را از بین می‌برد. حساسیت آنزیم‌ها به فرایند PEF به ویژگی‌های سلول مانند ساختار و اندازه بستگی دارد. علاوه بر این، عواملی مانند pH محصول، فعالیت آبی (a_w)، مواد جامد محلول و هدایت الکتریکی بر میزان تخریب آنزیم‌ها را تأثیرگذار است [۳].

فرآوری PEF شامل استفاده از پالس‌های ولتاژ بالا به غذاها مایع یا نیمه جامد است که بین دو الکترود قرار می‌گیرد و به‌موجب آن میدان الکتریکی با شدت زیاد بین دو الکترود تولید می‌شود، شار زیادی از جریان الکتریکی ایجاد می‌شود که از ماده غذایی بدون تغییر قابل‌توجه در مواد مغذی و خواص حسی غذا عبور می‌کند. در فرایند میدان الکتریکی پالسی پاستوریزاسیون مواد غذایی طی میکروثانیه انجام می‌شود. کاربردهای PEF در فرآوری مواد غذایی معمولاً به دو دسته عمده غیر فعال‌سازی میکروبی و آنزیمی جهت افزایش ماندگاری مواد غذایی مایع و بهبود انتقال جرم و بافت در مواد جامد و مایع در نظر گرفته می‌شود. به‌طور کلی اثرات غیر فعال‌سازی PEF در آنزیم‌ها به الکتروپوراسیون غشای سلول و اندامک‌ها بستگی دارد [۴]. اعمال انرژی با استفاده از میدان الکتریکی و ایجاد روزنه در غشای سلول، حفره‌زایی الکتریکی الکتروپوراسیون^۳ می‌گویند. نفوذپذیری غشای سلولی شامل دو مرحله می‌باشد. در ابتدا میدان الکتریکی اعمال‌شده باید تشکیل منافذ را القا کند و ثانیاً، منافذ باید به‌اندازه کافی پایدار باشد. به‌طور معمول، غذا بین دو الکترود و در معرض یک میدان الکتریکی به‌صورت پالس‌های بسیار کوتاه (چند میکروثانیه) و ولتاژ بالا (کیلوولت) قرار می‌گیرد. یک الکترود به یک کلید ولتاژ بالا و دیگری به زمین متصل است. قدرت میدان الکتریکی (E) تولید شده بین جفت الکترودها را می‌توان با تقسیم ولتاژ اعمال‌شده U بر فاصله بین الکترودهای d (یعنی $E = U / d$) تخمین زد. قدرت میدان الکتریکی، درجه حرارت تیمار، زمان و انرژی ویژه ورودی اصلی‌ترین پارامترهای

2. Pulsed Electric Field (PEF)

3. Electroporation

1. Key lime juice

تأثیر قابل توجهی بر میزان پایداری ابری شدن آب میوه دارد. آنزیم PME، پکتین متوکسیله شده را استریفه می کند که باعث از بین رفتن حالت ابری شدن در آب میوه می شود. برای تضمین ایمنی محصولات غذایی با اسید بالا مانند آب مرکبات، به فرآوری پاستوریزاسیون در دمای بین ۶۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد نیاز است. عملیات حرارتی با شدت بالا منجر به ایجاد یک رنگ مایل زرد درخشان می شود که در طول مدت زمان نگهداری حفظ می شود [۱۰].

کومار و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که استفاده از میدان الکتریکی پالسی با شدت ۳۸ کیلوولت بر سانتی متر در مدت زمان ۲۴ میکروثانیه و فرکانس ۱۰۰ هرتز تأثیری قابل توجهی بر محتوای اسید آسکوربیک و رنگ نکتر انبه نداشت این درحالی که استفاده از تیمار حرارتی در حمام آب گرم (دمای 95°C به مدت ۱۰ دقیقه) موجب کاهش محتوای این ویتامین و بروز تغییرات نامطلوب رنگ محصول شد [۱۱]. همچنین مشاهده شد که تیمار آب کلم بروکلی با استفاده از PEF (۳۵ kV/cm، ۱۰۰ Hz و ۲۰۰۰-۵۰۰) موجب حفظ بیشتر محتوای آسکوربیک اسید در مقایسه با فرآوری حرارتی به روش مرسوم در دمای 90°C به مدت ۱ دقیقه شد [۱۲]. وییو و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که فرآیند PEF یکی از بهترین روش های فرآوری جهت حفظ اسید آسکوربیک در نمونه آب سیب در مقایسه با آب سیب تازه بود. این در حالی است که به دلیل واکنش های تخریب اکسیداتیو، میزان اسید آسکوربیک نمونه های تحت فرآیند در طول ذخیره سازی به طور قابل توجهی کاهش یافت. در مقدار اسید آسکوربیک آب میوه فرآوری شده با PEF و نمونه تازه تغییرات معنی داری مشاهده نشد [۱۰].

در این پژوهش سیستم PEF طراحی و ساخته شده است و تأثیر زمان و شدت های مختلف میدان الکتریکی پالسی بر میزان تخریب آنزیم پکتین متیل استراز، اسید آسکوربیک و کدورت و رنگ طی فرآوری آب لیمو مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش

۲-۱- تهیه و آماده سازی آب لیمو

لیموها (*Citrus aurantiifolia*) پس از شست و شو، قطعه قطعه

پردازش مؤثر بر درجه غیر فعال سازی میکروبی و آنزیمی هستند [۵]. در این روش با قرار دادن غذا در یک اتاقک به همراه دو الکترود که پالس های الکتریکی کوتاه ایجاد می شود موجب غیرفعال شدن میکروارگانیسم و آنزیم ها در نتیجه افزایش مدت زمان نگهداری غذای فرآیند شده با حداقل اثر بر کیفیت آن ها می شود. میزان این اثر به شدت میدان الکتریکی، زمان فرآیند، شکل موج و دمای فرآیند وابسته است.

تغییرات ساختاری در آنزیم ها پس از فرآیند PEF توسط یئوم و همکاران (۱۹۹۹) مشاهده شد [۶]. اما هنوز مکانیسم غیر فعال سازی آنزیم ها توسط فرآیند PEF به خوبی درک نشده است. دو اثر الکتروشیمیایی و حرارتی مرتبط با PEF به صورت جداگانه یا هم افزایی منجر به تغییر در ساختار و ترکیب آنزیم ها و غیرفعال شدن آن می شود [۷]. ساختار پروتئین ها با تعادل بین پیوندهای پپتیدی کووالانسی و غیر کووالانسی از جمله پیوندهای هیدروژنی، هیدروفوبیکی، الکترواستاتیکی و واندروالسی تثبیت می شود. استفاده از میدان های الکتریکی خارجی موجب تخریب زنجیره های پپتیدی حاصل از واکنش های الکترواستاتیک می شود. علاوه بر این فرآیند PEF موجب تحریک الکترولیز و تشکیل رادیکال های آزاد می شود. در نتیجه موجب تغییر pH در محیط های مایع و اکسیداسیون اسیدهای آمینه ضروری برای بقای آنزیم ها می گردد [۸]. یوم و دیگران (۲۰۰۰) تقریباً ۹۰ درصد غیرفعال شدن آنزیم پکتین متیل استراز^۴ در آب پرتقال را با اعمال میدان الکتریکی پالسی با شدت ۳۵ کیلوولت بر سانتی متر برای مدت زمان تیمار ۵۹ میکروثانیه و دمای خروجی تقریباً 60°C گزارش کردند [۹].

پایداری حالت ابری نقش مهمی در ظاهر و ایجاد احساس دهانی مناسب دارد. طبق قانون استوکس قطر ذرات، تراکم ذرات و ویسکوزیته از دیگر عوامل تأثیرگذار بر سرعت رسوب و در نتیجه ثبات حالت ابری شدن دارد. کدورت به طور مثبت بر رنگ و خصوصیات ارگانولپتیک آب مرکبات تأثیر می گذارد. غشا و ترکیبات با وزن مولکولی بالا، مانند پکتین، در پارگی سلول های اندوکارپ در طی روش های استخراج مکانیکی، در آب مرکبات معلق می شود. پکتین، یک پلیمر مشتق شده از اسید- قند است که

4. Pectin methylesteras (PME)

سانتی‌متر در بازه زمانی ۵۰۰، ۵۷۱، ۶۶۶، ۸۰۰، ۱۰۰۰ میکروثانیه به محصول اعمال شد. نمونه‌ها بلافاصله بعد از تیمار PEF در حمام آب یخ تا رسیدن به دمای محیط خنک شدند. نمای شماتیک دستگاه میدان الکتریکی پالسی در شکل ۱ نشان داده شده است.

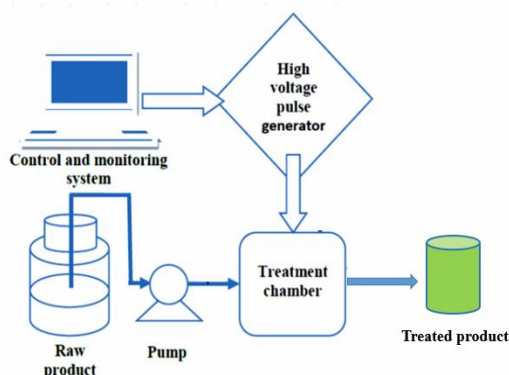


Fig 1 Schematic diagram of the system of PEF apparatus

۳-۲-۳-۲ آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۳-۲-۱-۳-۲ میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز

در این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز^۵ از روش ارائه شده توسط کیم بال (۱۹۹۱) استفاده شد. در این روش میزان اسید تولیدشده به‌عنوان معیاری جهت اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در نظر گرفته می‌شود. ابتدا در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری، ۲۰ میلی‌لیتر محلول نمکی پکتین (محلول یک لیتری حاوی ۱۰ گرم پکتین و ۱۵/۳ گرم نمک سدیم کلرید) به ۵ میلی‌لیتر آب‌لیمو فرآوری شده اضافه شد. با توجه به تأثیر دما بر تعیین فعالیت این آنزیم، بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری حاوی نمونه طی انجام آزمون داخل یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی آب قرار داده شد. همچنین دمای نمونه با استفاده از همزن مغناطیسی به‌صورت یکنواخت روی ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و حفظ گردید. جهت افزایش دقت انجام آزمایش نیاز است با استفاده از یک محلول قلیایی (سدیم هیدروکسید) pH نمونه به محدوده‌ی خشی رسانده شود. پس از رساندن pH محلول با استفاده از سود ۲ نرمال به حدود ۷، با کمک سود رقیق‌تر (۰/۰۵ نرمال) pH

شده و سپس با استفاده از دستگاه آب‌میوه‌گیری، آبگیری و درنهایت صاف (مش ۱۷۰) می‌گردد. آزمون‌های فیزیکی و شیمیایی بلافاصله پس از فرآوری نمونه انجام شد.

