Archive of SID

غیر فعال سازی میکروارگانیسم ها در غذاهای مایع با استفاده از میدان الکتریکی

مجتبی صغیرزاده[۱] - دکتر مهدی غیاثی زاده [۲]

چکیده

مطالعه اثرات پالسهای الکتریکی با ولتاژ بالا بر غشای سلولها یکی از مباحث مهم بیوفیزیک و بیوتکنولوژی شده است. پالسهای الکتریکی باشدت میدان بالا سبب می‌شوند پتانسیل الکتریکی غشاء که در حالت عادی mv ۱۱۰-۶۰ است به حدود ۱ v برسد و در نتیجه غشای سلول دارای منفذهای غیرقابل برگشت شود که این اساس غیر فعال سازی میکروبی در پاستوریزاسیون غیر حرارتی غذاهای مایع به وسیله میدان الکتریکی پالسی است.

برای تعیین غیر فعال سازی میکروبی به وسیله میدان الکتریکی، ساکار و میس سرویزیه با غلظت ۲×۱۰^{۶} در میلی لیتر وارد آب سیب گردید. شدت میدانهای ۱۳، ۲۲، ۳۵و ۵۰ kv/cm و تعداد پالسهای ۲ تا ۱۰ با زمان ۲/۵ m s اعمال شدند.

نتایج نشان می‌دهد که با افزایش شدت میدان الکتریکی و یا افزایش زمان پالسها، سلولهای بیشتری از بین می‌روند. برای یک شدت میدان و زمان پالس ثابت نیز غیر فعال سازی میکروبی با تعداد پالس به کار رفته افزایش می‌یابد. همچنین درصد بقای سلولها پس از اعمال پالسهای الکتریکی درمیکروبهای مختلف و در محیطهای غذایی مختلف یکسان نیست. دمای نهایی آب سیب در این روش $۳۰^{\circ}c$ می‌باشد که خیلی کمتر از دمای پاستوریزاسیون سنتی یعنی $۸۰^{\circ}c$ است.

بنابراین میدان الکتریکی پالسی یک تکنولوژی با ارزش برای پاستوریزاسیون غذاهای مایع مثل آب میوه و شیر است که در آن حدود ۱۰ درصد انرژی که برای روش قدیمی پاستوریزاسیون گرمایی لازم مصرف می باشد.

واژه‌های کلیدی: غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌ها - میدان الکتریکی پالسی - غذاهای مایع

[۱]- کارشناس ارشد بیوفیزیک – عضو هیئت علمی دانشکده علوم پزشکی گناباد

[۲]- دکترای فیزیک – عضو هیئت علمی دانشگاه تربیت مدرس

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

مطالعه اثرات پالسهای الکتریکی با ولتاژ بالا برغشای سلولها یکی از مباحث مهم در بیوفیزیک و بیوتکنولوژی شده است. با اعمال پالسهای الکتریکی، غشای سلول نسبت به مولکولهای حل شونده محیط نفوذپذیر می‌شود. این نفوذ پذیری از طریق منافذی که در غشای سلول ایجاد می‌شود صورت می‌گیرد. این فرآیند منفذ سازی الکتریکی نامیده می‌شود و روشی برای انتقال پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک و مولکولهای دیگر به داخل سلولها می‌باشد. هنگامیکه سلولهای سالم در سوسپانسیون در معرض یک میدان الکتریکی خارجی قرار گیرند، پتانسیل الکتریکی غشای آنها افزایش می‌یابد. اگر پتانسیل الکتریکی غشاء که در حالت عادی تقریباً ۶۰-۱۱۰ mv است به حدود ۱ v برسد، از هم پاشیدگی سلول رخ می‌دهد [۱-۲]. پالسهای الکتریکی با شدت میدان متوسط فقط می‌توانند سبب نفوذ پذیری آنی غشای سلول شوند که ممکن است منجر به دستکاری ژنتیکی در طیف وسیعی از انواع سلولها گردند [۳]. ولی پالسهای الکتریکی با شدت میدان بالا می‌توانند سبب تخریب دائم غشای سلول شوند که این اساس غیرفعال سازی میکروبی در پاستوریزاسیون غیرحرارتی غذاهای مایع به وسیله میدان الکتریکی است.

