Archive of SID

مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۱/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱۶۷ تا ۱۸۲

مقایسه اثر فرآیند اولتراسوند حرارتی و حرارت دهی متداول بر اکسیداسیون چربی، ویتامین‌ها و میکروارگانیسم‌های شیر

راضیه رضوی[۱] و رضا اسماعیل زاده کناری[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۳

[۱] دانشجوی دکتری مهندسی علوم و صنایع غذایی، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[۲] دانشیار گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

[*] مسئول مکاتبه: Email: Reza_kenari@yahoo.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: شیر پر مصرف‌ترین محصول لبنی در جهان است که معمولا جهت افزایش ایمنی و عمر ماندگاری تحت فرآیندهای حرارتی پاستوریزاسیون و استرلیزاسیون قرار می‌گیرد. فرآیند حرارتی می‌تواند باعث تغییر شکل ناخواسته پروتئین، قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، از بین رفتن ویتامین‌ها و ترکیبات معطر فرار، کاهش نقطه ذوب و تغییر در عطر و طعم شود. تکنولوژی اولتراسوند نوعی فرآیند غیر حرارتی است که در سال‌های اخیر توجه بسیاری را به خود جلب نموده است. **هدف:** در این پژوهش شیر تازه گاو در ۳ دمای ٤٥، ٥٥ و ٦٥ درجه سانتیگراد و سه زمان ٥، ١٠ و ١٥ دقیقه با استفاده از دستگاه اولتراسوند نوع پروب (توان ٣٥٠ وات) در دو شدت ٥٠ و ٧٥ درصد و حمام اولتراسوند (توان ٢٨٠ وات) تیمار شد. **روش کار:** اعمال فرآیند حرارتی در نمونه شاهد به مدت ١٠ دقیقه در دمای ٩٠ درجه سانتیگراد انجام شد. شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش کلی کپک و مخمر، شمارش کلیفرم‌ها، شمارش باکتری‌های سایکروفیل و اشرشیاکلی برای شیر خام، شیر شاهد و شیر تیمار شده با اولتراسوند انجام شد. **نتایج:** مشخص گردید که با افزایش دما و زمان اولتراسوند اکسایش چربی شیر افزایش یافته است. نمونه شیر تیمار شده با حمام اولتراسوند کمترین اندیس پراکسید (٠/٠±١٩/٠١meq O2/Kg oil) و اندیس اسید تیوباربیتوریک (٠/٠±٠٣/٠µg/Kg) را داشت. در شرایط سونیکاسیون یکسان تاثیر افزایش دما از ٤٥ تا ٦٥ درجه سانتیگراد بر تخریب ویتامین‌های شیر بیشتر از تاثیر شدت و نوع اولتراسوند بود و بیشترین تخریب ویتامین‌های تیامین (١٠/٠±٨٠/٠٦ µg/100g)، ریبوفلاوین (٩٧/٠±٥٥/٦٨ mg/100g) و رتینول (µg/100g ١٤/٠±٩/٠٩) در نمونه شاهد اتفاق افتاد. اولتراسوند بخوبی توانست بار میکروبی شیر را کاهش دهد و تغییرات کمتری از نظر کاهش ویتامین‌ها نسبت به روش حرارت دهی متداول در شیر ایجاد نماید که از این حیث دستگاه اولتراسوند نوع پروب در شدت ٧٥٪ موثرتر عمل نموده است. **نتیجه گیری نهایی:** استفاده از اولتراسوند نوع پروب در دمای ٥٥ درجه سانتیگراد با شدت ٧٥٪ و به مدت ١٠ دقیقه به عنوان یک فرآیند غیر مخرب برای پاستوریزه کردن شیر توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: اکسیداسیون چربی، اولتراسوند، بار میکروبی، حرارت دهی، ویتامین

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

شیر و فرآورده‌های آن یکی از مهمترین گروه‌های تغذیه-ای انسان هستند و تقاضای جهانی بالایی برای مصرف آن وجود دارد. همچنین به عنوان جز ترکیبی در تولید بسیاری از محصولات غذایی از قبیل کیک‌ها، کلوچه‌ها، سوپ‌ها و ... مورد استفاده قرار می‌گیرند و خصوصیات عملکردی بسیار خوبی در فرآورده ایجاد می‌نمایند (میشرف ۲۰۰۸). به دلیل اینکه روزانه توسط افراد بسیاری مصرف می‌شود، خصوصیات تغذیه‌ای، میکروبی و حسی آن بسیار مهم است. پاستوریزاسیون فرآیند حرارتی متداول است که برای نابودی پاتوژن‌ها و برخی آنزیم‌ها در شیر استفاده می‌شود. پاستوریزاسیون ترکیبات تغذیه‌ای و خصوصیات حسی شیر را دستخوش تغییر می‌نماید (هرسج و همکاران ۲۰۱۲). چربی یکی از مهمترین اجزای شیر است که ممکن است در هنگام فرآیند و نگهداری دستخوش تغییرات فیزیکوشیمیایی مختلفی از جمله اکسایش خودبخودی، تشکیل اسیدهای چرب ترانس و تولید مواد با وزن مولکولی پائین از قبیل آلدئیدها، کتون‌ها و لاکتون‌ها شود که علاوه بر کاهش ارزش تغذیه‌ای شیر منجر به ایجاد بوی نامطبوع و هدر رفتن ویتامین‌ها می‌شود (میشرف ۲۰۰۸). ویتامین‌ها و مواد معدنی طبیعی موجود در شیر شامل کلسیم، نایسین، فسفر، پتاسیم، پروتئین، ریبوفلاوین، ویتامین A، B12 و D می‌باشند (آناندراجاح ۲۰۱۵). امروزه علاقه زیادی به استفاده از امواج اولتراسوند با شدت بالا در کنار یک فرآیند حرارتی ملایم[1] برای غیر فعالسازی میکروب‌ها و آنزیم‌های عامل فساد و تخریب ایمنی در غذاها وجود دارد (پیاسنا و همکاران ۲۰۰۳). نشان داده شده است که فرآیند اولتراسوند حرارتی تحت فشار، لیپاز و پروتئاز خارج سلولی را غیرفعال می‌کند و اثر آن در نابودسازی باکتری‌های شیر خام بهتر از فرآیند پاستوریزاسیون حرارتی است (کنور و همکاران ۲۰۰٤). نتایج بررسی در منابع کتابخانه‌ای نشان می‌دهد تا کنون پژوهشی مبنی بر استفاده از فرآیند اولتراسوند به عنوان جایگزینی برای فرآیندهای حرارتی متداول بر روی شیر خام انجام نشده است و بیشتر تمرکز بر اثر پیش تیمار اولتراسوند بر خصوصیات رنت، لخته و گلبول‌های چربی بوده است (برمودز-آگوئیره و همکاران ۲۰۰۸؛ بسیلجکوه و همکاران ۲۰۱۱؛ بلکر و همکاران ۲۰۱۲؛ چاندراپالا و همکاران ۲۰۱۳؛ رینر و همکاران ۲۰۰۹؛ گرسوی و همکاران ۲۰۱٦). همچنین شیر علاوه بر مصرف روزانه به عنوان ماده اولیه جهت تولید سایر فرآورده‌های لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرد که استفاده از اولتراسوند به عنوان یک روش جایگزین فرآیند حرارتی به دلیل تغییراتی که در ساختار پروتئین و چربی شیر ایجاد می-نماید بر روی سایر خصوصیات محصولات نهایی از جمله بافت و رنگ آنها تاثیر دارد. بنابراین لازم است تا علاوه بر خصوصیات میکروبی و تغذیه‌ای، ویژگی‌های شیمیایی و اکسیداسیون چربی نیز مورد مطالعه قرار بگیرد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر فرآیند اولتراسوند به عنوان جایگزینی برای فرآیند حرارتی دما بالا بر بار میکروبی، اکسیداسیون چربی به عنوان یک صفت کیفی و خصوصیات تغذیه‌ای شیر از نظر ویتامین-ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شیر تازه گاو (۳/۳ درصد چربی، ۳/۰۹ درصد پروتئین، دانسیته ۱۰۳۷ kg/m3) از مزرعه پرورش دام فیروزکنده (ساری-مازندران-ایران) تهیه شد و در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در پژوهش دارای درجه تجزیه‌ای[2] بودند. محیط‌های کشت مورد استفاده و مواد شیمیایی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