۲-۲-۲ طراحی و ساخت دستگاه PEF

شکل ۱-۲ تصویر شما تیک سیستم فرآوری میدان الکتریکی پالسی را نشان می‌دهد. در این دستگاه از پمپ پیستونی مجهز به چهار سرنگ (حجم ۶۰ میلی‌لیتر) و با قابلیت تنظیم دبی جهت انتقال آب‌میوه به محفظه اصلی فرآیند استفاده شد. در پمپ از یک موتور با توان ۱۲ وات به‌منظور تأمین نیروی محرکه سیستم استفاده شد. انرژی الکتریکی موردنیاز سیستم در این دستگاه توسط یک مولد فرکانس با قابلیت تغییر ولتاژ و عرض پالس تعبیه شده است. تغییر ولتاژ در این دستگاه توسط یک واریاک ۵۰۰ ولت-آمپر صورت می‌گیرد که ولتاژ ورودی آن ۲۲۰ ولت تک فاز و خروجی آن از ۰ تا ۳۰۰ ولت قابل تغییر می‌باشد. از واریاک به‌عنوان منبع توان دستگاه استفاده می‌شود. تغییر فرکانس و عرض پالس با استفاده از یک مدار الکترونیکی با مسافت‌های قدرت irfp460 که به‌صورت پل اچ بسته شده‌اند صورت می‌گیرد. ولتاژ خروجی از واریاک به‌صورت متناوب وارد یک پل دیودی می‌شود و بعد از یکسو شدن در خازن ذخیره می‌شود. با ورود این جریان مستقیم به مدار سویچینگ که از ۱۲ ماسفت تشکیل شده است و خاموش و روشن شدن ماسفت‌ها در فرکانس موردنظر جریان به‌صورت پالس‌های مربعی از خروجی دستگاه خارج می‌شود. پالس‌های خروجی قابلیت تنظیم به‌صورت تک‌قطبی و دوقطبی را دارد. در سیستم فرمان الکترونیک از یک میکروپروسسور AVR استفاده شده است که فرکانس، عرض پالس و تعداد پالس اعمال‌شده به نمونه را تنظیم می‌کند. در محفظه فرآوری این دستگاه از دو الکترود از جنس استیل ضدزنگ (۳۱۴) به طول و ضخامت به ترتیب ۱۰۰ و ۰/۵ میلی‌متر استفاده شد. دو الکترود به‌صورت موازی با فاصله مشخص ۰/۴۵ میلی‌متر روبروی هم قرار داده می‌شود. شدت میدان الکتریکی (E)، به‌صورت نسبت اختلاف پتانسیل الکتریکی (kV)، برای دو الکترود به فاصله (d) تعیین می‌گردد. از این جهت با تنظیم ولتاژ خروجی دستگاه، میدان الکتریکی پالسی با شدت‌های ۲۲/۲۲، ۳۳/۳۳، ۴۴/۴۴ و ۵۵/۵۵ کیلوولت بر

۲-۳-۴- اندیس قهوه‌ای شدن

برای بررسی رنگ نمونه‌های آب‌لیمو تازه و فرآوری شده از روش پردازش تصویر^۷ استفاده شد. بدین منظور از یک اسکنر^۸ پوشانیده شده با پارچه کاملاً سیاه و ضخیم به منظور ایجاد محیطی کاملاً ایزوله جهت عکس‌برداری و جلوگیری از ایجاد خطا به دلیل تغییر مقدار نور محیط و زاویه تابش استفاده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه به یک پتری دیش^۹ (با ارتفاع و قطر به ترتیب یک و نه سانتی‌متر) انتقال یافت و عکس‌برداری طبق روش گفته‌شده انجام شد. تصاویر با وضوح ۶۰۰ dpi و با فرمت JPEG ذخیره شدند. پس از انتقال تصاویر به رایانه مقادیر a^* ، b^* و L^* نمونه‌ها با استفاده از نرم‌افزار Image J نسخه (۱/۴۷) استخراج گردید. تغییرات اندیس قهوه‌ای شدن^{۱۰} (BI) طبق معادلات ۳ و ۴ محاسبه شد [۱۵].

$$x = \frac{a^* + 1.75L^*}{5.64L^* + a^* - 3.012b^*}$$

$$BI = \frac{100 \times (x - 0.31)}{0.17}$$

۲-۳-۵- اندازه‌گیری فنا کل

پلی فنل های موجود در آب‌لیمو به روش رنگ سنجی با معرف اولین سیوکالتیو به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. فسفونگستیک موجود در معرف که اسید به فرمول شیمیایی H3PW12O40 احیاکننده است، گروه هیدرو کسی فنا اکسید شده را سریعاً احیاء کرده و در پایان رنگ آبی ایجاد شد که حداکثر جذب آن در طول موج ۷۸۰ نانومتر می‌باشد. در این آزمون، گالیک اسید به عنوان ترکیبی برای اندازه‌گیری پلی فنل ها در آب‌لیمو، در تهیه منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت [۱۶].

۲-۳-۶- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های آب‌لیمو توسط ۱۰ نفر از داوران حسی ۵ نفر مرد و ۵ نفر زن در رده سنی ۳۰-۴۰ سال انجام شد و قبل از انجام آزمون، به داوران آموزش‌های لازم داده و نمونه‌ها بر اساس پذیرش کلی، رنگ، بو، ترشی و ظاهر محصول در یک

محلول معادل ۷/۷ تنظیم شد. پس‌از آن ۰/۱ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ نرمال به صورت یک‌باره به نمونه اضافه شد. زمان مورد نیاز جهت تولید اسید ناشی از فعالیت آنزیم بر گروه کربوکسیل موجود در ساختار پکتین و خشی کردن افزایش pH ناشی از افزودن ۰/۱ میلی‌لیتر سود ثبت شد. با جایگذاری زمان برگشت pH به میزان ۷/۷ در معادله ۳-۱ میزان فعالیت این آنزیم بر حسب (PEU/ml) محاسبه شد [۱۳].

$$PEU = \frac{N \times V_{NaOH}}{t \times V_{juice}}$$

در معادله فوق N ، V_{NaOH} ، t ، V_{juice} به ترتیب معادل نرمالیه سود، حجم سود افزوده شده (میلی‌لیتر)، زمان ثبت شده (دقیقه) و حجم آب‌میوه (میلی‌لیتر) است.

۲-۳-۲- میزان اسید آسکوربیک

در این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک از روش تیتراسیون ید (یدومتري) استفاده شد. جهت آماده‌سازی محلول ید ابتدا ۵ گرم پتاسیم یدید و ۰/۲۶۸ گرم پتاسیم یدات در بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری با ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی حل شد و سپس به محلول حاصل ۳۰ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۳ مولار اضافه گردید. در انتها حجم محلول با آب مقطر به حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. به منظور اندازه‌گیری میزان اسید آسکوربیک بر اساس این روش، ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر آب‌لیمو با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. محلول حاصل پس از افزودن یک میلی‌لیتر محلول شاخص نشاسته ۱ درصد، با محلول ید تا ظهور رنگ آبی سیاه تیترا شد. میزان میلی‌گرم اسید آسکوربیک در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه بر اساس معادله ۲-۳ محاسبه شد [۱۴].

= میزان اسید آسکوربیک (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه)

حجم معرف مصرفی $\times 0/88$

۲-۳-۳- اندیس ابری شدن (میزان کدورت)

جهت اندازه‌گیری اندیس ابری شدن (میزان کدورت)، ۵ میلی‌لیتر آب‌لیمو به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط ($25^\circ C$) سانتریفوژ (۳۰۰۰ rpm) شد. سپس جذب محلول فوقانی نمونه‌ی سانتریفوژ شده در اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر قرائت شد که این میزان نشان‌دهنده‌ی میزان کدورت نمونه است [۱۵].

با PEF دمای آب‌لیمو بر اثر وقوع حرارت دهی اهمیک و اعمال میدان الکتریکی پالسی با شدت بالا افزایش یافت. بر این اساس تغییرات دمای خروجی نمونه پس از عبور از میدان الکتریکی پالسی ثبت شد. کمترین میزان تغییرات دما در میدان الکتریکی پالسی ۲۲/۲۲ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۵۰۰ میکروثانیه، 2°C و بیشترین میزان تغییرات دما در میدان الکتریکی پالسی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه 27°C مشاهده شد. به‌طورکلی با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی میزان افزایش دما در فرآوری PEF به‌طور چشمگیری افزایش یافت ($p < 0.05$). این در حالی است که تغییرات زمان تأثیر معنی‌داری بر افزایش دما نداشت ($p > 0.05$). این نتایج با پژوهش‌های انجام‌شده طی فرآوری آب‌پرتقال با PEF مشاهده شد [۱۹، ۲۰].