پاستوریزاسیون تجارتی آب میوه به وسیله گرما انجام می‌شود که معمولاً مزه و طعم پختگی در آب میوه تولید می‌کند و سبب ازدست رفتن مواد غذایی و ویتامین‌ها می‌گردد. با افزایش تقاضای مصرف کننده‌ها برای محصولات غذایی تازه توجه زیادی به فرآیندهای غیر حرارتی نگهداری آب میوه شده است [۴].

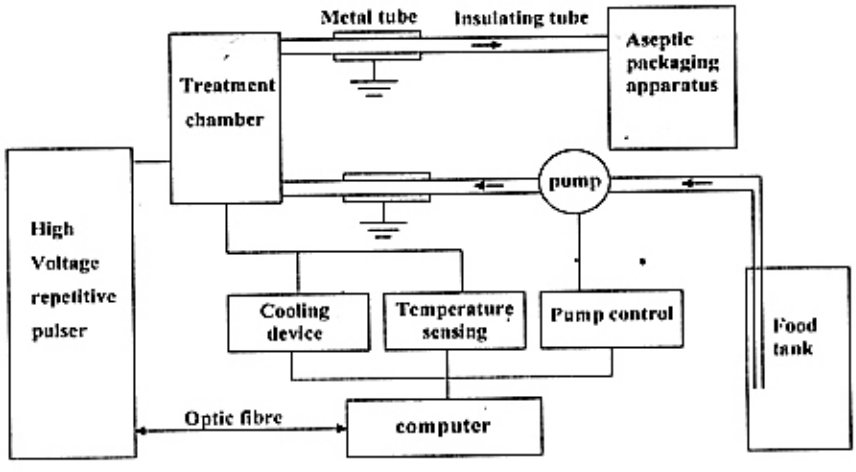
تکنیکهای غیر حرارتی برای نگهداری آب میوه شامل افزایش محافظها مثل اسید بنزوئیک برای کنترل رشد میکروبی [۵]، تشعشع برای غیر فعالسازی میکروارگانیسم‌ها [۶]، برداشت فیزیکی به وسیله اولتراسانتریفوژ و اولترافیلتراسیون برای کاهش جمعیتهای میکروبی [۷]، ذخیره سازی در سرما برای کند کردن رشدمیکروبی و یا ترکیبی از این روشهاست. اخیراً میدانهای الکتریکی پالسی با ولتاژ بالا برای غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌های آب میوه و شیر استفاده شده است [۸-۱۰].

وسایل و روش آزمایش

یک مدل با اندازه آزمایشگاهی از سیستم تیمار با میدان الکتریکی پالسی در شکل ۱ نشان داده شده است که دارای چهار قسمت اصلی است: ژنراتور پالس باولتاژ بالا، اتاق تیمار بین دو الکترود، ماشین بسته بندی که آب میوه را به ظرفهای استریل انتقال می‌دهد و بالاخره سیستم کنترل و اندازه‌گیری. مقدار جریان آب میوه و پارامترهای الکتریکی که به وسیله کامپیوتر کنترل می‌شوند طوری تنظیم می‌گردد که هر واحد حجم آب میوه در معرض تعداد کافی پالس قرار گیرد تا کاهش مطلوب در تعداد سلولهای میکروبی رخ دهد.

برای تعیین میزان غیرفعال سازی میکروبی به وسیله میدان الکتریکی، ساکار و میسس سرویزیه با غلظت 2×10^{6} در میلی لیتر وارد آب سیب گردید. پس از ۲۰ دقیقه آب سیب وارد اتاق تیمار شد. شدت میدانهای الکتریکی ۱۳، ۲۲، ۲۵ و ۵۰ kv/cm و تعداد پالسهای ۲ تا ۱۰ با زمان ۲/۵ m s اعمال گردیدند.

شکل ۱- شکل شماتیک سیستم میدان الکتریکی پالسی برای غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها درغذاهای مایع



