



مقاله علمی-پژوهشی

محاسبه عددی میزان دنا توره شدن آنزیم ها، پروتئین های تغذیه ای و بروز واکنش های قهوه ای شدن در شیر
بطری شده تحت تاثیر تیمار پلاسمای سرد
آزاده رنجبر ندامانی*

۱- استادیار گروه مکانیک بیوسیستم- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری- مازندران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۴	هدف از این پژوهش، مطالعه اثر تیمار پلاسمای سرد بر دنا توره سیوان آنزیم ها، پروتئین های تغذیه ای و بروز واکنش های قهوه ای شدن در شیر خام بطری شده است. یک سیستم پلاسمای تخلیه سطح برای این منظور استفاده شد. راکتور این سیستم یک استوانه کوارتزی با قطر ۱ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر بود. از یک پوشش استیل با ضخامت ۱ میلی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر در سطح داخلی راکتور و به عنوان الکترود تخلیه ولتاژ بالا استفاده شد. مایع درون بطری (شیر) نیز به عنوان الکترود خنثی در نظر گرفته شد. تخلیه برق با فرکانس و ولتاژ مورد مطالعه به الکترود انجام شد. در این مطالعه زمان غیرفعال شدن کاتالاز، فسفاتاز قلیایی، لیپاز، پراکسیداز، آنزیم های پروتئازی، و همچنین زمان دنا توره شدن آلبومین سرمی، ایمنوگلوبولین ها، آلفا لاکتوگلوبولین، بتالاکتوگلوبولین، لیزین و در نهایت میزان تخریب ویتامین تیامین مورد بررسی قرار گرفت. شبیه سازی توسط نرم افزار کامسول ورژن ۳.۵ برای یک هندسه دوبعدی انجام شد. نتایج نشان دادند زمان غیرفعال سازی کاتالاز، فسفاتاز و لیپاز بسیار اندک بود در حالیکه آنزیم های پروتئازی و پراکسیداز طولانی ترین زمان غیرفعال شدن را نشان دادند. با این حال زمان غیرفعال شدن نهایی تمام آنزیم ها در مقایسه با تیمارهای حرارتی رایج در صنایع لبنی بسیار اندک بود. پراکسیداز در ۰/۹ دقیقه و پروتئاز در ۲ دقیقه بعد از آغاز تیمار غیر فعال شدند. زمان غیر فعال سازی سایر آنزیم ها ۰/۵ ثانیه بود. همچنین، زمان دنا توره سیوان پروتئین ها و اسیدهای آمینه به شکل معناداری متفاوت بود ($p < 0/05$) زمان غیرفعال شدن اسید آمینه لیزین کمتر از سایر موارد مورد مطالعه بود و بتالاکتوگلوبولین بالاترین زمان دنا توره سیوان را داشت. زمان آغاز واکنش قهوه ای شدن تحت تیمار پلاسمای ۳/۴ دقیقه بود. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که شرایط تیمار پلاسمایی که مورد مطالعه قرار گرفت، اثر منفی بر پروتئین ها و رنگ شیر نداشت.
کلمات کلیدی: واکنش های قهوه ای شدن، تیمار پلاسمای غیرفعال سازی آنزیمی، پروتئین های تغذیه ای	
DOI: 10.22034/FSCT.21.146.42 * مسئول مکاتبات: a.ranjbar@sanru.ac.ir	

۱-مقدمه

شیر گاو در گل جهان مصرف می‌شود. ترکیبات موجود در شیر گاو شامل ۸۷۰ گرم/لیتر آب، ۴۹۰ گرم/لیتر لاکتوز، ۳۴۰ گرم/لیتر چربی، ۳۳ گرم/لیتر پروتئین و ۷ گرم/لیتر ویتامین و مواد معدنی می‌باشند [۱]. ایمنی شیر اغلب توسط فرآوری حرارتی (پاستوریزاسیون یا استریلیزاسیون)، تخمیر، و رساندن (مانند تولید پنیر) ایجاد می‌شود که باعث افزایش زمان ماندگاری آن نیز می‌شود.

نابودی میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی، یکی از بزرگترین چالش‌های صنایع فرآوری مواد غذایی است. چراکه علیرغم ورود تکنولوژی‌های نوین مانند فشار بالا، مایکروویو، میدان‌های الکتریکی پالس و غیره، برای نابودی آن‌ها اغلب مجبور به استفاده از حرارت هستند. در برخی موارد به منظور نابودی میکروارگانیسم هدف، استفاده از حرارت‌های بالا مانند استریلیزاسیون باعث نابودی ترکیبات تغذیه‌ای در مقیاس وسیع می‌شود. علاوه بر آن، تغییر طعم، بو، بافت، رنگ و ویژگی‌های ظاهری نیز از نتایج منفی استفاده از حرارت برای سالم‌سازی مواد غذایی است [۱ و ۲]. به همین دلیل محققین این حوزه همواره به دنبال راهکارهای جایگزین یا ترکیبی از روش‌ها برای کاهش استفاده از حرارت‌های بالا بوده‌اند.

متأسفانه روش‌های سنتی پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون به شکل بارزی بر کیفیت شیر اثر گذاشته و منجر به قهوه‌شدن آنزیمی، از دست رفتن ویتامین‌ها و طعم و تغییر ساختاری پروتئین‌ها می‌شوند. از طرف دیگر امروزه مصرف کنندگان محصولات صنعت غذا در جستجوی محصولاتی با فرآوری حداقل و تازه‌تر هستند که محصولات لبنی نیز از این نظر مستثنی نیستند. به ویژه که محصولات لبنی دارای ترکیبات تغذیه‌ای بالا هستند. به همین امروزه دلیل استفاده از فن‌آوری‌های جدید نگهداری مواد غذایی که بتوانند میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های مضر را با حداقل حرارت‌دهی غیر فعال کنند، در حال توجه

هستند. از جمله این روش‌ها می‌توان به فشار هیدرواستاتیک بالا، میدان الکتریکی پالسی، اولتراسوند، و پلاسمای اتمسفری سرد اشاره کرد.

در سال‌های اخیر پلاسمای سرد یکی از جایگزین‌های مورد انتظار برای تیمارهای پس از برداشت و مدیریت پس از برداشت محصولات محسوب می‌شود [۲]. تکنولوژی پلاسمای سرد (CP) ^۱ یا پلاسمای غیر حرارتی ^۲ یک فرآیند فیزیکی غیرحرارتی است که پتانسیل بالایی برای استفاده در صنایع غذایی دارد [۳]. زیرا این تکنولوژی به راحتی قابلیت استفاده در مقیاس وسیع را داشته و هیچ بقایای شیمیایی خطرناکی از خود به جا نمی‌گذارد ضمن اینکه پاتوژن‌ها را بدون صدمه حرارتی به ماده غذایی نابود یا غیر فعال می‌کند [۲]. شیر حاوی تمام ترکیبات لازم برای تأمین نیازهای تغذیه‌ای و انرژی بدن انسان است [۴]. اما شیر به دلیل بالا بودن فعالیت آبی، یک محیط فوق‌العاده برای رشد باکتری‌های مانند اشیریشیاکلی، سالمونلاها، لیستریا مونوسیتوزنز و سایر باکتری‌ها است که باعث اتلاف تغذیه‌ای شیر و کاهش کیفیت و ایمنی آن می‌شوند [۵]. به طور کلی، فرآوری حرارتی شیر، یک فن‌آوری ضروری برای تضمین ایمنی میکروبی شیر جهت مصرف توسط انسان است. فرآیند غیر فعال کردن میکروبی می‌تواند بلافاصله بیشتر میکروارگانیسم‌های پاتوژن در شیر خام را نابود کرده و ماندگاری آن را افزایش دهد. با این حال، همواره مشخص شده است که اثرات این حرارت‌دهی در شیر، بروز مجموعه‌ای از برهمکنش‌ها و تغییرات در ترکیبات و ساختار شیر بوده است که در نهایت ویژگی‌های حسی، کیفیت تغذیه‌ای، و فیزیوشیمیایی (رطوبت، pH، شاخص‌های رنگی) آن را تغییر داده است [۶]. کیم و جیمز-فلورز (۱۹۹۵) برهمکنش بارزی بین پروتئین‌های سرمی شیر (مانند بتالاکتوگلوبولین) و پروتئین‌های غشای گلوبول‌های چربی شیر در زمان حرارت‌دهی پروتئین شیر