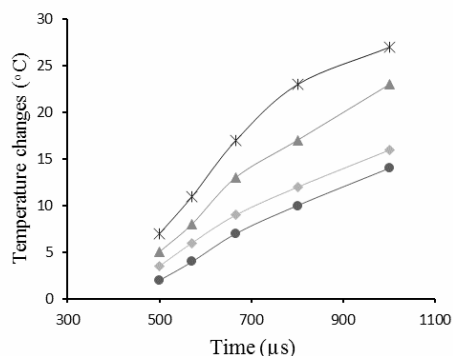


Fig 2 Temperature changes in PEF processing

میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز^{۱۱} (PEU) در آب‌لیمو تازه ۰/۰۰۱۳ بود. نتایج حاصل از آنالیزهای آماری نشان داد که اعمال میدان‌های الکتریکی پالسی با شدت‌های بالاتر تأثیر معنی‌داری بر میزان تخریب آنزیم PME داشت ($p < 0.05$). حداکثر تغییرات دمایی نمونه در بالاترین شدت میدان (۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر) و زمان فرآیند ۱۰۰۰ میکروثانیه بود. علت افزایش دما در حین فرآیند PEF به فرآیند اهمیک نسبت داده می‌شود. افزایش دمای نمونه با یافته‌های یثوم و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت داشت [۱۹]. در پژوهش وی افزایش دمای نمونه آب‌پرتقال در حین فرآیند PEF، 31°C گزارش شد. علاوه بر این دمای خروجی آب نارنگی حاصل از فرآوری PEF در

مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای از ۱ دوست‌نداشتن تا ۵ دوست داشتن مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها آب‌میوه تازه و آب‌میوه فرآوری شده در لیوان یک‌بارمصرف سفیدرنگ بعد از فرآوری با کدهای ۳ رقمی به همراه یک لیوان آب در اختیار گروه ارزیاب‌ها قرار داده شدند. ویژگی‌های حسی آب‌لیمو نگه‌داری شده در بطری‌های شیشه‌ای در دمای 4°C و در بازه زمانی ۴۵ و ۹۰ روز مورد بررسی قرار گرفت [۱۷].

۲-۴- مدل آماری طرح و تجزیه و تحلیل داده‌ها

بررسی اثر فرآیند بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پارامترهای سینتیکی محصول پنج سطح زمان و سه سطح شدت میدان الکتریکی بر میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز، میزان اسید آسکوربیک، اندیس ابری شدن و میزان قهوه‌ای شدن رنگ آب‌لیمو فرآوری شده به‌کاربرده شد. داده‌های حاصل آزمون‌های فیزیکوشیمیایی در سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی و با آزمون دانکن در سطح معناداری ۹۵ درصد انجام شد. آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها، به کمک نرم‌افزارهای و Microsoft excel 2013 صورت پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خواص فیزیکوشیمیایی آب‌لیمو تازه

برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب‌لیمو تازه در جدول ۱ اندازه‌گیری شد [۱۸].

Table 1 physico-chemical properties of fresh key lime juice

composition	content
pH	2.4
Density(kg/m ³)	1.46
Soluble Solid (gr/100)	7.8
Acidity (gr/100)	5.68
Ash (gr/100)	3.46

۳-۲- غیر فعال‌سازی آنزیم پکتین متیل استراز با

استفاده از PEF

بر اساس نتایج ارائه‌شده در شکل ۲ مشخص شد که طی فرآوری

11. Pectin-Esterase-Unit

میکروثانیه توسط یثوم و همکاران (۲۰۰۰) گزارش شد [۱۹]. رودریگو و همکاران (۲۰۰۳) با اعمال میدان الکتریکی پالسی ۲۵ کیلوولت بر سانتی‌متر به مدت ۳۴۰ میکروثانیه برای مخلوط آب هویج - پرتقال به غیر فعال‌سازی ۸۰ درصدی از آنزیم PME رسیدند [۲۴] (شکل ۳).

غیرفعال کردن آنزیم PME در منابع مختلف گیاهی (پرتقال، هویج، موز)، بعد از تیمار PEF (زمان کل ۱/۶ میلی‌ثانیه و قدرت میدان الکتریکی ۱۹/۱ کیلوولت بر سانتی‌متر) مورد بررسی قرار گرفت. غیر فعال‌سازی آنزیم PME در پرتقال، گوجه، هویج و موز به ترتیب ۸۷، ۸۷ و ۸۳ درصد مشاهده شد [۲۵]. در غیرفعال شدن آنزیم اولین اتفاقی که رخ می‌دهد باز شدن ساختار پروتئین است. این تغییرات از نوع کووالانسی بوده که منجر به تغییرات کنفورماسیونی^{۱۲} در ساختار مخصوص پروتئین می‌شود. ساختار دوم و سوم آنزیم‌ها توسط پیوندهای هیدروژنی تثبیت شده است که تغییر آن‌ها توسط میدان‌های پالس الکتریکی ممکن است منجر به دناتوراسیون ساختار آلفا هلیکس^{۱۳} پروتئین و در نتیجه به هم ریختن ساختمان تترامر^{۱۴} آنزیم می‌شود؛ مطالعات زیادی حاکی از تخریب ساختار مارپیچ آلفا توسط

PEF شده است. همچنین رابطه مستقیم بین از دست دادن ساختار مارپیچ آلفا و غیرفعال شدن آنزیم وجود دارد. فرآیند PEF سبب تغییر در پروفایل اسیدآمینه در آب انگور نشده است که این امر بیانگر عدم تأثیر PEF بر ساختار اولیه پپتید و اسیدآمینه می‌باشد. ترفی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که در مدت‌زمان نگه‌داری آب‌میوه فراوری شده با فرآیند PEF، هیچ فعالیت آنزیمی مشاهده نشد. در روش PEF مکان‌های فعال بیشتر بر روی آنزیم و یا برهم‌کنش طولانی‌تر آنزیم با سوبسترا مشاهده می‌شود [۲۶، ۲۰]. علاوه بر این پالس‌ها می‌توانند انرژی فعال‌سازی واکنش را کاهش دهند. مهم‌ترین اثرات فرایند PEF بر ساختار پروتئین شامل جابجایی الکترون آزاد، یون‌ها، سایر ترکیبات باردار، قطبیت جابجایی باند‌ها، الکترون در اتم، در مولکول، چرخش مولکولی و ایجاد دوقطبی لحظه‌ای و در نهایت تغییر ثابت دی‌الکتریک می‌باشد. علاوه بر این افزایش

شدت میدان الکتریکی پالسی ۲۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و زمان فرآیند ۳۳۰ میکروثانیه، 72°C و نمونه آب‌پرتقال فراوری شده با PEF در شدت میدان ۲۳ کیلوولت بر سانتی‌متر و زمان ۳۶ میکروثانیه، 58°C گزارش شد [۲۱]. به‌طور کلی با افزایش میدان از ۲۲/۲۲ به ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در یک‌زمان ثابت فراوری میزان تخریب آنزیم PME به‌طور میانگین ۲۵ درصد افزایش یافت. از این رو می‌توان گفت که بین شدت میدان الکتریکی پالسی و تخریب آنزیم PME ارتباط مستقیمی وجود دارد. علاوه بر این با افزایش زمان اعمال PEF بر نمونه، میزان تخریب آنزیم PME افزایش یافت ($p < 0.05$). به‌طور کلی می‌توان گفت کمترین میزان تخریب آنزیم PME ۲۲/۱ درصد مربوط به شدت میدان ۲۲/۲۲ کیلوولت بر سانتی‌متر و زمان ۵۰۰ میکروثانیه بود و حداکثر میزان تخریب در میدان الکتریکی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و زمان فرآیند ۱۰۰۰ میکروثانیه مشاهده شد که این میزان تخریب ۶۳/۴ درصد بود. اگرچه فراوری PEF یک فناوری غیر گرمایی تلقی می‌شود، اما افزایش دما حین این فرآیند به‌عنوان یک پارامتر مهم تلقی می‌گردد و می‌تواند نقش مهمی در غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها، آنزیم‌ها و همچنین تخریب ترکیبات بیواکتیوهای ناپایدار در گرما داشته باشد. افزایش دما موجب بهبود غیر فعال‌سازی آنزیم PME در حین فرآیند PEF می‌شود. اغلب آنزیم‌ها از جمله آنزیم PME در دمای اتاق در حین فرآیند PEF مقاوم و پایدار می‌باشد. میزان انرژی ورودی و زمان فرآیند تأثیر چشمگیری بر میزان تخریب این آنزیم دارد. با اعمال انرژی ورودی ۴۴ مگاژول در هر لیتر و مدت‌زمان فراوری ۸۰۰۰ میکروثانیه، غیر فعال‌سازی ۹۳/۸ درصد آنزیم PME در گوجه‌فرنگی مشاهده شد. بیشترین افزایش دما در این پژوهش 15°C گزارش شده است [۷، ۱۵، ۲۲]. چنین نتایج مشابهی توسط مارتینز و همکاران (۲۰۰۷) مشاهده شد. استفاده از میدان الکتریکی پالسی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۱۵۰۰ میکروثانیه (۸ مگاژول بر لیتر) موجب افزایش دما 35°C و غیر فعال‌سازی ۷۷ درصد تخریب آنزیم PME شد [۷، ۱۵، ۲۳]. اولین بار تغییرات ساختاری آنزیم‌ها پس از فرآیند PEF توسط یثوم و همکاران در سال ۱۹۹۹ گزارش شد. کاهش ۹۰ درصد آنزیم PME آب‌پرتقال تحت تیمار PEF با شدت میدان الکتریکی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در زمان ۵۹

12. Conformational

13. Alpha Helical

14. Tetrameric

میزان تخریب اسید آسکوربیک به ترتیب مربوط به نمونه فرآوری شده در شدت میدان الکتریکی پالسی ۲۲/۲۲ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۵۰۰ میکروثانیه بود و بالاترین میزان تخریب مربوط به نمونه فرآوری شده در شدت میدان الکتریکی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه بود. تأثیر زمان‌بر تخریب اسید آسکوربیک از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p < 0.05$). در این پژوهش با اعمال بالاترین شدت میدان الکتریکی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه در حدود ۸۶ درصد اسید آسکوربیک حفظ شد. این نتایج با امس و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت داشت. در حدود ۹۹/۹ درصد مقدار اسید آسکوربیک آب هندوانه فرآوری شده با PEF در شدت میدان الکتریکی پالسی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان فرآوری ۵۰ میکروثانیه و فرکانس ۵۰ هرتز حفظ شد که با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی (فرکانس و عرض پالس) بیش از ۵۰ درصد اسید آسکوربیک کاهش یافت [۲۹].