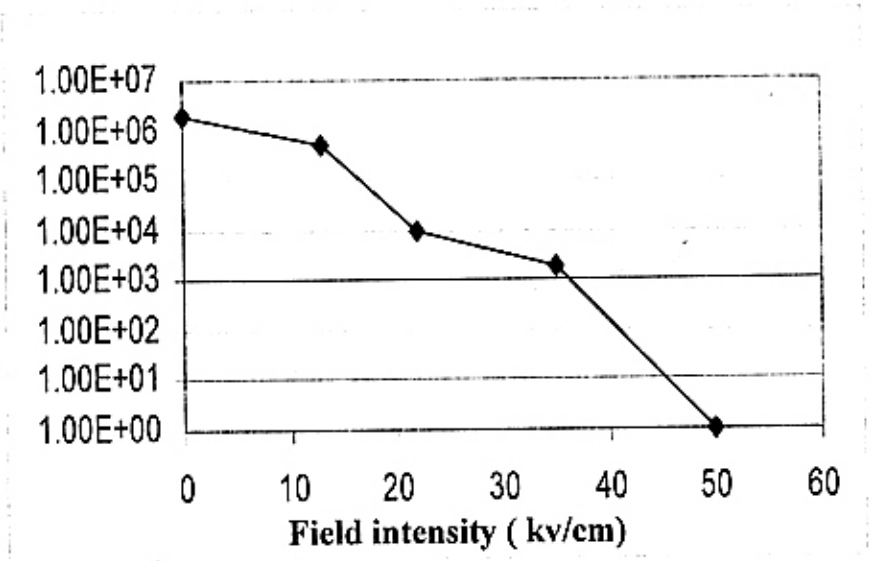
www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

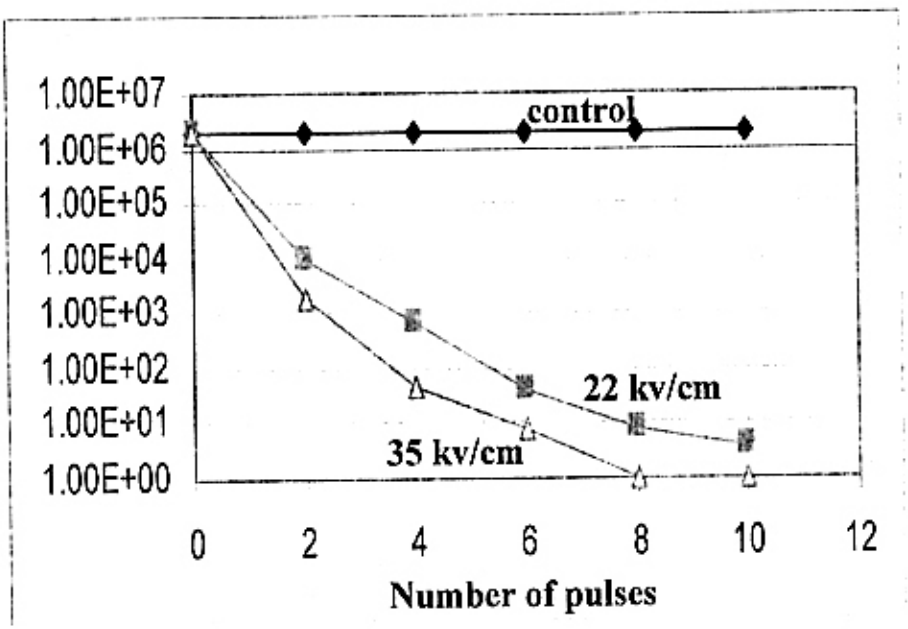
پارامترهایی که مورد بررسی قرار گرفتند عبارتند از: شدت میدان الکتریکی، زمان پالس، تعداد پالس، نوع میکروارگانیسم و نوع غذا که نتایج آن در نمودارهای زیر نشان داده شده است:

شکل ۲- تعداد میکروبهای ساکار و میسس سرویزیه در آب سیب برحسب شدت میدان



مطابق شکل فوق با افزایش شدت میدان الکتریکی، سلولهای میکروبی بیشتری از بین می‌روند، چون اختلاف پتانسیل القایی در غشاء متناسب با شدت میدان است.