یک سیستم پلاسمای تخلیه سطح برای این منظور استفاده شد. راکتور این سیستم یک استوانه کوارتزی با قطر ۱ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر بود. از یک پوشش استیل با ضخامت ۱ میلی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر در سطح داخلی راکتور و به عنوان الکترود تخلیه ولتاژ بالا استفاده شد. مایع درون بطری (شیر) نیز به عنوان الکترود خنثی در نظر گرفته شد [۹]. تخلیه برق با فرکانس و ولتاژ مورد مطالعه به الکترود انجام شد. پلاسمای باعث تولید گونه های فعالی مانند پراکسید هیدروژن، اوزن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن می شود. از آنجا که پایش اوزون طی عملیات آسان و نمایانگر مناسبی برای بررسی شرایط پلاسمای می باشد، در این مطالعه غلظت اوزون به عنوان شاخص شبیه سازی استفاده شد.

۲-۲- تعریف متغیرها

۲-۲-۱- ویژگی های فیزیکی شیر خام

جهت انجام شبیه سازی، برخی ویژگی های فیزیکی شیر و همچنین متغیرهایی مانند سرعت حرکت اوزون در سیال، ضریب نفوذ مؤثر اوزون، دانسیته گاز اوزون، قطر حباب های گاز اوزون، و وکتور حرکت اوزون درون سیال، به شرح جدول ۱ مورد استفاده قرار گرفتند.

گزارش دادند [۷]. با افزایش دمای حرارت دهی، یک تغییر پایدار در زنجیره های بلند پروتئینی رخ می دهد و ساختار دوم پروتئین تغییر می یابد [۸].

در محصولات لبنی، کفایت تیمار پلاسمای به عواملی مانند نوع میکروارگانیسم، توان ورودی، زمان تیمار، ترکیب گاز و ترکیبات ماده غذایی وابسته است. لذا در این مطالعه در کنار بررسی شرایط بهینه نابودی میکروارگانیسم های مورد نظر، میزان نابودی ترکیبات تغذیه ای مانند پروتئین ها تغذیه ای، لیزین، ایمنوگلوبولین و همچنین بروز واکنش های قهوه ای شدن نیز مورد بررسی قرار خواهد گرفت. برای کاهش هزینه های آزمایشگاهی، با کم داده های تجربی، عملیات شبیه سازی در کامپوسول انجام و سپس داده ها توسط نرم افزار دیزاین اکسپرت جهت بهینه سازی تحلیل می شوند. نتایج این تحقیق برای حذف تیمارهای اولیه پیش آزمایشات جهت انجام مطالعات روی سایر پارامترهای کیفی و حسی شیر خام مفید خواهد بود.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مدل فیزیکی سیستم پلاسمای

Table 1- Physical characteristics of milk and ozone

Property	The amount of characteristics	Unit	Reference
Milk			
Density	$((0.3 \cdot T[1/\text{degC}]) + (0.03 \cdot T^2[1/\text{degC}^2]) + (0.7 \cdot 4.1) + (0.01 \cdot 4.1^2) + 1034.5)[\text{kg/m}^3]$	kg/m ³	(1)
Viscosity	$((2721.5/T[1/\text{degC}]) + (0.1 \cdot 4.1) - 8.9)^{2.8}$	Pa·s	(1)
Relative penetration	60		(2)
Ozone			
Ozone density	2.14	kg/m ³	(3)
The speed of movement of ozone gas in the fluid	0.003	m/s	(3)
Effective diffusion coefficient of ozone in the fluid	1.74×10^{-9}	m ² /s	(3)
Ozone gas movement vector	8.33×10^{-6}	-	(3)
Diameter of ozone bubbles	3.21	mm	(3)

۲-۳-۱- محاسبه فاکتور K فرآیند نابودی پاتوژن ها و

ترکیبات تغذیه ای در شیر

۲-۳- معادلات حاکم

معادلات ۳ الی ۱۷ برای محاسبه k برای انواعی از پنج نوع واکنش ذکر شده در شیر، استفاده شده است [۱۰]:

نابودی میکروارگانیسم

$$k_{Bacillus\ Stearothermophilus} = 101.15 \exp\left(\frac{-345.4}{8314T}\right) \quad (۳)$$

$$k_{Clostridium\ Botulinum} = 107.5 \exp\left(\frac{-351}{8314T}\right) \quad (۴)$$

$$k_{Bacillus\ Coagulans} = 151.29 \exp\left(\frac{-509}{8314T}\right) \quad (۵)$$

$$k_{Bacillus\ Cereus} = 91.92 \exp\left(\frac{-294.5}{8314T}\right) \quad (۶)$$

غیر فعال شدن آنزیم

$$k_{Protease} = 15.19 \exp\left(\frac{-64}{8314T}\right) \quad (۷)$$

$$k_{Catalase} = 180.72 \exp\left(\frac{-529}{8314T}\right) \quad (۸)$$

$$k_{Peroxidase} = 222.5 \exp\left(\frac{-663}{8314T}\right) \quad (۹)$$

$$k_{Lipase} = 53.70 \exp\left(\frac{-160}{8314T}\right) \quad (۱۰)$$

$$k_{Phosphatase} = 95.17 \exp\left(\frac{-275}{8314T}\right) \quad (۱۱)$$

دنا توره شدن پروتئین‌ها

$$k_{AlphaLactalbumin} = 84.92 \exp\left(\frac{-296}{8314T}\right) \quad (۱۲)$$

$$k_{BetaLactoglobulin} = 89.43 \exp\left(\frac{-280}{8314T}\right) \quad (۱۳)$$

$$k_{Immunoglobulin} = 90.38 \exp\left(\frac{-275}{8314T}\right) \quad (۱۴)$$

اتلاف ترکیبات تغذیه‌ای

$$k_{Thiamin} = 29.78 \exp\left(\frac{-100.8}{8314T}\right) \quad (۱۵)$$

$$k_{Lysine} = 8.77 \exp\left(\frac{-190}{8314T}\right) \quad (۱۶)$$

تشکیل ترکیبات جدید

$$k_{Pigmentbrown} = 29.09 \exp\left(\frac{-116}{8314T}\right) \quad (۱۷)$$

۲-۳-۲- محاسبه فاکتور F فرآیند نابودی پاتوژن‌ها و ترکیبات تغذیه‌ای در شیر

طی فرآیندهای نابودی میکروارگانیسم‌های هدف توسط فرآیندهای حرارتی، شیر مانند یک سیستم پیچیده از ترکیبات مختلف عمل می‌کند. مقدار زیادی از واکنش‌های شیمیایی، فیزیکی و بیوشیمیایی در آن رخ می‌دهند. برخی از این تغییر شکل‌ها، به دلیل آنکه قادر به تغییر ویژگی‌های شیر هستند، از اهمیت بالایی برخوردارند. برخی دیگر نیز ممکن است ارزش تغذیه‌ای شیر را تغییر داده و حتی ایمنی بیولوژیکی آن را افزایش دهند [۱۰].