فرآیند PEF یکی از بهترین روش‌های فرآوری غیرحرارتی جهت حفظ بیشتر مقدار اسید آسکوربیک در آب‌میوه‌ها می‌باشد. اسید اسکوربیک یک ترکیب حساس به حرارت و به‌عنوان شاخص کیفیت تغذیه‌ای طی فرآوری مواد غذایی در نظر گرفته می‌شود. در صورت حفظ اسید آسکوربیک در ماده غذایی، سایر ترکیبات مغذی نیز حفظ خواهند شد [۱۰].

به‌طورکلی این موضوع حساسیت حرارتی بالای این ترکیب و اهمیت کنترل فرآیند حین تولید را نشان می‌دهد. دمای بالا منجر به افت اسید آسکوربیک می‌شود. زیرا گرما موجب تسريع فرآیند اکسیداسیون اسید آسکوربیک می‌شود. نتایج حاصل از پژوهش‌های الیز مارتینز و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که ۱۰ درصدی آسکوربیک اسید در نمونه تحت فرآوری PEF تخریب می‌شود که علت آن را به افزایش دما طی فرآوری با PEF بر اثر وقوع حرارت دهی اهمیت نسبت داده شد. تخریب ۱ درصدی اسید آسکوربیک در شدت میدان ۳۵ kV/cm و مدت‌زمان ۱ μs و ۵۹ دمای خروجی ۶۰ °C گزارش کردند [۹]. این در حالی است که ایوندلیک و همکاران (۲۰۰۰) هیچ تغییری در میزان اسید آسکوربیک آب سبب فرآوری شده با PEF مشاهده نکرد. در این پژوهش میدان الکتریکی پالسی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان فرآوری ۹۴ میکروثانیه (دمای خروجی ۳۸ °C) بود

فوری دما در حین پالس ممکن است به دناتوراسیون^{۱۵} آنزیم PME کمک کند. هم‌افزایی بین گرما و PEF که در تعدادی از مطالعات گزارش شده است، به افزایش تحرک گروه‌های باردار در دماهای بالاتر مربوط می‌شود که بر فعل‌وانفعالات الکترواستاتیک و ثبات پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارد. به‌طورکلی غیر فعال‌سازی آنزیم توسط عملیات حرارتی ممکن است به دلیل دناتوراسیون آنزیم می‌باشد که با نتایج کرپنبر و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارد [۲۷، ۲۸].

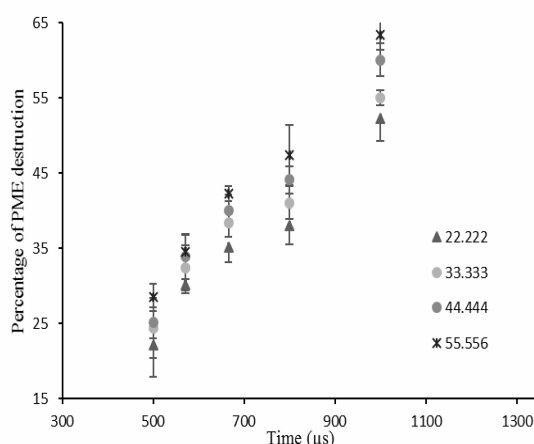


Fig 3 The effect of pulsed electric field and time on PME enzyme destruction in PEF process

۳-۲-۲- اثر فرآوری PEF بر میزان اسید آسکوربیک موجود در آب‌لیمو

در این پژوهش میزان اسید آسکوربیک آب‌لیمو تازه برابر با ۲۲/۲۴ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ گرم عصاره بود. تأثیر شدت میدان الکتریکی پالسی بر میزان تغییرات اسید آسکوربیک طی زمان‌های مختلف فرآوری در شکل ۳-۳ نشان داده است. با افزایش شدت میدان مقدار اسید آسکوربیک در نمونه آب‌لیمو کاهش یافت ($p < 0.05$). به‌طورکلی می‌توان گفت با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی در مدت‌زمان ثابت فرآوری به‌طور میانگین میزان تخریب اسید آسکوربیک ۲/۵ درصد افزایش یافت.

وقتی شدت میدان الکتریکی پالسی افزایش می‌یابد ساختار اسید آسکوربیک از فرم انول به فرم کتو تغییر یافته که منجر به افزایش میزان تخریب اسید آسکوربیک می‌گردد [۲۹ و ۳۸]. پایین‌ترین

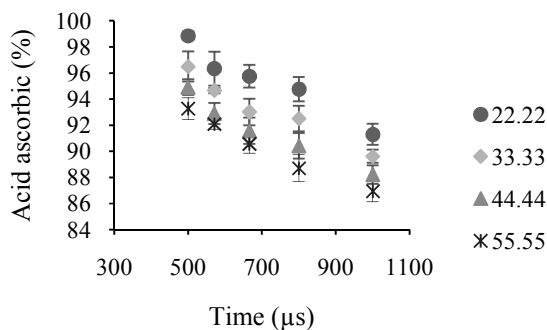


Fig 4 The effect of pulsed electric field and time on acid ascorbic content in PEF process

۳-۲-۳- اثر فراوری PEF بر تغییرات ابری شدن آب‌لیمو

پایداری حالت ابری نقش مهمی در ظاهر و ایجاد احساس دهانی مناسب دارد. کدورت به‌طور مثبت بر رنگ و خصوصیات ارگانولپتیک آب مرکبات تأثیر می‌گذارد. همان‌طور که در شکل ۳-۴ نشان شده است. با افزایش میدان‌های الکتریکی پالسی میزان کدورت نمونه افزایش یافت ($p < 0.05$). علاوه بر این ارتباط مستقیمی بین زمان فراوری و میزان کدورت مشاهده شد ($p < 0.05$).

با افزایش شدت میدان در زمان‌های فراوری (۱۰۰۰، ۸۰۰، ۶۶۶، ۵۷۱، ۵۰۰ میکروثانیه) به‌طور میانگین میزان کدورت ۸ درصد افزایش یافت. این نتایج با پژوهش‌های گزارش‌شده توسط بورج (۱۹۹۷) مطابقت داشت [۳۹]. پکتین، یک پلیمر مشتق شده از اسید-قند است که تأثیر قابل‌توجهی بر میزان پایداری ابری شدن آب‌میوه دارد. آنزیم PME، پکتین متوکسیله شده را استریفه می‌کند که باعث از بین رفتن حالت ابری شدن در آب‌میوه می‌شود. بنابراین ارتباط مستقیم میزان تخریب بین آنزیم PME و تغییرات کدورت در این پژوهش مشاهده شد. کراک و کروپینگ (۲۰۰۶) گزارش کردند که گروه‌های متوکسی مولکول‌های پکتین ممکن است توسط آنزیم و در حضور کاتیون‌های دو ظرفیتی مانند کلسیم یا منیزیم دی‌استریفه نشده و با یون‌ها پیوندهای عرضی ایجاد کرده که منجر به تشکیل ژل و در نتیجه از بین رفتن حالت ابری آب‌میوه می‌شود. بنابراین کاهش ثبات ابری شدن به علت فعالیت آنزیم PME می‌باشد و کمتر به تغییرات اندازه

[۳۰]. چنین نتیجه مشابهی در پژوهش‌های مین و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شد [۳۱]. بنابراین می‌توان تأثیر مخرب افزایش دما در مقایسه با کاهش زمان فرآیند بر کیفیت حسی و تغذیه‌ای آب‌میوه با استفاده از فرآیند PEF با اعمال میدان الکتریکی پالسی یکسان مشاهده کرد. جهت به حداقل رساندن تخریب اسید آسکوربیک در فرآیند PEF دمای خروجی کمتر از 50°C پیشنهاد شده است [۳۲].

حفظ اسید آسکوربیک به‌شدت میدان الکتریکی، زمان فرآیند، فرکانس پالس، عرض پالس در حین فرآیند بستگی دارد. هر چه میزان شدت میدان کمتر و زمان فرآیند کوتاه‌تر باشد میزان حفظ اسید آسکوربیک بیشتر می‌شود. علاوه بر این دوقطبی فرآیند PEF موجب حفظ بیشتر اسید آسکوربیک در مقایسه با تک‌قطبی بودن فرآیند می‌شود. حفظ بیش از ۸۷/۵ درصد اسید آسکوربیک در آب‌پرتقال و ۸۴/۳ درصد برای gazpacho در شدت میدان الکتریکی پالسی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان فرآیند ۱۰۰۰ میکروثانیه گزارش شد [۳۳]. با کاهش زمان فرآیند به ۷۵۰ میکروثانیه ۹۳ درصد اسید آسکوربیک در آب‌پرتقال فراوری شده با شدت میدان الکتریکی پالسی ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر (50°C) افزایش دما حفظ شد [۳۴].