تیمار با اولتراسوند

جهت تیمار کردن نمونه‌ها از دستگاه فراصوت نوع پروبی مدل Heilscher ساخت کشور آلمان در دامنه نوسان ۵۰

[1]-Thermosonication

[2]-Analytical Grade

www.SID.ir

Archive of SID

و ۷۵٪ و حمام اولتراسوند مدل S30H ساخت شرکت Elma آلمان در فرکانس ۳۷ کیلوهرتز استفاده شد. نمونه-های شیر به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه در سه دمای ٤٥، ٥٥ و ٦٥ درجه سانتیگراد تحت تاثیر تیمار اولتراسوند قرار گرفتند. نمونه شاهد در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از هات پلیت حرارت‌دهی شد (رینر و همکاران ۲۰۰۹).

اندازه‌گیری کمی ویتامین‌ها

اندازه‌گیری کمی ویتامین‌ها با استفاده از دستگاه HPLC مدل Agilent سری ۱۲۰۰ ساخت شرکت والدبرون آلمان انجام شد. ویتامین‌های محلول در آب (تیامین و ریبوفلاوین) و محلول در چربی (توکوفرول و رتینول) با استفاده از روش رینر و همکاران (۲۰۱۰) اندازه‌گیری شد. ستون مورد استفاده در ابعاد ۱۵۰×٤/٦ میلی‌متر با قطر داخلی ٤ میکرومتر بود. ستون C18 برای فاز ساکن و فاز متحرک ترکیبی از استونیتریل (حلال A) و محلول بافر (۲۰ میلی مولار KH2PO4) حاوی عامل جفت کننده یون (۰/۱٪ هگزان سولفونات) در pH=۳ (حلال B) بود. دمای ستون ۳۰ درجه سانتیگراد و آشکارساز UV بود. برنامه مورد استفاده شامل ۹۷٪ A (۳-۰ دقیقه)، و ۹۷-۵۰٪ A (۱۸-۳ دقیقه) بود. نرخ جریان ۱/۵ میلی‌لیتر بر دقیقه بود. برای اندازه‌گیری میزان ویتامین‌های محلول در چربی ۲ گرم نمونه شیر استفاده شد. سیستم مورد استفاده همان سیستم شرح داده شده در بالا بود. استونیتریل-متانول (۷۵:۲۵ v/v) در نرخ ۲ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان فاز متحرک استفاده شد (رینر و همکاران ۲۰۱۰).

اکسایش چربی

چربی شیر با استفاده از روش میشرف (۲۰۰۸) استخراج شد. بدین ترتیب که ۱۰ میلی‌لیتر از شیر با ۱۰۰ میلی‌لیتر کلروفرم و ۱۰۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲ دقیقه بهم زده شد. سپس مجددا ۱۰۰ میلی لیتر کلروفرم به آن اضافه شد و به مدت ۲ دقیقه بهم زده شد. سپس در ۱۸۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد. لایه رویی که حاوی متانول و آب است بود و لایه زیرین حاوی کلروفرم و پروتئین بود با استفاده از کاغذ صافی ذرات رسوب آن جدا شد. کلروفرم به همراه چربی‌های موجود در آن مجددا صاف و دوباره با کلروفرم شسته شد. سپس کلروفرم در تبخیر کننده تحت خلاء مدل RV8 ساخت شرکت آیکا آلمان با دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و سرعت ۱۵۰ rpm جدا شد. اندازه‌گیری اندیس پراکسید از روش AOCS به شماره (Cd 8-53) انجام شد و بر حسب میلی اکی والان پراکسید بر کیلوگرم روغن بیان شد (AOCS ۱۹۹۸). اندیس اسید تیوباربیتوریک مطابق با روش AOCS به شماره (cd 19-90) اندازه‌گیری و بر حسب میکروگرم مالون دی آلدئید بر کیلوگرم روغن بیان گردید (AOCS ۱۹۹۸).

آزمون‌های میکروبیولوژی

رقت‌های متوالی 10^{-1} تا 10^{-5} از شیر خام و همچنین شیرهای فرآیند حرارتی و اولتراسوند حرارتی شده تهیه شد. برای شمارش کلی باکتری‌ها (SPCA[1])، شمارش کلی کپک و مخمر (SDA[2])، شمارش کلی‌فرم‌ها (VRBA[3] و BGBLB[4]) و *اشرشیاکلی* (MAC[5]) از محیط‌های کشت مخصوص آن‌ها استفاده شد. پلیت‌هایی که تعداد کلنی آن‌ها بین ۳۰ تا ۳۰۰ بود انتخاب و بار میکروبی نمونه‌های شیر بر حسب Log CFU/ml گزارش شد (حوقتبی و همکاران ۱۹۹۲).

تجزیه و تحلیل آماری

جهت بررسی تاثیر متغیرهای مستقل زمان اولتراسوند (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه)، دمای اولتراسوند (٤٥، ٥٥ و ٦٥ درجه سانیتگراد)، نوع و شدت اولتراسوند (اولتراسوند حمام، اولتراسوند پروب در دو شدت ۵۰ و ۷۵٪) بر متغیرهای

[1]-Standard Plate Count Agar
[2]-Saubroad Dextrose Agar
[3]-Violet Red Bile Lactose Agar
[4]-Brilliant Green Bile Lactose Broth
[5]-Macconkey Agar

www.SID.ir

Archive of SID

وابسته اندیس تیوباربیتوریک اسید، اندیس پراکسید، ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی و میکروارگانیسم‌های شیر از طرح آماری کاملا تصادفی در قالب فاکتوریل استفاده شد. به منظور کاهش خطا هر آزمون ۳ بار تکرار گردید و مقایسه میانگین‌ها از طریق روش آنووای یک طرفه در سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. **نتایج و بحث**