از آنجا که در تیمار با پلاسما، از نقش غیر حرارتی بودن آن برای نابودی میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود، گمان می‌رود بروز واکنش‌های تحت تأثیر دما در شیر کاهش یابد. می‌توان واکنش‌هایی که در شیر رخ می‌دهند، به پنج دسته تقسیم کرد؛ تخریب میکروارگانیسم‌ها، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، دنا توره شدن پروتئین‌ها، اتلاف ترکیبات تغذیه‌ای و تشکیل ترکیبات جدید. بیشتر این واکنش‌ها را می‌توان با یک واکنش برگشت‌ناپذیر یک مرحله‌ای ساده نشان داد:



نرخ حذف و تشکیل در چنین واکنشی، توسط یک معادله استاندارد نرخ واکنش به شکل معادله ۱ نشان داده می‌شود:

$$r_A = -kC_A^n, \quad r_B = -r_A \quad (۱)$$

که در آن، r نرخ واکنش ($\text{mol/m}^3\cdot\text{s}$)، k ثابت نرخ واکنش ($\text{m}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$)، و n درجه واکنش است. راهی که در آن ثابت نرخ واکنش (k) تحت تأثیر دما قرار می‌گیرد، در تعیین وسعت تبدیل‌های نهایی ناشی از تیمار حرارتی اهمیت داد. به همین دلیل از رابطه ۲ برای نشان دادن وابستگی دمای k استفاده می‌شود:

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (۲)$$

که در آن، k_0 فاکتور پیش-نمایی ($\text{m}^3/\text{mol}\cdot\text{s}$)، E_a انرژی فعال‌سازی (Jmol^{-1})، R ثابت گاز ($\text{Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$) و T دمای مطلق بر حسب K است. مقدار k_0 و E_a تابع نوع واکنش و نوع ترکیب ماده مورد نظر هستند. به همین دلیل از

این ماژول برای شبیه‌سازی حرکت حباب‌های اوزون از راکتور پلاسما در درون شیر استفاده و معادلات ۲۰ الی ۲۳ توسط نرم‌افزار حل شدند.

$$\begin{aligned} \phi_l \rho_l \frac{\partial u_l}{\partial t} + \phi_l \rho_l (u_l \cdot \nabla) u_l \\ = \nabla \cdot [-pI \\ + \phi_l (\mu_l + \mu_T) (\nabla u_l \\ + (\nabla u_l)^T)] \\ + \phi_l \rho_l g + F \end{aligned} \quad (20)$$

$$\rho_l \nabla \cdot (u_l) = 0, \quad u_l = u \quad (21)$$

$$\begin{aligned} \frac{\partial \phi_g \rho_g}{\partial t} + \nabla \cdot N_{\rho_g \phi_g} \\ = -m_{gl}, \quad \phi_g \rho_g \\ = \text{rho} \text{eff} \end{aligned} \quad (22)$$

$$\begin{aligned} N_{\rho_g \phi_g} = \phi_g \rho_g u_g, \quad u_g \\ = u_l + u_{slip} \\ - \mu_T \frac{\nabla \phi_g}{\rho_l \phi_g} \end{aligned} \quad (23)$$

که در آن l و g ، به ترتیب مربوط به مایع (شیر) و گاز (اوزون) می‌باشند.

دانشیه گاز نسبت به دانشیه شیر قابل چشم‌پوشی است. از معادلات جریان آرام برای حل بالا رفتن حباب‌های اوزون درون بطری استفاده شد. دانشیه، قطر و ضریب انتشار حباب‌های اوزون با توجه به مطالعات وانگ و همکاران (۲۰۲۰)، طبق جدول ۱ در نظر گرفته شد [۹].

۲-۳-۳-۲- انتقال گونه‌های رقیق شده

غیر فعال شدن میکروارگانیسم‌ها یا آنزیم‌ها و همچنین اتلاف تغذیه‌ای و بروز واکنش‌های شیمیایی، به میزان اوزون و یون‌های تشکیل شده توسط پلاسما وابستگی دارند. نرخ این واکنش را می‌توان طبق قانون فیک^۵ به شکل معادله ۲۴ و ۲۵ محاسبه کرد:

$$\begin{aligned} \frac{\partial c_i}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_i \nabla c_i) + u \cdot \nabla c_i \\ = R_i \end{aligned} \quad (24)$$

در زمان استفاده از تیمار حرارتی برای نابودی میکروارگانیسم هدف در مواد غذایی، زمان مورد نیاز برای رسیدن به یک درجه معین k در دمای معین T ، "زمان مرگ حرارتی" (F) نامیده می‌شود که طبق معادله ۱۸، توسط ضرب کردن k در D به دست می‌آید [۱۱].

$$F_T = k D_T \quad (18)$$

این معادله، موسوم به قانون اول مرگ حرارتی میکروارگانیسم، یا قانون اول تجزیه، یا قانون بقا است [۱۱].

محاسبه D به شکل معادله ۱۹ تا رسیدن به ۹۰٪ غلظت اولیه، محاسبه و برای محاسبه F در معادله ۱۸ قرار داده شد [۱۱]:

$$t = D_T \log_{10} \left(\frac{N_0}{N} \right) \quad (19)$$

۳-۳-۲- معادلات حاکم

شبیه‌سازی توسط نرم‌افزار کامسول ۵/۳ a برای یک هندسه دو بعدی مانند شکل (۱) اجرا شد. از چهار ماژول جریان آرام حبابی^۳، انتقال گونه‌های رقیق شده^۴ (برای هوای تزریق شده بین الکترودها درون شیر)، انتقال گونه‌های رقیق شده (برای حذف باکتری یا ترکیب مورد بررسی درون شیر)، و میدان الکتریکی (برای ایجاد پلاسما) برای حل مسئله استفاده شد.

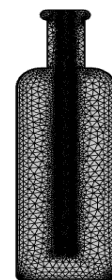


Figure 1- The two-dimensional geometry of the milk bottle inside which the plasma generator system is placed.

۱-۳-۳-۲- جریان آرام حبابی

برای این منظور، داده‌های k میکروارگانیزم مورد استفاده قرار گرفتند. سپس خروجی پاسخ‌های نرم‌افزار، با داده‌های آزمایشگاهی بررسی شدند. با کمک برازش داده‌های آزمایشگاهی و شبیه‌سازی شده، و محاسبه R^2 و اطمینان از صحت فرآیند شبیه‌سازی، شرایط تیمارهای طراحی شده توسط دیزاین اکسپرت در نرم‌افزار شبیه‌سازی شدند.

۲-۶- آنالیز آماری

جهت بررسی صحت مدل و تشخیص ضرایب رگرسیونی و معنی داری آماری، آنالیز واریانس توسط ANOVA در دیزاین اکسپرت انجام شد. معادله خط، ضرایب رگرسیونی و عدم برازش توسط پارامترهای آماری R^2 ، p -value (در سطح ۰/۰۵) و $Adj-R^2$ مورد بررسی قرار گرفتند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأیید مدل شبیه‌سازی شده

در غیرفعال‌سازی میکروبی، اگر نمودار نیمه-لگاریتمی جمعیت میکروبی رسم شود، یک نمودار خطی با شیب k به دست می‌آید [۱۱]. دمای فرایندها می‌تواند شیب این نمودار را تغییر دهد. اما در این مطالعه، اثر مقدار یون‌های تشکیل شده طی تیمار پلاسما و به ویژه میزان غلظت اوزون به عنوان شاخصی برای بررسی میزان یونیزاسیون هوا، باید در نظر گرفته شود. به ویژه اینکه تغییرات درجه حرارت می‌تواند بر میزان تولید گاز اوزون توسط تیمار پلاسما اثر بگذارد [۱۲]. شکل ۲ نتایج پیش-تیمار برای برازش داده‌های آزمایشگاهی و شبیه‌سازی شده را نشان می‌دهد. مقدار $R^2 = ۰/۹۸۰۲$ نشان‌دهنده برازش مناسب این داده‌ها با یکدیگر می‌باشد. به این ترتیب شرایط شبیه‌سازی، به خوبی با شرایط واقعی تطبیق داشته و امکان تغییر پارامترها در شبیه‌سازی، با کمترین خطای داده‌های خروجی امکان‌پذیر خواهد بود.