به‌طور کلی حفظ بیشتر اسید آسکوربیک را می‌توان به پایین بودن pH در آب‌لیمو نسبت داد. زیرا اسید آسکوربیک در شرایط اسیدی مقاومت و پایداری بیشتری دارد [۳۵]. تخریب اسید آسکوربیک تحت تأثیر ترکیباتی می‌باشد که در واکنش‌های اکسیداسیون شرکت می‌کنند. علاوه بر این کاهش آسکوربیک اسید در آب‌میوه‌های تازه نیز ناشی از واکنش‌های آنزیمی اکسیداتیو است که توسط آسکوربات اکسیداز و پراکسیداز تسریع می‌یابد [۳۶].

پژوهش‌های بسیاری استفاده از PEF جهت فراوری آب‌میوه‌ها به‌عنوان یک روش نوین و مؤثر جهت حفظ بیشتر این ویتامین در مقایسه با روش مرسوم حرارتی گزارش کردند [۳۷ و ۳۲ و ۹]. که علت آن را به علت پایین‌تر بودن دما و کوتاه بودن زمان فرآیند PEF در مقایسه با فرآیندهای حرارتی نسبت داده می‌شود [۲۳ و ۳۸].

($p < 0.05$). آنالیز واریانس و نیز مقایسه میانگین تغییرات میزان a^* تیمارهای مختلف نشان داد شدت میدان الکتریکی تأثیر معنی‌داری بر این مؤلفه دارد ($p < 0.05$). درحالی‌که مدت‌زمان فرآوری پالس الکتریکی بر این مؤلفه از لحاظ آماری معنی‌داری نبود ($p > 0.05$). به‌طور کلی می‌توان گفت فرآیند PEF به علت کوتاه بودن زمان فرآیند تا حدود زیادی می‌تواند در حفظ ظاهر محصول مشابه آب‌لیمو تازه مفید واقع گردید (شکل ۵-۴ ب). به‌طور کلی مطالعات بسیاری وجود دارد که نشان می‌دهد هیچ تغییری در رنگ نمونه‌های فرآوری شده با PEF از جمله انگور، لیمو، نارنگی و آب‌پرتقال ایجاد نمی‌شود [۴۳ و ۴۲]. الیز مارتینز و همکاران، (۲۰۰۶). علت حفظ بهتر رنگ در فرآیند PEF کاهش میزان تشکیل ۵-هیدروکسی متیل -۲- فورفورال می‌باشد. این ترکیب به‌عنوان شاخص واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی در آب‌میوه‌ها محسوب می‌شود [۳۱].

شکل ۵-۴ ج تغییرات میزان اندیس b^* رنگ آب‌لیمو پس از فرآیند PEF نشان می‌دهد. با تغییر شدت میدان الکتریکی از ۲۲/۲۲ به ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان‌های مختلف فرآوری میزان اندیس b^* افزایش یافت ($p < 0.05$). در مدت‌زمان ثابت فرآوری ۵۰۰ میکروثانیه با افزایش میدان از ۲۲/۲۲ به ۳۳/۳۳، ۴۴/۴۴ و ۵۵/۵۵ میزان تغییرات این مؤلفه نسبت به نمونه شاهد به ترتیب ۰/۷۵، ۱/۲۱، ۵/۴ و ۶/۴۵ درصد مشاهده شد. با افزایش مدت‌زمان فرآوری میزان این مؤلفه افزایش یافت که از لحاظ آماری معنی‌دار نشد ($p < 0.05$). مقدار قرمزی بیشتر در محصولات فرآوری شده با PEF در آب گوجه [۳۱]، آب‌پرتقال [۴۴] و آب نارنگی [۲۹] مشاهده شد.

نتایج حاصل از این پژوهش با قرچی و برزگر، ۲۰۰۹ و پاتراس و همکاران، ۲۰۰۹ مطابقت داشت. نتایج حاصل از پژوهش‌ها نشان داد که آب انار فرآوری شده با PEF دارای مقدار کمتری روشنایی (رنگ تیره‌تر)، مقدار a^* افزایش (قرمز) و مقدار b^* (زردی) تغییر نکرد [۴۶ و ۴۵]. چنین نتایج مشابهی در میزان فاکتورهای رنگی در آب گیلان ترش فرآوری شده با PEF به ترتیب در مقایسه با نمونه شاهد L^* (۱/۸۰ به ۰/۹۱) و a^* (۲/۷۵ به ۳/۱۱) و b^* (۰/۸۵ به ۰/۵۶) و آب هلو مشاهده شد [۴۷ و ۴۸].

ذرات بستگی دارد [۴۰]. نتایج مشابهی توسط رینر و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شد [۴۱]. یثوم و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که آب مرکبات تیمار شده با PEF دارای پایداری کدورت قابل مقایسه‌ای با آب‌میوه‌های پاستوریزه شده با حرارت هستند [۹]. بنابراین می‌توان گفت استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی با شدت بالا می‌تواند تأثیر چشمگیری در حفظ میزان کدورت آب‌میوه در مقایسه با نمونه شاهد داشته باشد.

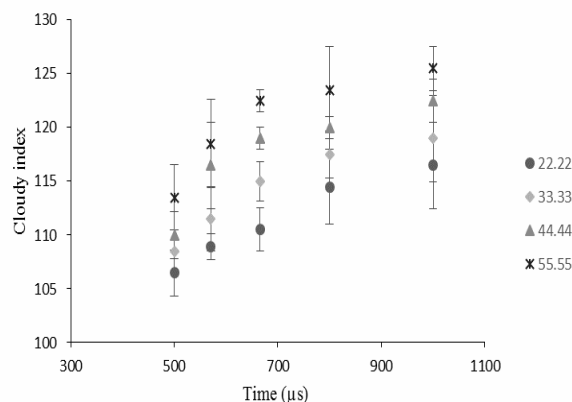


Fig 5 The effect of pulsed electric field and time on turbidity index in PEF process

۳-۲-۴- تغییرات فاکتورهای رنگی

شکل ۶ (الف) نشان‌دهنده تأثیر شرایط فرآوری بر میزان روشنایی رنگ آب‌میوه می‌باشد. آنالیز آماری نتایج نشان داد که استفاده از شدت‌های مختلف میدان الکتریکی پالسی تأثیر معنی‌داری بر فاکتورهای رنگی (L^* , a^* , b^*) داشت ($p < 0.05$). علاوه بر این با افزایش زمان فرآیند میزان روشنایی محصول کاهش یافت ($p < 0.05$). دلیل افزایش تیرگی رنگ نمونه را می‌توان به تخریب ترکیباتی مانند رنگ‌دانه‌ها، اسید آسکوربیک و تغییر در میزان کدورت رنگ نمونه دانست. میزان اندیس روشنایی در نمونه شاهد ۶۴/۰۵ گزارش شد که با اعمال میدان‌های الکتریکی پالسی با شدت بالا میزان تخریب آنزیم PME افزایش یافته و در نتیجه میزان کدورت بیشتری از آب‌میوه حفظ و روشنایی محصول کاهش می‌یابد. بالاترین میزان کاهش روشنایی در نمونه فرآوری شده با شدت میدان الکتریکی پالسی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه بود.

با توجه به افزایش میزان مؤلفه a^* می‌توان گزارش کرد که رنگ آب‌لیمو طی فرآوری طولانی‌تر به سمت قرمزی تغییر یافت

یافت ($p < 0.05$). در تمامی شدت‌های مختلف میدان مقدار L^* کاهش و مقدار b^* ، a^* افزایش یافت که نمایانگر قهوه‌ای شدن و تیره شدن رنگ محصول است. با افزایش زمان فرآیند از ۵۰۰ به ۵۷۱، ۶۶۶، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروثانیه و در شدت میدان ۲۲/۲۲ کیلوولت بر سانتی‌متر به ترتیب میزان اندیس قهوه‌ای شدن ۳/۸۰، ۹/۸۲، ۱۴/۷۶، ۱۵/۸۷ و ۱۷/۷۰ درصد افزایش یافت. ویژگی‌های رنگی آب‌میوه‌ها تحت تأثیر واکنش‌های غیر آنزیمی و تغییرات رنگ‌دانه‌های طبیعی در حین فرآوری محصول از جمله تغییرات دما و زمان در حین فرآیند قرار می‌گیرد [۴۹]. تأثیر افزایش میدان‌های الکتریکی پالسی در مدت‌زمان فرآوری ثابت از لحاظ آماری معنی‌دار بود. با افزایش میدان الکتریکی پالسی از ۲۲/۲۲ به ۳۳/۳۳، ۴۴/۴۴ و ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر به ترتیب ۳/۸۰، ۶/۵۰، ۱۳/۲۹ و ۱۵/۵۹ درصد در مدت‌زمان فرآوری ۵۰۰ میکروثانیه بود.

به‌طور کلی استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی با شدت بالا میزان تیرگی رنگ محصول در مقایسه با نمونه شاهد افزایش داد ($p < 0.05$). این نتایج با پژوهش‌های ویکتر و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت داشت [۵۰]. بالاترین میزان تیرگی رنگ محصول در نمونه فرآوری شده در مدت‌زمان فرآوری ۱۰۰۰ میکروثانیه و در شدت میدان‌های الکتریکی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر ۴۱/۸۶ درصد در مقایسه با نمونه شاهد بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت استفاده از میدان‌های الکتریکی پالسی در شدت بالا به علت افزایش دمای ناشی از فرآیند اهمیت می‌تواند موجب تخریب رنگ‌دانه‌های محصول و در نتیجه تیرگی رنگ محصول در مقایسه با نمونه تازه گردد. چنین نتیجه مشابهی در نمونه آب گوجه‌فرنگی توسط آگیلو و همکاران (۲۰۰۸) مشاهده شد [۵۱]. اثر فرآیند PEF بر رنگ آب سیب توسط بای و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که با افزایش قدرت میدان الکتریکی پالسی میزان روشنایی کاهش و زردی افزایش می‌یابد که علت آن را می‌توان به غیر فعال‌سازی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنا اکسیداز نسبت داد [۵۲].