اثر اولتراسوند بر اکسیداسیون چربی و ویتامین‌های شیر

اکسیداسیون چربی شیر تحت تاثیر فاکتورهای زیادی از جمله حرارت، نور، تابش، رطوبت و pH می‌باشد (ساویج و همکاران ۲۰۰۲). گونه‌های فعال اکسیژن و رادیکال‌های آزادی که مولکول‌های زیستی را تغییر می‌دهند، با آسیب به سلول‌ها پراکسیدها، الکل‌ها، آلدئیدها و کتون‌ها را تولید می‌کنند (فراری ۲۰۰۰). تاثیر فرآیند اولتراسوند بر اکسیداسیون چربی شیر با استفاده از شاخص‌های اندیس پراکسید و اندیس اسید تیوباربیتوریک ارزیابی شد. همانطور که در شکل ۱ و ۲ مشاهده می‌شود؛ کمترین میزان اندیس پراکسید و اندیس اسید تیوباربیتوریک در نمونه شاهد (۰/۰±۱۱٤/۰ meq O2/Kg oil) و (µg/Kg ۰/۰±۰۱۳/۰۰۱) و پس از آن در نمونه تیمار شده با فرآیند حرارتی (۰/۰±۳٤۳/۰۰٦ meq O2/Kg oil) و (۰/۰±۰۱۷/۰۰۱ µg/Kg) متداول مشاهده شد.

با افزایش دمای فرآیند اولتراسوند از ٤٥ به ٦٥ درجه سانتیگراد و افزایش زمان فرآیند از ٥ تا ١٥ دقیقه منجر به افزایش اندیس پراکسید و اندیس اسید تیوباربیتوریک در تمام تیمارها گردید. بطوریکه در نمونه‌های شیر تیمار شده در دمای ٦٥ درجه سانتیگراد با شدت پروب ٧٥٪ و در مدت زمان ١٥ دقیقه بیشترین مقادیر اندیس پراکسید (۱/۷۵±۰/۰۹ meq O2/Kg oil) و اندیس اسید تیوباربیتوریک مشاهده شد (۰/۳۰۹±۰/۰۰۵ µg/Kg). نتایج مربوط به تاثیر دما، زمان اولتراسوند و نوع دستگاه بر اکسایش چربی شیر در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود تاثیر منفرد و متقابل متغیرهای مورد بررسی بر اندیس پراکسید نمونه‌های مختلف شیر از نظر آماری معنی‌دار ($P<0/05$) بوده است. از نظر مقدار اسید تیوباربیتوریک تولید شده نیز تنها تاثیر متقابل زمان×دما و زمان×نوع اولتراسوند از نظر آماری معنی‌دار نبود و اثر سایر متغیرها از نظر آماری معنی‌دار ($P<0/05$) بود.

میشرف (۲۰۰۸) ضمن بررسی تاثیر فرآیند حرارتی بر اکسیداسیون چربی شیر نشان داد که کمترین مقدار اندیس پراکسید و اندیس اسید تیوباربیتوریک در شیر خام وجود دارد که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است.نوع فرآیند اولتراسوند بر اندیس پراکسید و اندیس اسید تیوباربیتوریک موثر بود بطوریکه نمونه‌های تیمار شده با اولتراسوند نوع پروبی و شدت ٧٥٪

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر پارامترهای متغیرهای مختلف بر میانگین مربعات اکسیداسیون روغن و ویتامین‌های شیر

Table 1- Analysis of variance of different variable parameters' effect on mean square of oil oxidation and vitamins of milk

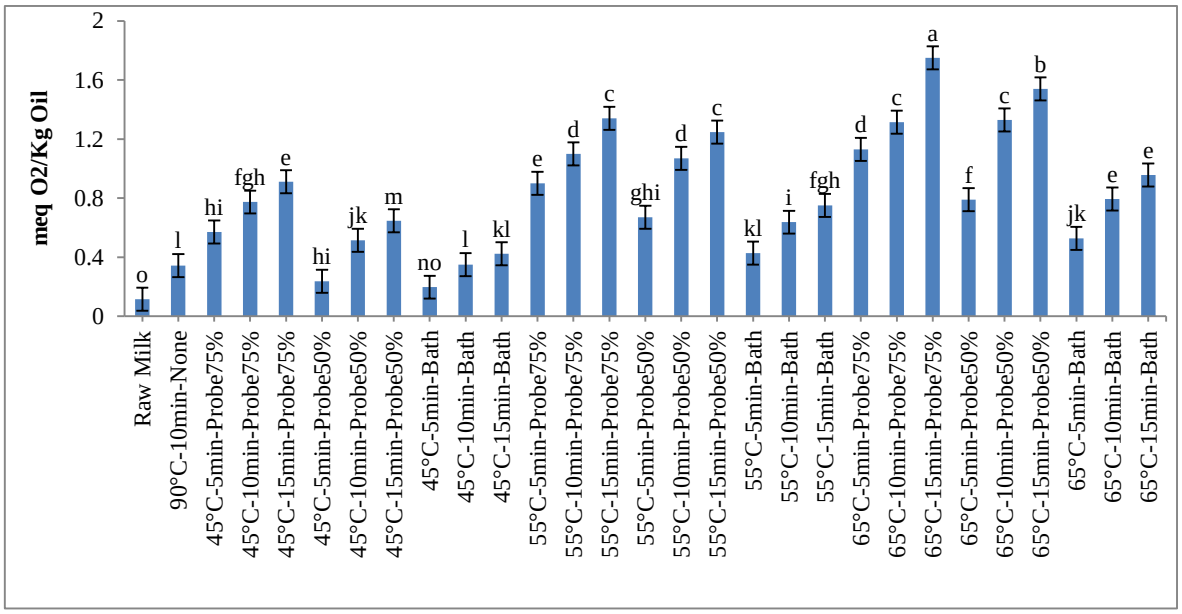
Source	df	Peroxide value	Thiobarbituric acid value	Riboflavin	Thiamin	Tocopherol	Retinol
Sonication Time	2	2.85^{*}	0.108^{*}	0.109^{ns}	0.001^{ns}	1.52×10^{-7ns}	9.63×10^{-5ns}
Type of ultrasound	2	3.80^{*}	0.075^{*}	0.141^{ns}	0.002^{ns}	$8.31\times10^{-7*}$	0.001^{ns}
Temperature	2	5.19^{*}	0.119^{*}	55.21^{*}	0.674^{*}	0.001^{*}	0.001^{ns}
Temperature×Time	4	0.17^{*}	0.020^{ns}	0.177^{ns}	0.002^{ns}	1.89×10^{-7ns}	0.001^{ns}
Type×Time	4	0.21^{*}	0.027^{ns}	0.197^{ns}	0.002^{ns}	1.55×10^{-7ns}	0.001^{ns}
Type×Temperature	4	0.28^{*}	0.045^{*}	0.193^{ns}	0.002^{ns}	2.91×10^{-7ns}	0.001^{ns}
Error	66	0.25	0.279	17.96	0.182	8.29×10^{-6}	0.372
Total	87						

^{ns} and * indicate non-significant and significant statistical difference at $P<0.05$.

www.SID.ir

Archive of SID

بالاترین اندیس پراکسید و نمونه‌های تیمار شده با حمام اولتراسوند کمترین اندیس پراکسید را داشتند. در محیط مایع اعمال نیروی اولتراسوند منجر به تولید رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود و لذا اکسایش چربی افزایش می‌یابد (ترکمنی و همکاران ۲۰۱٤).