$$N_i = -D_i \nabla c_i + uc_i \quad (25)$$

طی شبیه‌سازی، مقدار R_i (نرخ واکنش)، طبق معادله ۲۶ تعریف شد:

$$R_i = -k_{\text{reac}} C_{O_3} \quad (26)$$

۳-۳-۳-۲- شرایط اولیه و مرزی

در حل این مسئله، مرز بیرونی در بالای راکتور مولد پلاسما، به عنوان سطح آزاد در نظر گرفته شد. برای سادگی محاسبات، حرکت‌های سطحی سیال نادیده گرفته شدند. مرز ورودی اوزون به درون شیر، در انتهای راکتور در نظر گرفته شد. نرخ جریان اوزون طبق معادله ۲۷ محاسبه شد:

$$n.N_1 = n.(uc_{0,j}) \quad (27)$$

نقاط فشار ثابت نیز به مرز خروجی اوزن اضافه شد ($p=0$). غلظت میکروارگانیزم‌ها و دمای عملیات، طبق طرح دیزاین اکسپرت تعریف شد.

۲-۴- حل مسئله

از نرم‌افزار کامسول ۵/۳a برای حل چهار ماژول بر اساس جریان آرام استفاده شد. از دستگاه با مشخصات سیستم Intel® Core™ i5-4300U, 2.50 GHz, RAM 4 GB, and Windows 10 64-bit برای این منظور استفاده شد. تورلنس نسبی حل مسئله به مقدار ۰/۰۱ و ثبت داده‌ها به مدت ده دقیقه و هر یک دقیقه انجام شد. از مش نرمال برای هندسه و از مش ریز برای راکتور در فضای دوبعدی طبق شکل ۱ استفاده شد.

۲-۵- تأیید مدل شبیه‌سازی شده

به منظور اجرای شبیه‌سازی، ابتدا داده‌های جمع‌آوری شده آزمایشگاهی در نرم‌افزار کامسول شبیه‌سازی شدند.

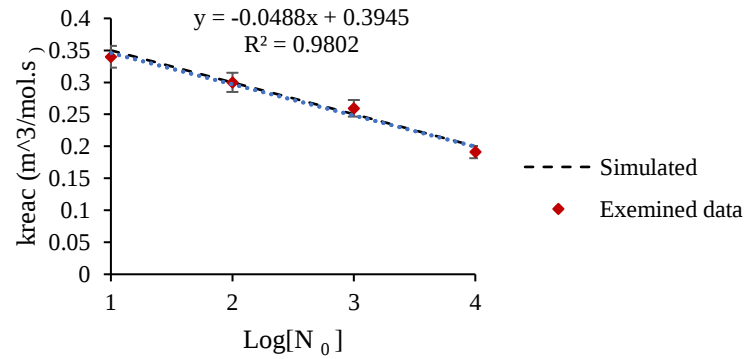


Figure 2- Fitting the simulated and experimental data

آنزیم پراکسیداز که طبق شکل ۴-۸ در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به زمانی بیش از ۱۰,۰۰۰ ثانیه برای غیر فعال شدن نیاز دارد، با کمک تیمار پلاسما طی ۰/۹ دقیقه غیر فعال شد. آنزیم‌های دیگر مانند لیپاز، فسفاتاز قلیایی و کاتالاز، در زمان بسیار اندک ۰/۵ ثانیه غیر فعال شدند. این نتایج توانایی بالقوه تیمار پلاسما برای غیر فعال کردن آنزیم‌ها در دما و زمان بسیار کمتر از فرآیندهای حرارتی رایج را نشان می‌دهد.

۳-۲- غیر فعال شدن آنزیم‌ها، دنا توره شدن پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه

شکل ۳ زمان غیر فعال شدن آنزیم‌های موجود در شیر را با کمک تیمار پلاسما نشان می‌دهد. این شکل مربوط به تیمار یک و دمای ۶۴/۴ درجه سانتیگراد بوده و نشان می‌دهد

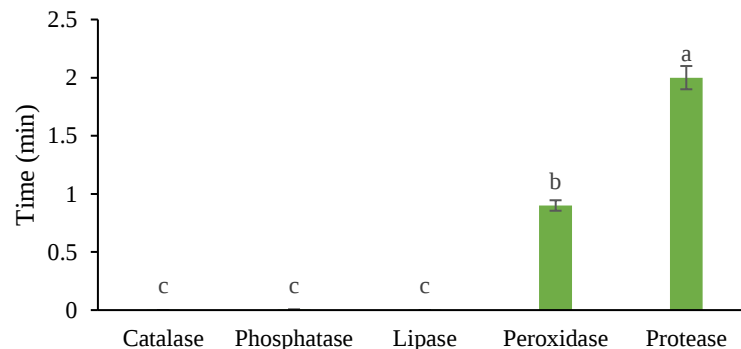


Figure 3- Inactivation time of studied enzymes in bottled milk under plasma treatment

صنایع لبنی نشان می‌دهد. وجود این آنزیم‌ها باعث بدتر شدن مسئله ته نشینی، ژلی شدن دلمه، و تلخی در شیر استریل می‌شود.

محمدپور و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند میزان فعالیت پروتئازهای ترشح شده با سودوموناس در نمونه‌های شیر تیمار شده با پلاسما کمتر از نمونه‌های بدون تیمار پلاسما طی ۸ روز نگهداری بود [۱۶]. علاوه بر این، هر چه زمان تیمار پلاسما طولانی‌تر باشد، میزان فعالیت در طول ذخیره سازی کمتر می‌شود. بیشترین کاهش میزان فعالیت در

تا به امروز، مطالعات متعددی بر روی غیر فعال سازی آنزیم‌های مخرب خاص در انواع محصولات غذایی با استفاده از تکنیک پلاسما انجام شده است. اثر مهاری تیمار پلاسما در برابر پراکسیداز گوجه فرنگی [۱۳]، فسفاتاز قلیایی شیر [۱۴] و پلی فنل اکسیداز در سیب تازه برش داده شده [۱۵] بوده است. در میان باکتری‌های سایکروتروف شناخته شده برای تولید پروتئازهای خارج سلولی مقاوم در برابر حرارت نیز جنس سودوموناس غالب است. این واقعیت که عملیات حرارتی صنعتی فعلی به اندازه کافی شدید نیست که بتواند چنین پروتئازهایی را غیرفعال کند، اهمیت آن‌ها را در

تیمار پلاسما ۱۰ دقیقه مشاهده شد که ۶۳/۸۱ درصد کمتر از گروه کنترل در پایان ذخیره‌سازی بود.

ثابت شده است که چندین پارامتر مرتبط با پلاسما در اثربخشی تیمار پلاسما در برابر مواد غذایی و آنزیم‌های باکتریایی دخیل هستند، از جمله: نوع تخلیه، ترکیب گاز، ولتاژ و زمان تیمار [۱۷]. همراه با پارامترهای مرتبط با پلاسما، ترکیب محیط مورد استفاده برای تیمار و ساختار آنزیم نیز مهم است. راندمان غیرفعال سازی تیمار پلاسما در برابر آنزیم‌های هدف در محیط‌های پیچیده مانند شیر را می‌توان کاهش داد. در واقع، وجود سایر اجزای شیر، مانند پروتئین‌ها و لیپیدها، نقش محافظتی در برابر تیمار و کاهش قدرت پلاسما ایفا می‌کند که باید در زمان تیمار پلاسما با هدف نابودی آنزیم‌های هدف، در نظر گرفت.