به‌طور کلی تأثیر فرآیند PEF بر رنگ محصول به علت الکتروپوریشن پیچیده می‌باشد. زیرا الکتروپوریشن موجب نشت مواد داخل سلولی به خارج از سلول می‌شود بنابراین فعالیت برخی از آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. علاوه بر این کاربرد PEF منجر

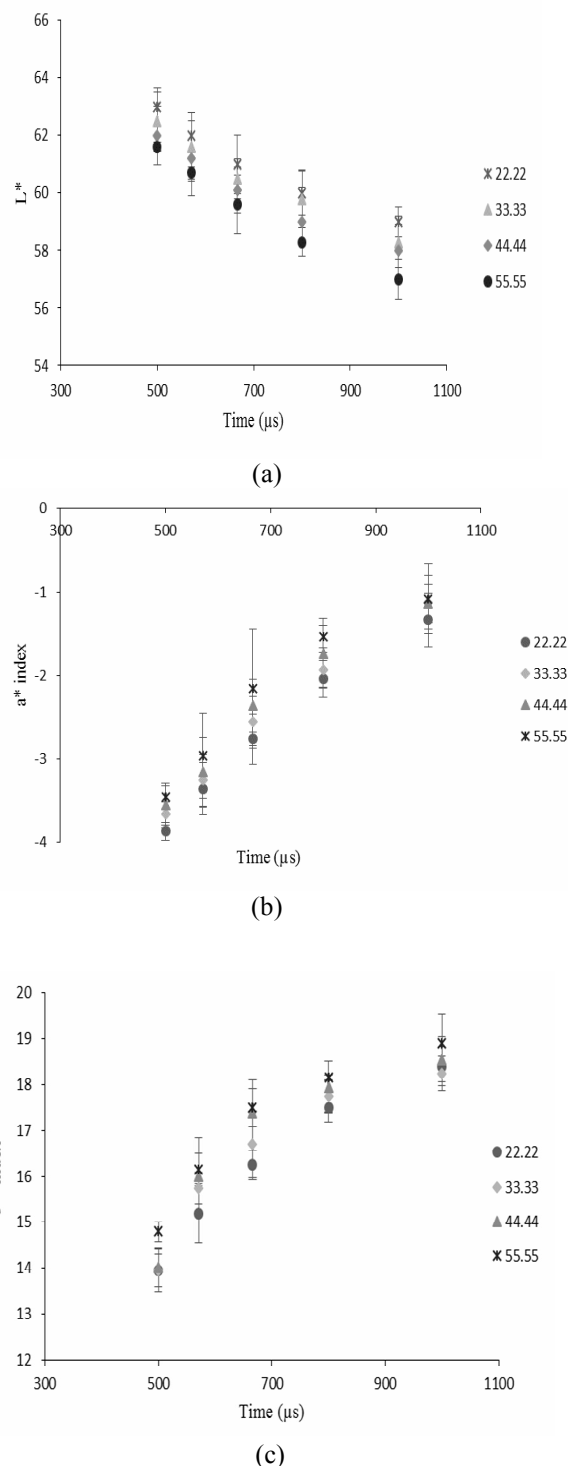


Fig 7 The effect of pulsed electric field and time on L^* (a), a^* (b), b^* (c) index in PEF process

۳-۲-۱- اندیس قهوه‌ای شدن

همان‌طور که در شکل ۸ نشان داده شده است با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان میزان اندیس قهوه‌ای شدن افزایش

فرآوری شده در شدت میدان الکتریکی پالسی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه در مقایسه با نمونه شاهد بود. این پژوهش‌ها مطابق با ژانگ و همکاران (۱۹۹۵) بود [۵۶]. به‌طورکلی تأثیر فرآیند PEF بر میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدان نمونه به کنترل شرایط فرآیند بستگی دارد. گئو و همکاران (۲۰۱۴) گزارش کردند میزان ترکیبات فنلی فرآیند شده با PEF در آب انار در شرایط ۳۵-۳۸ کیلوولت بر سانتی‌متر و مدت‌زمان ۲۸۱ میکروثانیه در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد تغییر نمی‌کند [۵۷]. علاوه بر این در آب هندوانه فرآوری شده با PEF با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی از ۲۵ به ۳۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان ۱۰۵۰ میکروثانیه مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت [۳۴]. به‌طورکلی روش فرآوری PEF به‌عنوان یک روش غیرحرارتی نوین به‌طور چشمگیری موجب حفظ ترکیبات فنلی در مقایسه با روش حرارتی می‌شود. اعمال فرآیند PEF منجر به کاهش ۱۸ درصدی ترکیبات فنلی در آب چشالو^{۱۷} شد درحالی‌که فرآیند حرارتی موجب افت ۴۲ درصدی این ترکیبات در آب چشالو شد [۵۸].

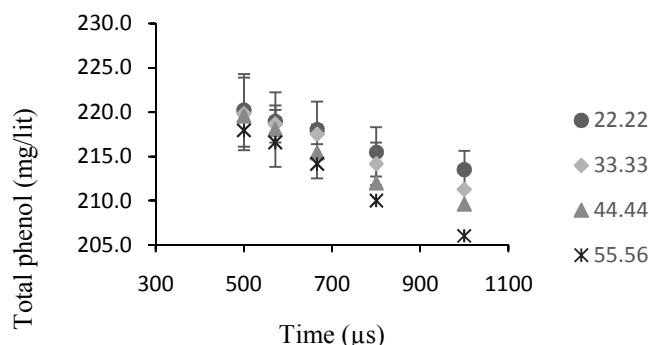


Fig 9 The effect of pulsed electric field and time on Total phenol in PEF process

۳-۲-۵- ارزیابی حسی

با افزایش میدان الکتریکی پالسی رنگ و زمان فرآیند نمونه‌های فرآوری شده با PEF امتیاز کمتری در مقایسه با نمونه شاهد داشت (شکل ۱۰). رنگ نمونه‌های فرآوری شده با PEF در مدت‌زمان نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز تمایل بیشتری به رنگ زردی در مقایسه با نمونه شاهد داشت ($p < 0.05$). فرآوری با PEF

به تشکیل گونه‌های فعال اکسیژنی^{۱۶} می‌شود که بر ویژگی‌های نوری محصول تأثیرگذار است. فرآیند PEF با غیرفعال کردن آنزیم‌ها موجب جلوگیری از تغییر رنگ محصول می‌شود [۵۳ و ۵۴]. این در حالی است که کاهش میزان روشنایی با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان فرآیند منجر به آزاد شدن بیشتر آنزیم پلی فنا اکسیداز بعد از الکتروپوریشن می‌شود [۵۵].

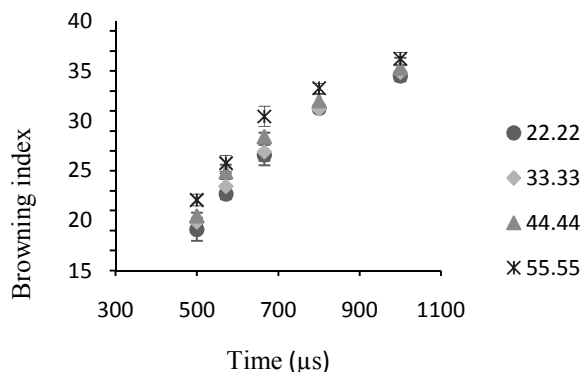


Fig 8 The effect of pulsed electric field and time on browning index in PEF process

۳-۲-۵- ترکیبات فنلی

مقدار ترکیبات فنلی در نمونه شاهد برابر ۲۲۱/۶ میلی‌گرم در هر لیتر بود. با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی و مدت‌زمان فرآوری PEF مقدار ترکیبات فنلی به‌طور چشمگیری کاهش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۹). فنل‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان گزارش شده‌اند که نقش مهمی در ایجاد طعم و رنگ در آب‌میوه‌ها ایفا می‌کنند. ترکیبات فنلی و اسید آسکوربیک از مهم‌ترین عوامل در فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب‌لیمو می‌باشد. مطالعات بسیاری ارتباط مستقیم بین محتوای فنولیک کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به اثبات رسانده‌اند. با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی میزان الکتروپوریشن افزایش می‌یابد و مقدار بیشتری از ترکیبات فنلی به علت تخریب غشا آزاد می‌گردد؛ اما به علت افزایش دمای خروجی فرآیند PEF ناشی از وقوع حرارت دهی اهمیت مقدار ترکیبات فنلی کاهش یافت. بیشترین میزان تخریب ترکیبات فنلی ۹/۵ درصد در نمونه

17. Longan juice

16. Reactive Oxygen Species (ROS)

گرمای کمی در ماده غذایی ایجاد می‌شود و بدین ترتیب در مواد غذایی که تحت فرایند پالس الکتریک قرار گرفته‌اند، مواد مغذی، ویتامین‌ها، بافت و عطر و طعم و نیز میکرو ساختار ماده غذایی نسبت به نمونه‌هایی که فرایند حرارتی به آن‌ها اعمال می‌شود بهتر حفظ می‌گردد. بنابراین به منظور حفظ خصوصیات کیفی ماده غذایی نسبت به روش‌های حرارتی برتری دارد.