شکل ۱- تاثیر متغیرهای مختلف بر اندیس پراکسید نمونه‌های شیر

Figure 1- Effect of different variables on peroxide value of milk samples

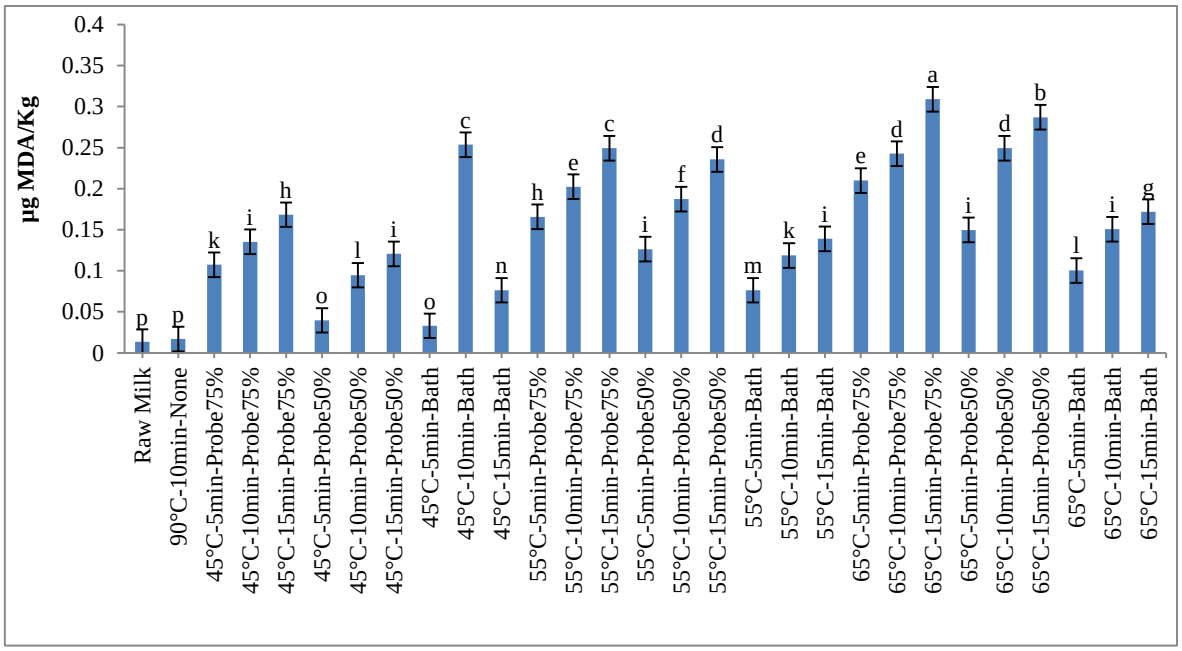
جولیانو و همکاران (۲۰۱٤) شدت اولتراسوند، زمان تیمار با اولتراسوند و حجم نمونه شیر را سه عامل مهم تاثیر گذار بر اکسایش ترکیبات شیر دانستند. نتایج پژوهش-های گوگات و همکاران (۲۰۱۱) و اشوکمار و همکاران (۲۰۰۸) نشان می‌دهد که با افزایش شدت اولتراسوند رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده افزایش می‌یابند. نرخ رادیکال‌های آزاد تولید شده به شدت فرو ریختن حباب-های تولید شده در شیر در هنگام اولتراسوند بستگی دارد که تحت تاثیر زمان و شدت اولتراسوند بوده و لذا رادیکال‌های آزاد تولیدی به طور مستقیم بر اکسایش چربی تاثیر دارد (کانثالی و همکاران ۲۰۰۸). فرناندز و همکاران (۲۰۱٦) نیز نتایج مشابهی پیرامون افزایش هیدروپراکسیدها با افزایش زمان و شدت فرآیند اولتراسوند ارائه نمودند.

اسیدهای چرب موجود در شیر پتانسیل واکنش با رادیکال‌های آزاد و ایجاد آلدئیدها و کتون‌ها به عنوان ترکیبات ثانویه اکسایش را دارا هستند (اُکونور و اُبرین ۲۰۰٦). در یک پژوهش ترکمنی و همکاران (۲۰۱٤) تاثیر فرآیند اولتراسوند بر اکسیداسیون چربی در آب پنیر را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند در نمونه‌هایی که فرآیند اولتراسوند اعمال شده است بالاترین میزان پنتانول و هگزانال به عنوان ترکیبات فرار حاصل از فرآیند اکسایش تولید شده است که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر در مورد تولید آلدئیدها می‌باشد. چاکینالا و همکاران (۲۰۰۷) تاثیر فرآیند اولتراسوند را بر اکسیداسیون سالیسیلیک اسید به کاتچول، ۲ و ٥-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید و ۲ و ۳-دی هیدروکسی بنزوئیک اسید مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که افزایش زمان تیمار اولتراسوند و حضور حباب‌های هوا و ذرات جامد شیر مانند چربی و پروتئین‌ها منجر به ایجاد هسته‌هایی برای رادیکال‌های آزاد و تشدید فرآیند اکسایش می‌شود که مطابق با نتایج بدست آمده از

www.SID.ir

Archive of SID

پژوهش حاضر است. جولیانو و همکاران (۲۰۱٤) نتایج مشابهی پیرامون افزایش ترکیبات ثانویه اکسایش با افزایش در دما و زمان اولتراسوند طی تیمار حرارتی گزارش نمودند که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است.



شکل ۲- تاثیر متغیرهای مختلف بر عدد اسید تیوباربیتوریک نمونه‌های شیر

Figure 2- Effect of different variables on thiobarbituric acid value of milk samples

مقدار ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی شیر در جدول ۲ نشان داده شده است. ویتامین‌ها به ترتیب در ۲٦٥ و ۲٤٥ نانومتر برای ریبوفلاوین و تیامین جذب داشتند. زمان بازداری ریبوفلاوین و تیامین در حدود ۹/۸ و ۱۰/٤ دقیقه بدست آمد. طول موج جذبی مورد استفاده برای ویتامین‌های توکوفرول و رتینول به ترتیب ۲۹۲ و ۳۲۰ نانومتر بود. زمان بازداری برای این دو ویتامین به ترتیب ۱۳/٤ و ۲/۹ دقیقه بود. همانطور که مشاهده می‌شود تنها تاثیر دما بر مقدار ریبوفلاوین و تیامین معنی‌دار ($P<۰/۰۵$) بوده است و با افزایش دما مقدار ریبوفلاوین و تیامین کاهش یافته است و اختلاف معنی‌دار آماری ($P<۰/۰۵$) ایجاد شده است. فرآیند اولتراسوند بر مقدار ریبوفلاوین و تیامین موثر بود و منجر به کاهش مقدار آن‌ها شد و از این حیث اولتراسوند نوع پروب بیشترین تخریب ویتامینی را ایجاد کرد.