در مقایسه با تعداد کل مطالعاتی که با تأثیر پلاسما بر اجزای غذا در مایعات سروکار دارند، مطالعات متعددی در مورد تأثیر پروتئین‌ها و آنزیم‌ها وجود دارد. لیزوزیم بخشی از مطالعه تاکائی و همکاران (۲۰۱۲) بود که آنزیم موجود در بافر فسفات را با استفاده از جت پلاسما با هلیوم و اکسیژن به عنوان گاز فرآیند، تیمار کرد [۱۸]. آن‌ها کاهش فعالیت و ساختار ثانویه و همچنین کاهش فلورسانس تریپتوفان را مشاهده کردند، در حالی که وزن مولکولی کمی افزایش یافت. آن‌ها همچنین به این نتیجه رسیدند که این تغییرات از نور UV و نه از گرمای پلاسما تأثیر می‌گیرند و پیشنهاد کردند که گونه‌های واکنشی تولید شده توسط پلاسما بر لیزوزیم تأثیر می‌گذارند. تممینی و همکاران (۲۰۱۳) کازئین و پروتئین آب پنیر را در یک محلول بافری و به منظور کاهش حساسیت زایی با پلاسما تیمار کرد [۱۹]. با این حال، هیچ تغییری را با SDS-PAGE یا با تجزیه و تحلیل اتصال Ci-ELISA/IgE اندازه‌گیری نکردند. در مقابل، گزارش شده است که آنزیم‌هایی مانند پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز با موفقیت توسط پلاسما سرد غیرفعال شده‌اند [۱۳].

پیشنهاد شده است که غیرفعال شدن، به دلیل عملکرد ترکیبی گونه‌های فعال اکسیژن ذاتی پلاسما مانند رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن اتمی اکسید کننده است. اسیدهای آمینه خاص موجود در آنزیم‌ها، منجر به تغییرات ساختاری بعدی و در نتیجه از دست دادن فعالیت آنزیم می‌شوند. با این حال، تخریب تا حد زیادی به وجود مواد همراه مانند کربوهیدرات‌ها بستگی دارد [۲۰].

شکل ۴ زمان دنا توره شدن پروتئین‌های آلبومین سرم گاوی، ایموگلوبولین، آلفا لاکتوآلبومین، بتا لاکتوگلوبولین، و اسید آمینه لیزین در تیمار یک را نشان می‌دهد. طبق این نمودار، تحت تأثیر تیمار پلاسما غیر حرارتی، زمان دنا توره شدن پروتئین‌ها و اسید آمینه مورد مطالعه ثبات معناداری در سطح ۵٪ دارد. در این بین، زمان غیر فعال شدن اسید آمینه لیزین از سایر موارد مطالعه شده در این بررسی، کمتر و پروتئین بتا لاکتوآلبومین از همه بیشتر بود. این نشان می‌دهد همانند سایر فرآیندهای حرارتی، غیر فعال شدن اسید آمینه ضروری لیزین، با سرعت بیشتری نسبت به ترکیبات تغذیه‌ای مورد مطالعه رخ داده است. می‌توان تصور کرد از آنجا که L-لیزین یک اسید آمینه ضروری است، تخریب آن به این روش، کیفیت تغذیه‌ای ماده خوراکی را کاهش می‌دهد [۲۱].

اثر پلاسما بر روی آنزیم‌های درون‌زای شیر، مشابه عملکرد میکروارگانیسم‌ها است. آنزیم‌ها تحت تأثیر این تیمار، از طریق واکنش‌های اکسیداسیون پپتیدها که ترکیب پروتئین‌ها را تغییر داده و در نتیجه فعالیت آنزیمی آن‌ها را کاهش می‌دهند، غیرفعال می‌شوند. این فناوری در حال حاضر در شیر و محصولات لبنی استفاده می‌شود. مطالعات توسط سگات و همکاران (۲۰۱۶)، اثر پلاسما سرد اتمسفری را بر فعالیت و ساختار فسفاتاز قلیایی شیر ارزیابی کردند [۱۴]. آنزیم فسفاتاز قلیایی در محلول، در معرض سه ولتاژ بالا مجزا (۴۰، ۵۰ و ۶۰ کیلوولت) برای مدت زمان ۱۵ ثانیه تا ۵ دقیقه تیمار با پلاسما سرد قرار گرفت. نتایج نشان داد که فناوری پلاسمایی مبتنی بر تخلیه سد دی الکتریک، قادر است آنزیم را در عرض چند ثانیه غیرفعال کند. طیف دو رنگی نشان داد که آنزیم با ساختار آلفا-مارپیچ

غالب مشخص می‌شود و محتوای مارپیچ با افزایش زمان و ولتاژ تیمار تمایل کاهشی نشان می‌دهد.

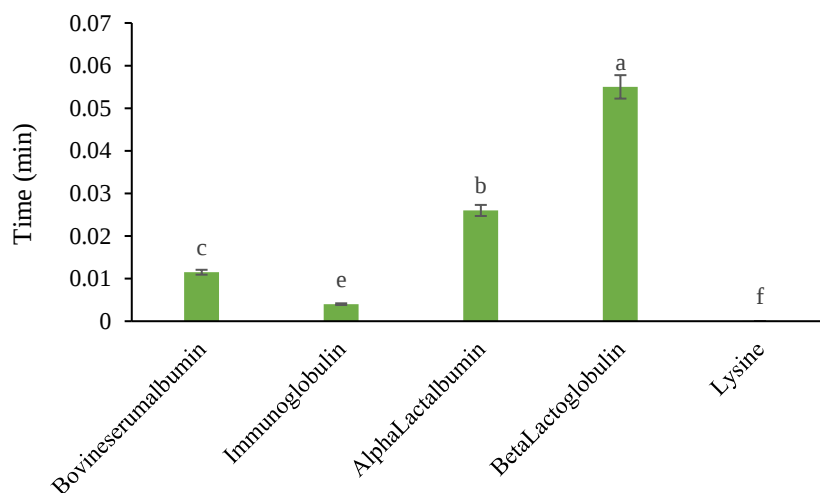


Figure 4- Inactivation time of studied proteins and lysine in bottled milk under plasma treatment

[۱۴]. طی این مطالع، همچنین مقدار بیشتری از گروه‌های

کربونیل مشاهده شد که می‌توان آن را به تغییرات تعدادی از گروه‌های زنجیره جانبی اسیدهای آمینه، به ویژه با $-NH$ و $-NH_2$ یا تکه‌های پیوند پپتیدی نسبت داد. کاهش در گروه‌های آزاد SH پس از ۳۰ دقیقه تیمار نیز وجود داشت. تشکیل پیوند متقابل دی سولفید، روشی برای مشخص کردن تجمع پروتئین است. پیوندهای متقابل دی سولفیدی معمولاً طی عملیات حرارتی رخ می‌دهند و به دنا توره شدن پروتئین‌های آب پنیر مربوط می‌شوند.

گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده طی تیمار با پلاسما (به عنوان مثال، رادیکال هیدروکسیل)، باعث افزایش پیوند متقابل اسیدهای آمینه آزاد با زنجیره‌های جانبی اسید آمینه حاوی گوگرد مانند سیستئین و در نتیجه تجمع پروتئین می‌شوند [۲۴]. مانوهران و همکاران (۲۰۲۰) مشخص کردند که استفاده از تیمار پلاسمای سرد کم فشار، محتوای پروتئین شیر خام را در مقایسه با نمونه شاهد تغییر نداد [۲۵].