به طور کلی با افزایش میدان از ۲۲/۲۲ به ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در یک‌زمان ثابت فرآوری میزان تخریب آنزیم PME به طور میانگین ۲۵ درصد افزایش یافت. از این رو می‌توان گفت که بین شدت میدان الکتریکی پالسی و تخریب آنزیم PME ارتباط مستقیمی وجود دارد. علاوه بر این با افزایش زمان اعمال PEF بر نمونه میزان تخریب آنزیم PME افزایش یافت ($p < 0.05$). با افزایش شدت میدان الکتریکی پالسی میزان تخریب اسید آسکوربیک درصد افزایش یافت. اعمال بالاترین شدت میدان الکتریکی ۵۵/۵۵ کیلوولت بر سانتی‌متر در مدت‌زمان ۱۰۰۰ میکروثانیه موجب حفظ ۸۶ درصد اسید آسکوربیک شد. با افزایش شدت میدان و زمان فرایند اندیس قهوه‌ای شدن افزایش یافت ($p < 0.05$). به طور کلی می‌توان گفت استفاده از روش غیر حرارتی میدان الکتریکی پالسی جهت فرآوری محصولات اسیدی و تخریب آنزیم به عنوان یک رویکرد امیدوارکننده به علت حفظ خواص کیفی از جمله اسید آسکوربیک و ترکیبات فنلی محصول در مقایسه با فرایندهای حرارتی رایج محسوب می‌شود.

۵- منابع

- [1] Suntornsuk, L., W. Gritsanapun, S. Nilkamhank and A. Paochom. 2002. "Quantitation of vitamin C content in herbal juice using direct titration." *Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis* 28(5): 849-855.
- [2] Balla, C. and J. Farkas. 2006. "Minimally processed fruits and fruit products and their microbiological safety." *Handbook of fruits and fruit processing*: 115.
- [3] Aronsson, K. and U. Rönner. 2001. "Influence of pH, water activity and temperature on the inactivation of *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* by pulsed electric fields." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2(2): 105-112.

تأثیر معناداری بر بوی و ترشی نمونه نداشت که نشان از حفظ ترکیبات آروماتیک لیمو از جمله ترپن‌ها، هیدروکربن‌ها، کتون‌ها و آلدهیدها در حین فرآوری با PEF می‌باشد ($p > 0.05$). طعم نمونه‌های فرآوری شده با PEF در شدت‌های مختلف میدان الکتریکی پالسی و زمان فرایند در مقایسه با نمونه شاهد تأثیر معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت ($p > 0.05$). در مدت‌زمان نگهداری نمونه‌های فرآوری شده با PEF طعم تلخی در نمونه‌ها گزارش نشد که به علت تخریب آنزیم‌های ایجادکننده طعم تلخی در این محصول طی فرآوری با PEF می‌باشد. به طور کلی پذیرش کلی محصول فرآوری شده با PEF در مقایسه با نمونه شاهد در مدت‌زمان نگهداری ۹۰ روز قابل قبول بود. این نتایج با ترکمنی و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. به طور کلی ویژگی‌های حسی و بصری نمونه فرآوری شده با PEF بسیار مشابه نمونه تازه بود [۵۹].

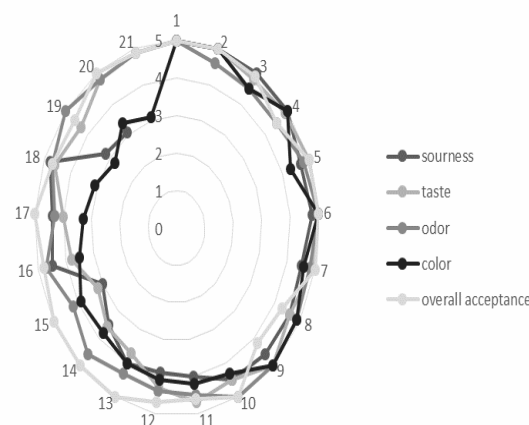


Fig 10 The effect of pulsed electric field and time on sensory evaluation in PEF process

۴- نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر تقاضا برای محصولات غذایی طبیعی باکیفیت مناسب و محصولات غذایی با حداقل فرآوری و با ارزش تغذیه‌ای بالا افزایش یافته است. میدان‌های الکتریکی پالسی یک تکنولوژی نگهداری غیرحرارتی می‌باشد که به دلیل جلوگیری از تغییرات نامطلوب در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته است. از جمله مواد غذایی که حفظ ویژگی‌های ارگانولپتیک در آن بسیار حائز اهمیت است. به دلیل کوتاه بودن زمان پالس‌ها،

- [14] Krishnamurthy, K., Jun, S., Irudayaraj, J. and Demirci, A. 2008. Efficacy of infrared heat treatment for inactivation of staphylococcus aureus in milk. *Journal of Food process engineering*, 31(6): 798-816.
- [15] Versteeg, C., Rombouts, F., Spaansen, C., & Pilnik, W. 1980. Thermostability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*, 45(4), 969-971.
- [16] Lubinska-Szczygieł, M., Róžańska, A., Namieśnik, J., Dymerski, T., Shafreen, R.B., Weisz, M., Ezra, A. and Gorinstein, S., 2018. Quality of limes juices based on the aroma and antioxidant properties. *Food Control*, 89, pp.270-279.
- [17] Hojjatpanah, G., Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z. 2011. Effects of heating method and conditions on the quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *International Journal. Food Science. Technologies.*, 46(5), 956-962
- [18] Hodgins AM, Mittal GS, Griffiths MW. 2002. Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field. *Journal Food Science*. 67:2294-9.
- [19] Yeom, H.W., Zhang, Q.H. and Chism, G.W., 2002. Inactivation of pectin methyl esterase in orange juice by pulsed electric fields. *Journal of Food Science*, 67(6), pp.2154-2159.
- [20] Agcam, E., Akyıldız, A. and Evrendilek, G.A., 2014. Comparison of phenolic compounds of orange juice processed by pulsed electric fields (PEF) and conventional thermal pasteurisation. *Food Chemistry*, 143, pp.354-361.
- [21] Terefe, N. S., Buckow, R., & Versteeg, C. 2015. Quality-related enzymes in plant-based products: Effects of novel food processing technologies, part 2: Pulsed electric field processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55, 1-15.
- [22] Giner, J., Gimeno, V., Espachs, A., Elez, P., Barbosa-Cánovas, G. V., & Martín, O. 2000. Inhibition of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) pectin methylesterase by pulsed electric fields. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(1), 57-67.
- [23] Elez-Martínez P, Martí-Belloso O. 2007. Effects of high intensity pulsed electric field processing conditions on vitamin C and antioxidant capacity of orange juice and
- [4] Raso, J., M. L. Calderón, M. Góngora, G. V. Barbosa-Cánovas and B. G. Swanson. 1998. "Inactivation of *Zygosaccharomyces bailii* in fruit juices by heat, high hydrostatic pressure and pulsed electric fields." *Journal of food science* 63(6): 1042-1044.
- [5] Álvarez, I., S. Condón and J. Raso. 2006. Microbial inactivation by pulsed electric fields. *Pulsed electric fields technology for the food industry*, Springer: 97-129.
- [6] Yeom HW, Zhang QH, Dunne CP. 1999. Inactivation of papain by pulsed electric fields in a continuous system. *Food Chem* 67:53-59.
- [7] Terefe NS, Buckow R, Versteeg C. 2013. Quality related enzymes in plant based products: effects of novel food processing technologies. Part 2: pulsed electric field processing. *Crit Rev Food Science Nutrition*.
- [8] Meneses N, Jaeger H, Knorr D. 2011. pH-changes during pulsed electric field treatments—numerical simulation and in situ impact on polyphenoloxidase inactivation. *Innovative Food Science Emerging Technology* 12:499-504.
- [9] Yeom HW, Streaker CB, Zhang QH, Min DB. 2000. Effects of pulsed electric fields on the quality of orange juice and comparison with heat pasteurization. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 48(10):4597-4605.
- [10] Wibowo, S., Essel, E.A., De Man, S., Bernaert, N., Van Droogenbroeck, B., Grauwet, T., Van Loey, A. and Hendrickx, M., 2019. Comparing the impact of high pressure, pulsed electric field and thermal pasteurization on quality attributes of cloudy apple juice using targeted and untargeted analyses. *Innovative Food science & emerging technologies*, 54, pp.64-77.
- [11] Kumar, R., Bawa, A.S., Kathiravan, T. and Nadanasabapathi, S., 2015. Optimization of pulsed electric field parameters for mango nectar processing using response surface methodology. *International Food Research Journal*, 22(4), p.1353.
- [12] Sánchez-Vega R, Elez-Martínez P, Martí-Belloso O. 2015. Influence of high-intensity pulsed electric field processing parameters on antioxidant compounds of broccoli juice. *Innovative Food Science Emerging Technology*. 29:70-7.
- [13] Kimball, D. A. 1991. *Citrus processing quality control and technology*. New York: Van Nostrand Reinhold. 117-243.