سانتوس و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر فرآیند اولتراسوند را بر برخی ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی در نوشیدنی میوه آسرولا[1] مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که دما و زمان تیمار اولتراسوند بر میزان تخریب ویتامین‌ها موثر است. مقدار ریبوفلاوین با گذشت زمان تیمار با اولتراسوند کاهش یافت. بخشی از ویتامین ب۲ (ریبوفلاوین) در شیر به فرم آزاد و بخش دیگر به صورت محکم در غالب یک آپوآنزیم باند شده وجود دارد (بال ۲۰۰٦). فرآیند اولتراسوند توانایی شکستن باندهای بین ویتامین و آپوآنزیم و تغییر شکل آن از حالت آزاد به فرم در دسترس زیستی را ندارد. بطور کلی تخریب ویتامین ب۲ در اثر فرآیند اولتراسوند

[1] - Acerola

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- تاثیر متغیرهای مختلف بر ویتامین های نمونه‌های شیر

Table 2- Effect of different variables on vitamins of milk samples

Sample	Tocopherol (mg/100g)	Riboflavin (mg/100g)	Thiamin (µg/100g)	Retinol (µg/100g)
Raw Milk	0.42±0.0^{a}	104.99±1.06 ^{a}	11.54±0.25^{a}	14.99±0.08^{a}
90°C-10min-None	0.42±0.0^{a}	97.55±0.68^{e}	10.80±0.06^{e}	14.90±0.09^{a}
45°C-5min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	104.05±0.06^{ab}	11.44±0.00^{ab}	14.98±0.08^{a}
45°C-10min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	104.15±0.01^{ab}	11.45±0.00^{ab}	14.99±0.05^{a}
45°C-15min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	104.07±0.15^{ab}	11.44±0.02^{ab}	14.99±0.06^{a}
45°C-5min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	103.84±0.51^{ab}	11.42±0.00^{ab}	14.99±0.10^{a}
45°C-10min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	104.06±0.09^{ab}	11.44±0.00^{ab}	14.99±0.05^{a}
45°C-15min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	104.09±0.04^{ab}	11.44±0.00^{ab}	14.96±0.07^{a}
45°C-5min-Bath	0.41±0.0^{b}	104.04±0.10^{ab}	11.44±0.01^{ab}	14.97±0.09^{a}
45°C-10min-Bath	0.41±0.0^{b}	104.09±0.08^{ab}	11.44±0.01^{ab}	14.97±0.08^{a}
45°C-15min-Bath	0.41±0.0^{b}	103.96±0.01^{ab}	11.43±0.00^{ab}	14.98±0.08^{a}
55°C-5min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	103.36±0.51^{bc}	11.36±0.05^{bc}	14.99±0.06^{a}
55°C-10min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	103.07±0.07^{bcd}	11.33±0.01^{bc}	14.99±0.06^{a}
55°C-15min-Probe75%	0.41±0.0^{b}	103.05±0.15^{bcd}	11.33±0.01^{bc}	14.97±0.08^{a}
55°C-5min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	103.25±0.44 ^{bcd}	11.36±0.01^{bc}	14.99±0.11^{a}
55°C-10min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	103.27±0.43^{bcd}	11.36±0.04^{bc}	14.97±0.07^{a}
55°C-15min-Probe50%	0.41±0.0^{b}	103.10±0.14^{bcd}	11.33±0.01^{bc}	14.97±0.07^{a}
55°C-5min-Bath	0.40±0.0^{c}	103.00±0.06^{bcd}	11.32±0.00^{bc}	14.99±0.08^{a}
55°C-10min-Bath	0.41±0.0^{b}	102.96±0.11^{bcd}	11.32±0.00^{bc}	14.99±0.07^{a}
55°C-15min-Bath	0.41±0.0^{b}	102.95±0.10^{bd}	11.32±0.01^{bc}	14.98±0.10^{a}
65°C-5min-Probe75%	0.40±0.0^{c}	102.13±0.20^{cd}	11.22±0.01^{cd}	14.96±0.08^{a}
65°C-10min-Probe75%	0.40±0.0^{c}	101.96±0.10^{cd}	11.21±0.20^{de}	14.97±0.08^{a}
65°C-15min-Probe75%	0.40±0.0^{c}	101.96±0.13^{cd}	11.21±0.01^{de}	14.98±0.06^{a}
65°C-5min-Probe50%	0.40±0.0^{c}	101.95±0.10^{cd}	11.21±0.01^{de}	14.99±0.06^{a}
65°C-10min-Probe50%	0.40±0.0^{c}	102.18±0.66^{cd}	11.23±0.06^{cd}	14.98±0.07^{a}
65°C-15min-Probe50%	0.40±0.0^{c}	101.96±0.12^{cd}	11.21±0.01^{de}	14.97±0.06^{a}
65°C-5min-Bath	0.40±0.0^{c}	102.15±0.50^{cd}	11.23±0.05^{cd}	14.98±0.07^{a}
65°C-10min-Bath	0.40±0.0^{c}	101.95±0.07^{cd}	11.21±0.01^{de}	14.97±0.07^{a}
65°C-15min-Bath	0.40±0.0^{c}	101.90±0.02^{d}	11.20±0.00^{d}	14.97±0.09^{a}

Different letters in each column indicate statistical difference at P<0.05.

بیشتر از تخریب آن در اثر حرارت است. در مورد توکوفرول هم نوع اولتراسوند و دمای فرآیند بر مقدار توکوفرول موثر بود و منجر به کاهش مقدار آن شد. ولی تاثیر متقابل هیچ یک از فاکتورها از نظر آماری معنی دار نبود با این حال مشابه دو ویتامین قبلی بیشترین تخریب ویتامینی به دلیل افزایش دما اتفاق افتاد و زمان اولتراسوند از این حیث تاثیر کمتری داشت. تاثیر جداگانه و متقابل هیچ یک از فاکتورهای مورد بررسی بر مقدار رتینول معنی دار نبود. با افزایش دما مقدار رتینول کاهش یافت اما اختلاف ایجاد شده از نظر آماری معنی‌دار نبود. دلیل کاهش مقدار توکوفرول با گذشت زمان تیمار با اولتراسوند را می‌توان مرتبط با خصوصیات ضد رادیکالی ویتامین E دانست. در هنگام تیمار با اولتراسوند به دلیل ایجاد حباب‌های کاویتاسیون، رادیکال‌های آزاد تولید می‌شود که ممکن است توکوفرول با آنها مقابله کرده و در نتیجه مقدار آن کاهش یابد. فرناندز و همکاران (۲۰۱۶) تاثیر فرآیند اولتراسوند را بر تخریب ویتامین E بررسی نمودند و نشان دادند که با گذشت زمان تیمار با اولتراسوند و افزایش شدت اولتراسونیک تخریب توکوفرول‌ها افزایش می یابد که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر با نتایج سانتوس و همکاران (۲۰۱۸) در مورد نوشیدنی میوه آسرولا مطابقت دارد. در یک پژوهش رینیر و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که فرآیند اولتراسوند کاهشی در مقدار ویتامین‌های رتینول، توکوفرول، ریبوفلاوین و تیامین ماست بدست آمده از شیر اولتراسوند حرارتی شده ایجاد نکرد اما فرآیند حرارتی متداول منجر به کاهش مقادیر ویتامین‌ها شد که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است.