مطالعه‌ای روی شیر خشک بدون چربی، هیچ تغییر قابل توجهی در پروفایل اسید آمینه نشان نداد [۶]. آن‌ها توضیح دادند که رادیکال‌های اکسیژن اتمی و هیدروکسیل که به

پروتئین‌ها دستخوش انواع تغییرات شیمیایی می‌شوند، از جمله هنگامی که واحدهای لیزین با دماهای زیاد و pH قلیایی روبه‌رو می‌شوند. چنین تغییراتی گوارش پذیری آنها را کاهش می‌دهد. واکنش قندهای احیاء کننده با گروه‌های آمین ϵ نیز گوارش پذیری لیزین را کاهش می‌دهد [۲۱].

پروتئین‌های شیر (۳۲ گرم در لیتر تا ۳۸ گرم در لیتر در شیر کامل) جزء مهمی در محصولات شیر هستند؛ زیرا بر ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و حسی تأثیر می‌گذارند. پروتئین‌های شیر در دو گروه اولیه دسته بندی می‌شوند که در شیر کامل گاو، شامل کازئین (۸۰٪) و پروتئین آب پنیر (۲۰٪) هستند [۲۲]. چهار نوع اصلی کازئین وجود دارد: α - S_1 ، α - S_2 و κ -کازئین، از سوی دیگر، پروتئین‌های آب پنیر شامل α -لاکتالبومین (α -LA)، β -لاکتوگلوبولین (β -LG)، آلبومین سرم و ایمونوگلوبولین هستند [۲۳].

در مطالعه‌ای که توسط سگات و همکاران (۲۰۱۵) انجام شد، مشخص شد پلاسمای سرد اتمسفری DBD با ولتاژ ۷۰ کیلوولت به مدت ۱۵ دقیقه، باعث اکسیداسیون خفیف پروتئین‌ها شد که با مقدار گروه‌های کربونیل متصل به پروتئین در مقایسه با نمونه کنترل اندازه‌گیری شده بود

ترتیب در ۷۷۷ نانومتر و ۳۰۹ نانومتر از طیف تاییده شده قابل شناسایی هستند، دارای بالاترین پتانسیل اکسیداسیون توسط تمام گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده پلاسما و قادر به اکسیداسیون اسید آمینه هستند. با این حال، هیچ یک از گونه‌ها در طیف نشر نوری شناسایی نشد.

به طور کلی، بسته به شرایط اعمال شده، اثر پلاسمای سرد ممکن است اگر تحت فشار کم یا گاز نیتروژن اعمال شود، تغییر قابل توجهی بر پروتئین‌ها ایجاد نکند، زیرا گونه‌های فعال اکسیژن وجود ندارند. اگر از هوا به عنوان گاز و ولتاژ بالا (۶۰ کیلو ولت) و زمان طولانی تیمار بیش از ۳۰ دقیقه استفاده شود، ممکن است به دلیل غلظت بالاتر گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده، اکسیداسیون خفیف یا تجمع قابل توجهی در پروتئین‌ها ایجاد شود. بنابراین، برای به حداقل رساندن تغییر پروتئین، شرایط تیمار باید متناسب باشد.

۳-۳-۳- ائتلاف ترکیبات تغذیه‌ای و بروز تغییرات رنگی

شکل ۵ زمان نابودی تیامین به عنوان ترکیب نماینده برای مواد مغذی، و بروز واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی را نشان می‌دهد. مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شیر و فرآورده‌های لبنی تحت تأثیر تیمار با پلاسمای سرد قرار نمی‌گیرد. علیرغم برخی تفاوت‌های رنگی مشاهده شده، بسیاری از مطالعات هیچ تفاوتی را گزارش نکرده‌اند که توسط چشم انسان قابل تشخیص باشد. شیر تیمار شده با پلاسمای سرد، می‌تواند

اسیدیت به بالاتری داشته باشد، که ممکن است به دلیل واکنش‌های چند مرحله‌ای گونه‌های فعال تولید شده توسط پلاسما با آب در فصل مشترک گاز و آب باشد. تفاوت در اسیدیت مایعات تیمار شده با پلاسما ممکن است از عوامل مختلفی ناشی شود، از جمله حجم تیمار شده، ظرفیت بافری، منبع پلاسما و گاز القای مورد استفاده. برای پنی‌ر، افزایش اکسیداسیون لیپید ممکن است اتفاق بیفتد، که ممکن است طعم را از بین ببرد و بر پذیرش مصرف کننده تأثیر بگذارد. بنابراین کاربرد این فناوری در محصولات پرچرب باید به دقت مورد ارزیابی قرار گیرد. پلاسمای سرد را می‌توان با موفقیت برای اصلاح انتخابی ساختار پروتئین و بهبود عملکرد پروتئین‌های آب پنی‌ر استفاده کرد. همچنین این تیمار توانست در عرض چند ثانیه آنزیم فسفاتاز قلیایی را غیرفعال کند. همچنین، اصلان (۲۰۱۶) نشان داد که تیمار با پلاسمای DBD در ولتاژهای ۱/۵، ۳ و ۵ کیلوولت با زمان تیمار به طور متوسط ده دقیقه، کیفیت تغذیه‌ای و خواص فیزیکوشیمیایی شیر را تغییر نداده است [۲۶]. دَش و جاگان موهان (۲۰۲۲) گزارش دادند محتوای پروتئین و چربی در شیر پس از تیمار با پلاسما برای تمام مدت زمان تیمار یعنی (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه) تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) با شاهد نداشت. مقدار پروتئین و چربی نمونه شاهد به ترتیب 3.0 ± 0.1 درصد و 3.52 ± 0.01 درصد بود. در حالی که برای نمونه ۱۵ دقیقه، مقدار پروتئین و چربی به ترتیب 3.0 ± 0.02 و 3.49 ± 0.01 درصد بود. یافته‌های مشابهی از محتوای پروتئین پس از پلاسمای سرد روی شیر مشاهده شد [۲۷].

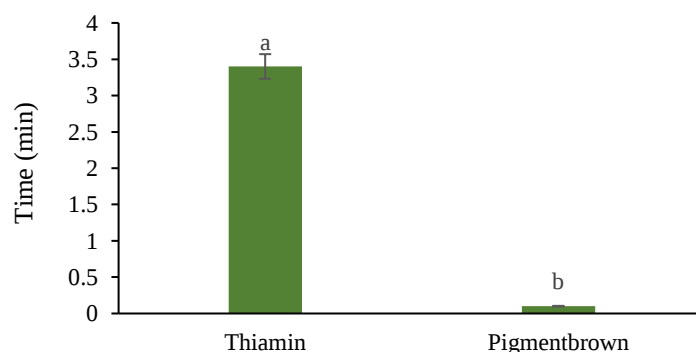


Figure 5- The time of thiamine loss and occurrence of browning reactions in milk

تغییر قابل توجهی در رنگ پس از تیمار پلاسما شیر خام تا ۱۵ دقیقه از زمان تیمار گزارش نکردند [۳۰]. اختلاف رنگ کل (ΔE) برای شیر گاو پس از ۹ دقیقه تیمار پلاسما با ۹ کیلو ولت ۰/۲۵ بود در حالی که قرار گرفتن در معرض طولانی‌تر با پلاسما (۲۰ دقیقه) باعث تفاوت رنگ کمی بیشتر با ۵۲/۰ ΔE شد. در عوض، کیم و همکاران (۲۰۱۵) بعد از ۵ و ۱۰ دقیقه تیمار شیر با پلاسما، تغییر قابل ملاحظه‌ای در مقدار ΔE مشاهده نکردند [۷]. آنها فرض کردند که L^* بالاتر شیر تیمار شده با پلاسما، ممکن است مربوط به تعداد بیشتر گلبول‌های چربی باشد که قادر به پراکنش نور به طور مؤثرتری هستند. علاوه بر این، طبق نتایج پوپوف رالچیک و همکاران (۲۰۰۸)، افزایش b^* شاخصی است که واکنش‌های غیر آنزیمی تغییر رنگ شیر را تعیین می‌کند که به عنوان واکنش‌های میلارد نیز شناخته می‌شود [۳۱]. این واکنش با اتصال گروه آلدئیدی لاکتوز با گروه E- آمینه باقیمانده‌های لیزیل (رادیکال اسید آمینه یا باقیمانده اسید آمینه لیزین) از پروتئین‌های مختلف شیر آغاز می‌شود. در بخش قبلی نیز مشاهده شد زمان نابودی اسید آمینه لیزین بسیار اندک بود و با توجه به اندک بودن زمان لازم برای آغاز واکنش‌های قهوه‌ای شدن در شیر، می‌توان این دو پدیده را به هم مرتبط دانست.