- [33] Elez-Martínez, P., Escola-Hernández, J., Soliva-Fortuny, R. C., & Martí-Belloso, O. 2004. Inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* suspended in orange juice using high-intensity pulsed electric fields. *Journal of Food Protection*, 67, 2596–2602.
- [34] Sañchez-Moreno, C., Plaza, L., Elez-Martínez, P., De Ancos, B., Martí-Belloso, O., & Cano, M. P. 2005. Impact of high-pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4403–4409.
- [35] Tannebaum, S. R., Archer, M. C., & Young, V. R. 1985. Vitamins and minerals. In O. R. Fennema (Ed.), *Food chemistry* (2nd ed., pp. 488–493). New York: Marcel Dekker Inc.
- [36] Davey, M. W., Van Montagu, M., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., et al. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 825–860.
- [37] Walkling-Ribeiro M, Noci F, Cronin DA, Lyng JG, Morgan DJ. 2009. Shelf life and sensory evaluation of orange juice after exposure to thermosonication and pulsed electric fields. *Food Bio product Process* 87:102–7.
- [38] Zhang, Z.H., Zeng, X.A., Brennan, C.S., Brennan, M., Han, Z. and Xiong, X.Y., 2015. Effects of pulsed electric fields (PEF) on vitamin C and its antioxidant properties. *International journal of molecular sciences*, 16(10), pp.24159–24173.
- [39] Beveridge, T., & Wrolstad, R. E. 1997. Haze and cloud in apple juices. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37, 75–91.
- [40] Croak, S., & Corredig, M. 2006. The role of pectin in orange juice stabilization: Effect of pectin methylesterase and pectinase activity on the size of cloud particles. *Food Hydrocolloids*, 20, 961–965.
- [41] Riener, J., Noci, F., Cronin, D.A., Morgan, D.J. and Lyng, J.G. 2009. Combined effect of temperature and pulsed electric fields on pectin methyl esterase inactivation in red grapefruit juice (*Citrus paradisi*). *European Food Research Technologies*. 228, 373–379.
- [42] Cserhalmi, Z., Sass-kiss, A., Toth-markus, M. and Lechner, N. 2006. Study of pulsed gazpacho, a cold vegetable soup. *Food Chemistry* 102:201–9.
- [24] Rodrigo D, Barbosa-Canovas GV, Martinez A, Rodrigo M. 2003. Pectin methylesterase and natural microflora of fresh and mixed orange and carrot juice treated with pulsed electric fields. *Journal Food Protect* 66:2336–42.
- [25] Espachs-Barroso A, Van Loey A, Hendrickx M, Martí-Belloso O. 2006. Inactivation of plant pectin methylesterase by thermal or high intensity pulsed electric field treatments. *Innovative Food Science Emerging Technology*. 7:40–8.
- [26] Van Loey, A., Verachtert, B., & Hendrickx, M. 2001. Effects of high electric field pulses on enzymes. *Trends in Food Science & Technology*, 12(3-4), 94–102.
- [27] Krapfenbauer, G., Kinner, M., Gossinger, M., Schonlechner, R., & Berghofer, E. 2006. Effect of thermal treatment on the quality of cloudy apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 5453–5460.
- [28] Schilling S, Schmid S, Jaeger H, Ludwig M, Dietrich H, Toepfl S, Knorr D, Neidhart S, Schieber A, Carle R. 2008. Comparative study of pulsed electric field and thermal processing of apple juice with particular consideration of juice quality and enzyme deactivation. *Journal Agriculture Food Chemistry*. 56:4545–54.
- [29] Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Soliva-fortuny, R. and O. Mart IN-Belloso, 2009. Effects of high-intensity pulsed electric field processing conditions on lycopene, vitamin C and antioxidant capacity of watermelon juice. *Food Chem*. 115, 1312–1319.
- [30] Evrendilek, G. A., Jin, Z. T., Ruhlman, K. T., Qiu, X., Zhang, Q. H., & Richter, E. R. 2000. Microbial safety and shelf-life of apple juice and cider processed by bench and pilot scale PEF systems. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 77–86.
- [31] Min, S., Jin, Z. T., Min, S. K., Yeom, H., & Zhang, Q. H. 2003. Commercial-scale pulsed electric field processing of orange juice. *Journal of Food Science*, 68, 1265–1271.
- [32] Rivas A, Rodrigo D, Company B, Sampedro F, Rodrigo M. 2007. Effects of pulsed electric fields on water-soluble vitamins and ACE inhibitory peptides added to a mixed orange juice and milk beverage. *Food Chemistry* 104: 1550–9.

- [51] Aguilo-Aguayo, I., Odriozola-Serrano, I., Quintão-Teixeira, L.J. and Martin-Belloso, O., 2008. Inactivation of tomato juice peroxidase by high-intensity pulsed electric fields as affected by process conditions. *Food Chemistry*, 107(2), pp.949-955.
- [52] Bi, X., Liu, F., Rao, L., Li, J., Liu, B., Liao, X. 2013. Effects of electric field strength and pulse rise time on physicochemical and sensory properties of apple juice by pulsed electric field. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 17, 85–92.
- [53] Ohshima, T., Tamura, T., & Sato, M. 2007. Influence of pulsed electric field on various enzyme activities. *Journal of Electrostatics*, 65(3), 156–161
- [54] Taiwo, K.A., Angersbach, A., & Knorr, D. 2002. Rehydration studies on pretreated and osmotically dehydrated apple slices. *Journal of Food Science*, 67(2), 842–847.
- [55] Janositz, A., Noack, A.K., & Knorr, D. 2011. Pulsed electric fields and their impact on the diffusion characteristics of potato slices. *LWT — Food Science and Technology*, 44(9), 1939–1945.
- [56] Zhang, Q.H., Barbosa-Canovas, G.V. and Swanson, B.G. 1995. Engineering aspects of pulsed electric field pasteurization. *Journal. Food Engineering*. 25, 261–281.
- [57] Guo, M., Jin, T.Z., Geveke, D.J., Fan, X., Sites, J.E. and Wang, L. 2014. Evaluation of microbial stability, bioactive compounds, physicochemical properties, and consumer acceptance of pomegranate juice processed in a commercial scale pulsed electric field system. *Food Bioprocess. Technological*. 7, 2112–2120.
- [58] Aguilar-Rosas, S.F., Ballinas-Casarrubias, M.L., Nevarez-Moorillon, G.V., Martin-Belloso, O. and Ortega-Rivas, E. 2007. Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. *Journal. Food Engineering*. 83, 41–46.
- [59] Torkamani, A.E. 2011. Impact of pulsed electric fields and thermal processing on apple juice shelf life. *Iran Journal. Microbiological*. 3, 152–155.
- electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science. Emerging Technol.* 7, 49–54.
- [43] Elez-Martinez, P., Soliva-Fortuny, R. and Martin-Belloso, O. 2006. Comparative study on shelf life of orange juice processed by high intensity pulsed electric field or heat treatment. *European. Food Research. Technologies*. 222, 321–329.
- [44] Cortes, C., Esteve, M. J., & FR Igola, A. 2008. Color of orange juice treated by high intensity pulsed electric fields during refrigerated storage and comparison with pasteurized juice. *Food Control*, 19, 151–158.
- [45] Patras, A., Brunton, N.P., o'donnell, C. and Tiwari, B.K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends Food Sci. Technol.* 21, 3–11.
- [46] Alighourchi, H. and Barzegar, M. 2009. Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal. Food Engineering*. 90, 179–185.
- [47] Evrendilek, G. A. Change Regime of Aroma Active Compounds in Response to Pulsed Electric Field Treatment Time, Sour Cherry Juice Apricot and Peach Nectars, and Physical and Sensory Properties. *Innovative. Food Science. Emerging. Technologies*. 2016, 33, 195–205.
- [48] Altuntaş, J.; Akdemir Evrendilek, G.; Sangun, M. K.; Zhang, H. Q. Processing of Peach Nectar by Pulsed Electric Fields with respect to Physical and Chemical Properties and Microbial Inactivation. *Journal. Food Process Engineering*. 2011, 34, 1506–1522.
- [49] Lasekan, O., Ng, S., Azeez, S., Shittu, R., Teoh, L. and Gholivand, S., 2017. Effect of pulsed electric field processing on flavor and color of liquid foods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(3), p.e12940.
- [50] Wiktor, A., Sledz, M., Nowacka, M., Rybak, K., Chudoba, T., Lojowski, W. and Witrowa-Rajchert, D., 2015. The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 30, pp.69-78.



Design and manufacturing of key lime juice processing system by pulsed electric field and evaluation of its quality characteristics

Dezyani, A. ^{1*}, Ziaiiifar, A. M. ^{2*}, Jafari, S. M. ³, Aghajanzadeh, S. ⁴

1. PhD student, Food Science and Technology Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. PhD, Associate Professor, Food Science and Technology Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. PhD, Professor, Food Science and Technology Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.
4. PhD, Food Science and Technology Engineering Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received 2021/ 10/ 19 Accepted 2021/ 12/ 06 Keywords: Key lime juice, Pulse electric field, PME enzyme, Ascorbic acid, Cloudy index. DOI: 10.22034/FSCT.19.132.33 DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.132.3.6 *Corresponding Author E-Mail: ziaiiifar@gmail.com	Key lime juice can be a non-fermenting product with high acidity and a rich source of ascorbic acid and phenol compound. In order to maintain the quality of the product, it is important to choose a suitable method for processing this food. The use of modern non-thermal methods to produce high quality products should be considered. In this research, by designing and constructing a continuous pulsed electric field (PEF) system, the effect of this method on the degradation of pectin methyl esterase (PME), ascorbic acid, total phenol compound, cloudiness index, color changes and sensory evaluation in key lime juice is discussed. In this research, a bipolar square wave of 10 microseconds and a constant frequency of 1000 is used. In the processing chamber of this device, two cases of stainless steel with length and thickness of 10 and 0.5 ml, respectively, were used. Key lime juice was processed for 500, 571, 666, 800 and 1000 microseconds with Field intensity of 22.22, 33.33, 44.44 and 55.55 kV per cm. In general, by increasing the field from 22.22 to 55.55 kV / cm at a constant time, the process of reducing the degradation of PME enzyme is normally increased by 25%. Applying the highest electric field of 55.55 in 1000 microseconds caused 14% ascorbic acid degradation compared to fresh samples. With increasing pulsed electric fields, the cloudy index of the sample and browning index have increased. The use of high intensity pulsed electric field increased the degradation of PME enzyme and the cloudy index and reduced lightness compared to the fresh sample. Preservation of sensory properties of key lime juice developed with PEF during shelf life showed that the non-thermal pulsed electric field method can act as a promising approach in products with high acidity and enzyme degradation.