شکل ۳- تعداد میکروبهای ساکار و میسس سرویزیه در آب سیب برحسب تعداد پالس

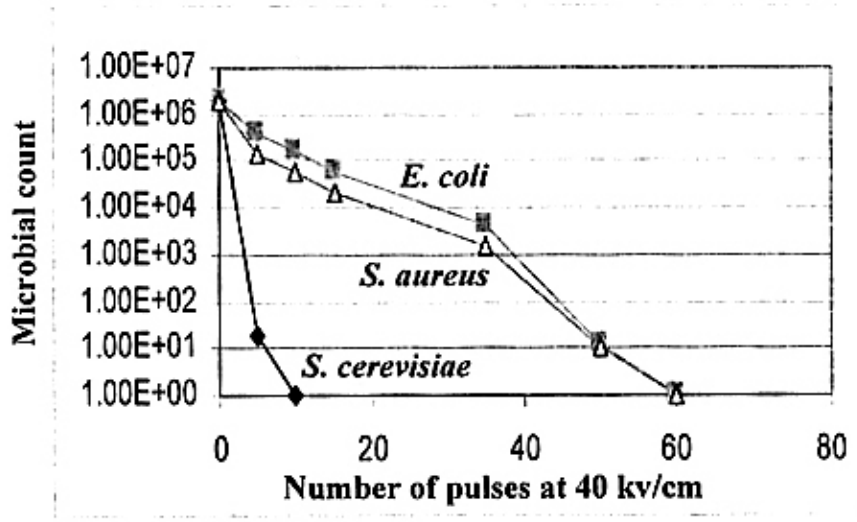


مطابق شکل فوق افزایش در تعداد پالس‌های با شدت میدان و زمان ثابت، سبب از بین رفتن سلولهای میکروبی بیشتری می‌شود.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۴- تعداد میکروبهای اشریشیاکولی ، استافیلوکوکوس اورئوس و ساکارومیسس سرویزیه در محیط آگار دکستروز برحسب تعداد پالس



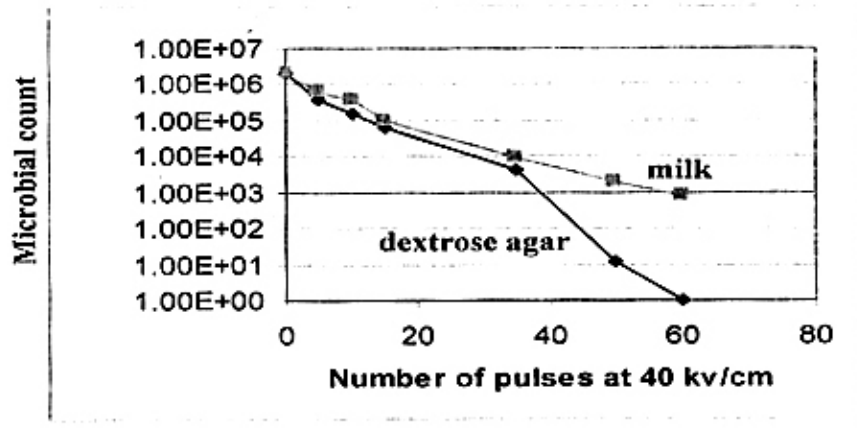
مطابق شکل فوق درصد بقای میکروارگانیسم‌ها پس از اعمال پالسهای الکتریکی در سلولهای مختلف یکسان نیست.

درصد بقای میکروارگانیسم‌ها پس از اعمال میدان الکتریکی از فرمول زیر محاسبه می‌شود : $S=(\frac{t}{t_c})^{-\frac{E-E_c}{k}}$

که t زمان در معرض گذاری و E میدان الکتریکی اعمال شده است. tc و Ec زمان و میدان الکتریکی بحرانی می‌باشند، مقادیری که پس از آن آسیب‌های غیرقابل برگشت در غشای سلول میکروب رخ می‌دهد. K ثابت تجربی است که به PH ، دمای سیال، مرحله رشد و نوع میکروارگانیسم و غیره بستگی دارد. میدان بحرانی با افزایش زمان پالس کاهش می‌یابد. به عنوان مثال با افزایش زمان پالس از ۳ به ۵ میکروثانیه، میدان الکتریکی بحرانی از ۱۷/۵ به ۱۲ kvcm برای اشریشیاکولی در محیط آگاروز کاهش می‌یابد.

با توجه به کوتاه بودن زمان پالسها، از دست رفتن انرژی برای گرم کردن آب سیب بسیار کم است و دمای نهایی آب سیب در این روش ۳۰°c می‌باشد که خیلی کمتر از دمای پاستوریزاسیون گرمایی ۸۰°c است علاوه بر اینکه انرژی به کار رفته در این روش خیلی کمتر است، هیچ انرژی برای سرد کردن آب سیب در طی اعمال پالس یا پس از آن مصرف نمی‌شود و پر کردن ظروف در دمای اتاق انجام می‌شود.