در مطالعه‌ای توسط وو و همکاران. (۲۰۲۱)، مقادیر ΔE تیمار نمونه با پلاسما نوع DBD در ولتاژ ۸۰ ولت برای ۱۲۰ ثانیه در محدوده بین تغییرات رنگ کل شیر فرادما شده (۳۶/۰۲) و شیر پاستوریزه شده (۹/۱۳) بود، بنابراین رنگ نمونه‌های تیمار شده در محدوده رنگ پذیرفته شده در نظر گرفته شد [۳۲].

بنابراین، برای ایجاد تغییر ناچیز در رنگ لبنیات، توصیه می‌شود زمان تیمار زیر ۵ دقیقه باشد. از آنجایی که b^* بالاتر (به عنوان مثال بیشتر از ۶) نشان‌دهنده واکنش‌های غیر آنزیمی شیر است، غلظت کم اکسیژن در گاز مورد استفاده، برای جلوگیری از اکسیداسیون چربی و پروتئین که باعث افزایش میزان زردی می‌شود، توصیه شده است.

رنگ شیر یک خاصیت حسی مهم است که نه تنها بر انتخاب یک محصول نسبت به محصول دیگر توسط مصرف کننده تأثیر می‌گذارد، بلکه با کیفیت لبنیات حاصل از آن نیز ارتباط تنگاتنگی دارد. رنگ شیر بسته به دلایل مختلفی از جمله نژاد گاو، ترکیب خوراک، مرحله شیردهی، زمان شیردهی و زایمان فصلی از سفید مایل به زرد تا تقریباً سفید متغیر است. رنگ توسط کمیسیون بین المللی روشنایی، بر اساس یک فضای رنگی سه بعدی با سه مختصات اولیه L^* ، a^* ، b^* تعریف می‌شود که L^* نشان‌دهنده روشنی یا تیرگی، a^* قرمزی یا سبزی و b^* زردی یا آبی رنگ است. تفاوت رنگ کل (ΔE)، معیار محاسبه استاندارد تغییرات رنگی است که قضاوت بصری انسان را از تفاوت بین دو رنگ درک شده بیان می‌کند [۲۸].

همانگونه که قبلاً ذکر شد، زمانی که هوا و اکسیژن به عنوان گاز فعال در پلاسما سرد استفاده می‌شود، گونه‌های فعال اکسیژن مانند ازن تولید می‌شود. نسبت گونه‌های مختلف اکسیژن فعال، به عوامل زیادی از جمله ترکیب گاز، زمان تیمار پلاسما، نحوه قرار گرفتن در معرض و منبع پلاسما بستگی دارد. برای مثال، وجود بخار آب در گاز در حال کار، گونه‌های فعال اکسیژن را از ازن به پراکسیدهای بزرگ‌تری منتقل می‌کند که اکسیداسیون لیبیدی بسیار کمتری را نشان می‌دهند [۲۹]. گورل و همکاران (۲۰۱۲) در تحقیقی برای نابودی باکتری اشریشیاکلی توسط پلاسما سرد، مشاهده کردند نمونه‌های شیر هیچ تغییر مهمی در رنگ پس از ۰، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ دقیقه از تیمارهای ۹ کیلوولت پلاسمایی نشان ندادند و تنها تغییر جزئی در مقایسه با شیر تیمار نشده پس از ۲۰ دقیقه رخ داد [۳۰].

مانوهاران و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که مقادیر ΔE در شیر تیمار شده با پلاسما، ۰/۹۱ و ۱/۵۸ برای شیر تیمار شده به ترتیب برای سرعت جریان ۶ و ۳ میلی لیتر در دقیقه بود [۲۵]. در حالی که گورول و همکاران (۲۰۱۲) هیچ

۴- نتیجه‌گیری کلی

انرژی این تیمار و هزینه‌های کلی تولید بستگی دارد. ماشین‌های مربوط به این تکنولوژی، باید ارزان باشند، به طور مداوم با سرعت بالا و با کمترین تعمیر و نگهداری تیمار انجام دهند و با انواع گازها کار کنند. بنابراین، اجتناب از استفاده از گازهای نجیب پرهزینه به دلیل حاشیه‌های عملیاتی کم، از اهمیت اولیه‌ای برخوردار است. در حالت ایده آل، منابع پلاسما که قادر به یونیزه کردن هوا در شکاف‌های بزرگ هستند، مناسب خواهند بود. علاوه بر این، منابع پلاسما که به جای منابع انرژی فرکانس رادیویی کار می‌کنند، می‌توانند منجر به مدیریت هزینه شوند. روش‌های غیر حرارتی معمولاً هزینه‌های بالاتری نسبت به فرآیندهای حرارتی دارند، اما انتظار می‌رود این هزینه‌ها با تلاش بیشتر برای تجاری‌سازی آن‌ها کاهش یابد. علاوه بر این، مزایای مربوط به خواص حسی و کیفیت محصولات می‌تواند بیشتر باشد.

۵- سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری بابت حمایت مالی از این پژوهش در قالب طرح به شماره ۲۰-۱۴۰۱-۰۲ سپاسگزاری می‌شود.

۶- منابع

- [1] Nikmaram, N., & Keener, K. M. (2022). The effects of cold plasma technology on physical, nutritional, and sensory properties of milk and milk products. *LWT*, 154, 112729.
- [2] Misnal, M. F. I., Redzuan, N., Zainal, M. N. F., Ahmad, N., Ibrahim, R. K. R., & Agun, L. (2022). Cold Plasma: A Potential Alternative for Rice Grain Postharvest Treatment Management in Malaysia. *Rice Science*, 29(1), 1-15.
- [3] Xiang, Q., Liu, X., Liu, S., Ma, Y., Xu, C., & Bai, Y. (2019). Effect of plasma-activated water on microbial quality and physicochemical characteristics of mung bean sprouts. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 49-56. doi:10.1016/j.ifset.2018.11.012
- [4] Balthazar, C. F., Pimentel, T. C., Ferrao, L. L., Almada, C. N., Santillo, A., Albenzio, M., et al. (2017). Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2), 247-262.
- [5] Dhanashekar, R., Akkinepalli, S., & Nellutla, A. (2012). Milk-borne infections. An analysis of their potential effect on the milk industry. *Germs*, 2(3), 101-109.
- [6] Chen, D., Peng, P., Zhou, N., Cheng, Y., Min, M., Ma, Y., et al. (2019). Evaluation of *Cronobacter sakazakii* inactivation and physicochemical property changes of non-fat dry milk powder by cold atmospheric plasma. *Food Chemistry*, 290, 270-276. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.149>
- [7] Kim, H. H. Y., & Jimenez-Flores, R. (1995). Heat-induced interactions between the proteins of milk-fat globule-membrane and skim milk. *Journal of Dairy Science*, 78(1), 24-35.