اثر اولتراسوند بر میکروارگانیسم‌های شیر

نتایج مربوط به تاثیر دما، زمان و نوع اولتراسوند بر شمارش کلی باکتری‌ها، شمارش کلیفرم‌ها، شمارش

www.SID.ir

Archive of SID

باکتری‌های سایکروفیل، اشرشیاکلی و شمارش کلی کپک و مخمر در جدول ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود افزایش زمان اولتراسوند بر کاهش تعداد میکروارگانیسم‌ها موثر بوده است اما تاثیر معنی-دار آماری (P<۰/۰۵) بر کاهش تعداد اشرشیاکلی و کپک و مخمرنداشته است. میلانی و سیلوا (۲۰۱۷) تاثیر فرآیند اولتراسوند حرارتی را بر غیرفعالسازی اسپورهای *کلستریدیوم پرفرینجنس* در شیرابه گوشت در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و اسپورهای *آلیسایکلوباسیلوس اسیدوترستریس* در آب پرتقال در دمای ۷۸ درجه سانتیگراد را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که با افزایش زمان اولتراسوند تعداد اسپورهای موجود در ماده غذایی کاهش می‌یابد.

نوع اولتراسوند و دمای اولتراسوند بر شمار کلی باکتری‌ها، کلیفرم‌ها، کپک و مخمر و باکتری‌های سرمادوست تاثیر داشت و آن‌ها را بطور معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) کاهش داد. به عبارت دیگر با افزایش دمای سونیکاسیون از ٤٥ به ٦٥ درجه سانتیگراد شمار کلی باکتری‌ها کاهش یافت و اولتراسوند نوع پروبی در شدت ۷۵٪ بیشترین کاهش را در شمارش کلی باکتری‌ها ایجاد نمود. تاثیر هیچکدام از متغیرهای مورد بررسی بر تعداد باکتری های اشرشیاکلی از نظر آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) نبود. مطابق با معادله ارائه شده توسط مارگولیس و مارگولیس (۲۰۰۳) شدت اولتراسوند بر اثرات میکروب کشی فرآیند اولتراسوند تاثیر مستقیم دارد که به دلیل تاثیر بر میزان کاویتاسیون است. بعبارت دیگر هنگامیکه از اولتراسوند نوع پروبی استفاده شد با افزایش شدت اولتراسوند به دلیل افزایش پدیده کاویتاسیون اثرات میکروب کشی آن افزایش می‌یابد (هرسج و همکاران ۲۰۱۲) که نسبت به حمام اولتراسوند بالاتر بود. اثر متقابل متغیرهای مستقل بر تعداد باکتری-های سایکروفیل و کلیفرم‌ها از نظر آماری معنی‌دار (P<۰/۰۵) بود. همانطور که مشاهده می‌شود نمونه شیر خام و پس از آن نمونه تیمار شده با فرآیند حرارتی متداول بالاترین میزان شمارش کلی میکروب را به خود اختصاص داده‌اند و با سایر نمونه‌های مورد بررسی اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) داشتند.

به طور کلی با افزایش دما و افزایش شدت اولتراسوند شمارش کلی باکتری‌ها کاهش یافت و اختلاف معنی‌دار آماری (P<۰/۰۵) ایجاد شد. در دمای فرآیند یکسان نمونه‌هایی که با حمام اولتراسوند تیمار شده بودند شمارش کلی بالاتری داشتند و باکتری‌های سرمادوست نیز در آن‌ها بیشتر از نمونه‌های شیر تیمار شده با اولتراسوند نوع پروبی بود.

زمانیکه امواج صوتی از درون یک مایع عبور می‌کنند؛ در هر بخش از مایع به طور پی در پی تراکم ایجاد می‌شود و یک سیکل انبساطی اتفاق می‌افتد. به دلیل اینکه انرژی صوتی نمی‌تواند بوسیله مولکول‌ها جذب شود، مایع به یک طرف کشیده می‌شود و پدیده کاویتاسیون اتفاق می-افتد که با شکل‌گیری حباب‌های کوچک گازی همراه است. برخورد حباب‌های گازی متلاشی شده باعث شکل‌گیری امواج دیگر می‌شود. با توجه به اینکه اثرات اولتراسوند به تعداد و شدت حباب‌های منفجر شده در داخل مایع طی زمان و نوع محیط تیمار بستگی دارد (هرسج و همکاران ۲۰۱۲)، دلیل نابودی بیشتر میکروارگانیسم‌ها در زمان ۱۵ دقیقه و اولتراسوند پروبی با شدت ۷۵٪ بخوبی روشن می‌شود. گانسان و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که با افزایش دامنه نوسان از ٣٦ به ۱۸۰ کاهش بیشتری در تعداد میکروارگانیسم‌های شیر و آب پرتقال تیمار شده با اولتراسوند اتفاق می‌افتد که همراستا با نتایج بدست آمده می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر پارامترهای متغیرهای مختلف بر میانگین مربعات خصوصیات میکروبی شیر

Table 3- Analysis of variance of different variable parameters' effect on mean square of microbial properties of milk

Source	df	TVC	CC	ECC	PSC	YMC
Sonication Time	2	0.173*	0.21*	0.0ns	0.11*	0.0ns
Type of ultrasound	2	7.05*	0.31*	0.0ns	5.80*	0.03*
Temperature	2	4.53*	0.31*	0.0ns	5.65*	0.03*
Temperature×Time	4	0.002 ns	0.21*	0.0ns	0.02*	0.0ns
Type×Time	4	0.002 ns	0.21*	0.0ns	0.02*	0.0ns
Type×Temperature	4	*0.136	0.31*	0.0ns	0.42*	0.03*
Error	66	0.002	0.036	0.0	0.004	0.0
Total	87					

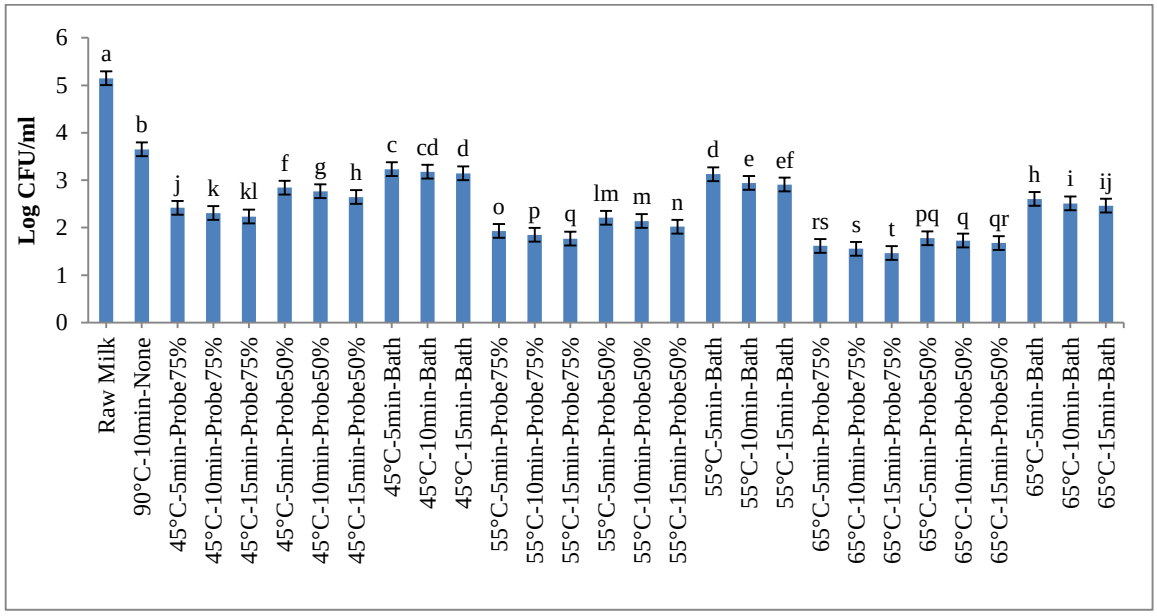
ns and * indicate non-significant and significant statistical difference at P<0.05. TVC= Total Bacteria Count, CC=Coliform Count, ECC=Escherichia Coli Count, PSC= Psychrophilic Count, YMC= Yeast and Mold Count