شکل ۵- تعداد میکروبهای اشریشیاکولی برحسب تعداد پالس در محیط آگار دکستروز و شیر



مطابق شکل فوق درصد بقای میکروارگانیسم‌ها پس از اعمال پالسهای الکتریکی در محیط‌های غذایی مختلف یکسان نیست.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه گیری:

مطالعه اثرات پالسهای الکتریکی با ولتاژ بالا بر غشای سلولها یکی از مباحث مهم بیوفیزیک و بیوتکنولوژی شده است. با اعمال پالسهای الکتریکی دارای شدت میدان بالا غشای سلول دارای منفذهای غیر قابل برگشت می‌شود که این اساس غیر فعال سازی میکروبی در پاستوریزاسیون غیر حرارتی غذاهای مایع به وسیله میدان الکتریکی است.

نتایج نشان می‌دهد که غیر فعال سازی میکروبی با شدت میدان الکتریکی، زمان پالس و تعداد پالس رابطه مستقیم دارد. همچنین درصد بقای سلولها پس از اعمال پالسهای الکتریکی در میکروبهای مختلف و در محیطهای غذایی مختلف یکسان نیست. بنابراین میدان الکتریکی پالسی یک تکنولوژی با ارزش برای پاستوریزاسیون غذاهای مایع مثل آب میوه و شیر است که در آن حدود ۱۰ درصد انرژی که برای روش قدیمی پاستوریزاسیون گرمایی لازمست مصرف می‌شود. تهیه دستور کار مناسب جهت استفاده از این روش برای غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌ها در غذاهای نیمه جامد و حتی جامد جنبه مهم جدیدتکنولوژی پاستوریزاسیون غیر حرارتی غذا می‌باشد.

Inactivation of microorganisms in liquid foods using electric field

Abstract

The study of the effect of high voltage electric pulses on biomembranes has become one of the most exciting topics in the biophysical and biotechnological areas. Electric pulses with high electric field intensity can cause transmembrane electrical potential which is normally about 60 to 110 mv, is raised to about 1v ,and irreversible cell membrane breakdown occurs, this forms the basis for microbial inactivation in novel operations such as nonthermal process for liquid foods pasteurization.

To determine microbial inactivation by pulsed electric field treatment ,Saccharomyces cerevisiae at a concentration of 10^6 ml^{-1} was inoculated in apple juice. The selected field intensities were 13,22,35 and 50 kv/cm. The number of pulses were selected from 2 to 10 with pulse duration of 2.5 ms.

The rate of inactivation increases with an increase in the electric field intensity ,pulse duration or applied number of pulses. Survival fraction of microorganisms after applying electrical pulses in different cells or foods isn't identical. The C in this method is smaller °final apple juice temperature of 30 °C than the traditional heat pasteurization temperature of 80 C°.

Pulsed electric field is a cost-effective technology for liquid foods pasteurization ,utilizing less than 10% of the energy necessary for traditional heat pasteurization.

***Key words**: inactivation of microorganisms - pulsed electric field - liquid foods*

www.SID.ir

Archive of SID

References

1 -Aronsson, K. et al . (2002) . Inactivation of microorganisms using pulsed electric fields. Innovative Food Science, 2:41-54.

2 -Bendicho, S. et al . (2002). Effects of Intensity pulsed electric field on a lipase from Pseudomonas fluorescens. J. Dairy Sci . 85: 19-27.

3 -Crowley, J.M. 1993. Electrical breakdown of biomembranes. Biophys. J. 13:24-717.

4 -Harrington , W.O. (1993). Reduction of the microbial population of apple cider by ultraviolet irradiation. Food Technology, 22: 117-120.

5 -Ho, S.Y. and Mittal, G.S. (1996) . Electroporation of cells membranes. Critical Reviews in Biotechnology. 16(4): 349-62.

6 -Kosikowski, F.V. (1970) . Removing microorganisms in fresh apple juice by bacterial centrifugation. Journal of Food Science, 35: 368-70.

7 -Mertens B. (1992). Developments of nonthermal processes for food preservation. Food Technology. 46: 124-33.

8 -Sanchez, M. et al . (1993). Transformation of cells by electroporation. Applied and Environmental Microbiology. 59(7): 2087-92.

9 -San Martin, M.F. et al. (2003). Innovations in food processing. Food Technology. 54 - 60.

10 -Warth, A.D. (1985). Resistance of yeast species to benzoic acid . Journal of food protection, 48 : 564-69.

www.SID.ir