- [8] Farrell, H. M., Jr., Wickham, E. D., Unruh, J. J., Qi, P. X., & Hoagland, P. D. (2001). Secondary structural studies of bovine caseins temperature dependence of β -casein structure as analyzed by circular dichroism and FTIR spectroscopy and correlation with micellization. *Food Hydrocolloids*, 15, 341–354.
- [9] Wang, Y., Wang, Z., Yang, H., & Zhu, X. (2020). Gas phase surface discharge plasma model for yeast inactivation in water. *Journal of Food Engineering*, 286, 110117. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110117>
- [10] De Jong, P. (2008). Thermal processing of milk. *Advanced dairy science and technology*, 1-34.
- [11] Ibarz, A., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2002). *Unit operations in food engineering*: CRC press.
- [12] Ranjbar Nedamani, A. (2022). Finding Effective Plasma Process Factors on Yeast Deactivation by Numerical Simulation and RSM. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, -. doi:10.22067/ifstrj.2022.75558.1152
- [13] Pankaj, S. K., Wan, Z., & Keener, K. M. (2018). Effects of Cold Plasma on Food Quality: A Review. *Foods*, 7(1). doi:10.3390/foods7010004
- [14] Segat, A., Misra, N., Cullen, P. J., & Innocente, N. (2016). Effect of atmospheric pressure cold plasma (ACP) on activity and structure of alkaline phosphatase. *Food and Bioprocess Processing*, 98, 181e188.
- [15] Tappi, S., Berardinelli, A., Ragni, L., Dalla Rosa, M., Guarnieri, A., & Rocculi, P. (2014). Atmospheric gas plasma treatment of fresh-cut apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 21, 114e122.
- [16] Mohammadpour, H., Zarei, M., Cullen, P. J., Valtchev, P., Schindeler, A., & Dehghani, F. (2021). Potential application of non-thermal atmospheric plasma in reducing the activity of Pseudomonas-secreted proteases in milk. *International Dairy Journal*, 120, 105078.
- [17] Fernandez, A., Shearer, N., Wilson, D., & Thompson, A. (2012). Effect of microbial loading on the efficiency of cold atmospheric gas plasma inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *International Journal of Food Microbiology*, 152, 175e180.
- [18] Takai, E., Kitano, K., Kuwabara, J., & Shiraki, K. (2012). Protein inactivation by low-temperature atmospheric pressure plasma in aqueous solution. *Plasma processes and polymers*, 9(1), 77-82.
- [19] Tammineedi, C. V., Choudhary, R., Perez-Alvarado, G. C., & Watson, D. G. (2013). Determining the effect of UV-C, high intensity ultrasound and nonthermal atmospheric plasma treatments on reducing the allergenicity of α -casein and whey proteins. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1), 35-41.
- [20] Surowsky, B., Schlüter, O., & Knorr, D. (2014). Interactions of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma with Solid and Liquid Food Systems: A Review. *Food Engineering Reviews*, 7(2), 82-108. <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9088-5>
- [21] Fennema, O. R. (2008). *Food chemistry* (Vol. 76). CRC Press.
- [22] Davoodi, S. H., Shahbazi, R., Esmaeili, S., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M., Jazayeri, S., et al. (2016). Health-related aspects of milk proteins. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 15(3), 573–591. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2016.1897>
- [23] Sharma, S., & Singh, R.k. (2020). Cold plasma treatment of dairy proteins in relation to functionality enhancement. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 102, pp. 30–36). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.013>
- [24] Meinschmidt, P., Ueberham, E., Lehmann, J., Reineke, K., Schlüter, O., Schweiggert-Weisz, U., et al. (2016). The effects of pulsed ultraviolet light, cold atmospheric pressure plasma, and gamma-irradiation on the immunoreactivity of soy protein isolate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 38, 374–383. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.007>
- [25] Manoharan, D., Stephen, J., & Radhakrishnan, M. (2020). Study on low-pressure plasma system for continuous decontamination of milk and its quality evaluation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2). <https://doi.org/10.1111/jfpp.15138>
- [26] Aslan, Y. (2016). "The Effect of Dielectric Barrier Discharge Plasma Treatment on the Microorganisms Found in Raw Cow's Milk." *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi* 3(2): 169-173.
- [27] Dash, S., & Jaganmohan, R. (2022). Stability And Shelf-Life Of Plasma Bubbling Treated Cow Milk. *bioRxiv*.

- [28] Browder, R. (2018). *Nutraceutical Snack Prepared From Sprouted Rough Rice And Green Gram And Its Psychocemical Properties, In Vitro Glycemic Index, And Sensory Attributes*. <https://scholarworks.uark.edu/fdscuht/4>.
- [29] Feizollahi, E., Misra, N. N., & Roopesh, M. S. (2021). Factors influencing the antimicrobial efficacy of Dielectric Barrier Discharge (DBD) Atmospheric Cold Plasma (ACP) in food processing applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(4), 666-689.
- [30] Gurol, C., Ekinici, F., Aslan, N., & Korachi, M. (2012). Low temperature plasma for decontamination of E. coli in milk. *International journal of food microbiology*, 157(1), 1-5.
- [31] Popov-Raljić, J. V., Lakić, N. S., Lalić- Petronijević, J. G., Barać, M. B., & Sikimić, V. M. (2008). Color changes of UHT milk during storage. *Sensors*, 8(9), 5961–5974. <https://doi.org/10.3390/s8095961>
- [32] Wu, X., Luo, Y., Zhao, F., & Mu, G. (2021). Influence of dielectric barrier discharge cold plasma on physicochemical property of milk for sterilization. *Plasma Processes and Polymers*, 18(1), 1900219.



Numerical Calculation of the Denaturation of Enzymes, Nutritional Proteins, and Occurrence of Browning Reaction in Bottled Milk under Cold Plasma Treatment

Azadeh Ranjbar Nedamani^{1*}

Assistant Prof. of Biosystem Engineering Dept. in the Sari Agricultural Sciences & Natural Resources University.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2023/1/31 Accepted: 2024/1/3 Keywords: Browning reactions, Cold plasma, Enzyme deactivation, Milk, Nutritional Proteins DOI: 10.22034/FSCT.21.146.42 *Corresponding Author E-Mail: a.ranjbar@sanru.ac.ir	The aim of this work, was studying the effect of cold plasma treatment on enzymes and nutritional proteins denaturation, and occurrence of browning reactions of bottled raw milk. A surface discharge plasma system was used for this purpose. The reactor of this system was a quartz cylinder with a diameter of 1 cm and a height of 25 cm. a steel cover with a thickness of 1 mm and height of 25 cm was used on the inner surface of the reactor and as a high voltage discharge electrode. The liquid inside the bottle (milk) was also considered as neutral electrode. The time of inactivation of catalase, alkaline phosphatase, lipase, peroxidase, and protease enzymes, bovine serum albumin, immunoglobulins, alpha lactalbumin, beta lactalbumin, lysine and thiamine were investigated. The simulation was performed by COMSOL a3.5 software for a two-dimensional geometry. The results showed the deactivation time of catalase, phosphatase, and lipase is highly low while the peroxidase and protease show the longest deactivation time. However the final deactivation time of all enzymes is highly low compared with thermal treatments. The peroxidase diactivated at 0.9 min and protease deactivated at 2 minutes after plasma treatment. The other enzyme deactivation time were 0.5 seconds. Also, the protein and amino acid denaturation time has a significant difference at $p < 0.05$. The inactivation time of lysine amino acid was shorter than other cases studies in this work, and beta-lactalbumin protein had the longest denaturation time. Also, the time of starting the browning reaction under plasma treatment was 3.4 minutes. It can be concluded that the studied cold plasma condition have no negative effect on proteins and color of milk.