باکتری‌های اشرشیاکلی تنها در نمونه شیر خام یافت شدند(نتایج نشان داده نشده است). نتایج پژوهش دامیکو و همکاران (۲۰۰۶) نشان می‌دهد اولتراسوند به خوبی توانسته است از رشد اشرشیاکلی در شیر و شراب سیب جلوگیری نماید که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است. دهقانی (۲۰۰۵) نشان دادند که سونیکاسیون به عنوان یک فرایند گندزدا به خوبی از رشد باکتری‌های اشرشیاکلی در آب جلوگیری می‌نماید. کنور و همکاران (۲۰۰٤) تاثیر اولتراسوند و تیمار حرارتی بر نابودی میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در سیستم‌های غذایی مدل شامل شیر، آب میوه و آب سبزی را مورد بررسی قرار دادند و نتایج را با سیستم حرارت دهی متداول مورد بررسی قرار دادند و اعلام نمودند که فرآیند حرارتی در حضور اولتراسوند می‌تواند در دمای پائین تری انجام شود. آلودگی به کلیفرم تنها در نمونه‌های شیر خام، تیمار حرارتی شده به روش متداول و تیمار شده با حمام اولتراسوند در دمای ٤٥ درجه سانتیگراد مشاهده شد. میشرف و همکاران (۲۰۱۲) ضمن بررسی تاثیر فرآیند اولتراسوند در دماهای ۲۰، ٤۰ و ٦۰ درجه سانتیگراد و در زمان های ٦، ۹ و ۱۲ دقیقه با شدت‌های ٦۰، ۹۰ و ۱۲۰ بر نابودی *استافیلوکوکوس اورئوس* و *اشرشیاکلی* در شیر خام فاکتورهای دما، زمان و شدت اولتراسوند را در نابودی میکروارگانیسم‌ها موثر دانسته و اعلام نمودند که با افزایش دما و زمان اولتراسوند جمعیت باکتریایی کاهش می‌یابد که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است. کامرون و همکاران (۲۰۰۸) نیز نتایج مشابهی در کاهش تعداد باکتری‌های اشرشیاکلی در شیر تیمار شده با اولتراسوند در مقایسه با شیر خام گزارش نمودند.

از نظر شمارش کلی کپک و مخمر نیز تنها در نمونه‌های شیر خام، تیمار حرارتی شده به روش متداول و تیمار شده بوسیله حمام اولتراسوند در دو دمای ٤٥ و ٥٥ درجه سانتیگراد کپک و مخمر مشاهده شد و در سایر نمونه‌ها کلنی رشد نکرد (نتایج نشان داده نشده است).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- تاثیر متغیرهای مختلف بر شمار کلی باکتری‌ها در نمونه‌های شیر

Figure 3- Effect of different variables on total viable count of milk samples

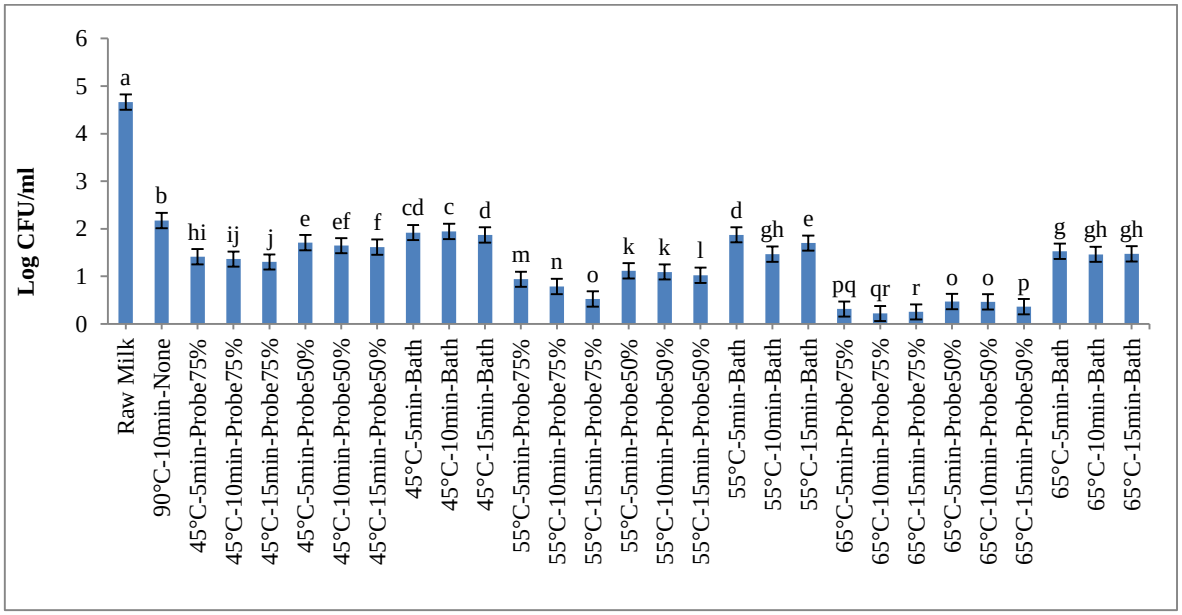
در یک پژوهش غیر فعالسازی آسکوسپورهای بایسوکلامیس نیوآ در پوره توت فرنگی و ناساریوس فیچری در آب سیب در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد نیز با گذشت زمان تیمار اولتراسوند حرارتی منجر به کاهش چند سیکل لگاریتمی آسکوسپور شد که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است (میلانی و سیلوا ۲۰۱۷). آنایا-اسپارزا و همکاران (۲۰۱۷) ضمن بررسی تاثیر فرآیند اولتراسوند در سه دمای ۳٤، ٤٤ و ٥٤ درجه سانتیگراد و به مدت ۲، ٦ و ۱۰ دقیقه بر نابودی کلی فرم‌ها، *اشرشیاکلی* و کپک‌ها و مخمرها در نکتار درخت ساپادیل اعلام نمودند که با افزایش زمان و دمای فرآیند اثرات میکروب کشی افزایش می‌یابد که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است. برخی از محققین معتقدند که افزایش دما با تشدید پدیده کاویتاسیون می‌تواند نقش مهمی در نابودی میکروارگانیسم‌ها داشته باشد (پاژن و همکاران ۱۹۹۹). در درجه حرارت‌های بالاتر به دلیل افزایش فشار بخار، شدت ترکیدن حباب‌ها افزایش می‌یابد و اثرات سونیکاسیون افزایش می‌یابد (گوئررو و همکاران ۲۰۰۱). در مورد باکتری‌های سایکروفیل همانطور که در شکل نشان داده شده است نمونه شیر خام و پس از آن نمونه تیمار حرارتی شده به روش متداول بالاترین تعداد باکتری‌ها را داشت.

گارسیا و همکاران (گارسیا و همکاران (۱۹۸۹) نشان دادند که استفاده از فرآیند اولتراسوند باعث نابودی میکروارگانیسم‌ها در شیر می‌شود که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. افزایش دامنه نوسان اولتراسوند پروب و دمای تیمار با اولتراسوند منجر به کاهش باکتری‌های رشد نموده شد و حمام اولتراسوند در کاهش باکتری‌های سایکروفیل ضعیف‌تر از اولتراسوند پروب عمل نمود. زمانیکه میکروارگانیسم-ها در محیط مایع حضور دارند نابودی آنها به دلیل نازک شدن غشای سلولی، تولید رادیکال‌های آزاد و متمرکز شدن گرما در یک نقطه اتفاق می‌افتد (هرسج و همکاران ۲۰۱۲). در یک پژوهش اینگوگلیا و همکاران (۲۰۱۸) تاثیر فرآیند اولتراسوند را بر باکتری‌های اشرشیاکلی و لیستریا اینوکوآ مورد بررسی قرار دادند و مشخص شد که با افزایش زمان فرآیند اولتراسوند تعداد باکتری‌ها کاهش یافته است و در این زمینه اولتراسوند پروب موثرتر از حمام اولتراسوند عمل نموده است که با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر مطابقت دارد. علاوه بر

www.SID.ir

Archive of SID

پدیده کاویتاسیون، اعمال اولتراسوند منجر به تغییر در نفوذپذیری غشا می‌شود. ورود مقادیر بالایی از آب به درون سلول‌های میکروبی منجر به سهولت در آسیب دیدن سلول‌ها می‌شود (گرا و دورس ۲۰۱۱ و اُجها و همکاران ۲۰۱۸). برمودز-آگوئیره و همکاران (۲۰۰۹) نیز نتایج مشابهی پیرامون کاهش میکروارگانیسم‌های مزوفیل با افزایش شدت اولتراسوند حرارتی و همچنین بالاتر بودن تعداد باکتری‌ها در شیر خام و شیر پاستوریزه شده ارائه نمودند، که مطابق با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر است.



شکل ۴- تاثیر متغیرهای مختلف بر شمار کلی باکتری‌های سرمادوست در نمونه‌های شیر

Figure 4- Effect of different variables on total psychrophilic bacteria count of milk samples

شدت‌های اولتراسوند پائین توانایی لازم برای نابودی و غیرفعالسازی میکروارگانیسم‌ها را ندارد (برمودز-آگوئیره و همکاران ۲۰۰۹). حساسیت به اولتراسوند در میکروارگانیسم‌های مختلف به عوامل مختلفی بستگی دارد. اگرچه برخی مطالعات نشان می‌دهد که مقاومت باکتری‌های گرم مثبت بسیار بیشتر از گرم منفی‌ها است و اندازه و شکل سلول‌های میکروارگانیسم‌ها بر اثرات سونیکاسیون تاثیر دارد؛ گائو و همکاران (۲۰۱٤) اعلام نمودند حساسیت میکروارگانیسم‌ها به سونیکاسیون به اندازه، وضعیت گرم یا آبگریزی آن‌ها بستگی ندارد و عامل تعیین کننده مقاومت میکروارگانیسم‌ها ضخامت و یکنواختی سلول‌ها است. لایه بسیار هیدراته خارجی غشای پلاسمایی که ترکیبی از پروتئین‌ها و پلی ساکاریدهای متجانس است از تمامیت دیواره سلولی در برابر امواج اولتراسوند محافظت می‌کند (گائو و همکاران ۲۰۱٤ و مارچسینی و همکاران ۲۰۱۵).

نتیجه گیری

شکل گیری ترکیبات اولیه و ثانویه حاصل از اکسایش چربی بستگی به متغیرهای تیمار اولتراسوند یعنی زمان و دمای تیمار با اولتراسوند و همچنین نوع و شدت اولتراسوند دارد. تاثیر اولتراسوند بر ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی نشان دهنده تخریب کمتر این ویتامین‌ها در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با حرارت متداول بود. همچنین اولتراسوند نوع پروب در دامنه نوسان ۷۵ درصد در نابودی انواع میکروارگانیسم‌ها بسیار مناسب عمل نمود اما اکسایش چربی را افزایش داد. مطالعات بسیار کمی به بررسی اثرات مستقیم و غیر

www.SID.ir

Archive of SID

مستقیم فرایند اولتراسوند بر ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی پرداخته است و استفاده از اولتراسوند در دماهای پائین احتمال تخریب مواد مغذی را کاهش می‌دهد. با توجه به نتایج این تحقیق استفاده از اولتراسوند نوع پروب در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد با شدت ۷۵٪ و به مدت ۱۰ دقیقه می‌تواند به عنوان یک فرآیند غیر مخرب برای پاستوریزه کردن شیر مورد استفاده قرار بگیرد.

منابع مورد استفاده

Anaya-Esparza LM, Méndez-Robles MD, Sayago-Ayerdi SG, García-Magaña MDL, Ramírez-Mares MV, Sánchez-Burgos JA and Montalvo-González E, 2017. Effect of thermosonication on pathogenic bacteria, quality attributes and stability of soursop nectar during cold storage. CyTA-Journal of Food 15(4): 592-600.

Annandarajah C, 2015. The effects of high power ultrasonic energy on milk plasmin activity. Master Thesis of Lowa state university.

AOCS, 1998. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. AOCS Press. Champaign. IL.

Ashokkumar M Sunartio D Kentish S Mawson R Simons L Vilkhu K and Versteeg CK, 2008. Modification of food ingredients by ultrasound to improve functionality: a preliminary study on a model system. Innovative Food Science and Emerging Technologies 9(2): 155-160.

Ball GFM, 2006. Folate. U: Vitamins in foods: analysis, bioavailability, and stability.

Bermúdez-Aguirre D, Mawson R Barbosa-Cánovas GV, 2008. Microstructure of fat globules in whole milk after thermosonication treatment. Journal of Food Science 73: 325-332.

Bermúdez-Aguirre D, Mawson R, Versteeg K and Barbosa-Canovas GV, 2009. Composition properties, physicochemical characteristics and shelf life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. Journal of Food Quality 32(3): 283-302.

Blecker C, Habib-Jiwan JM and Karoui R, 2012. Effect of heat treatment of rennet skim milk induced coagulation on the rheological properties and molecular structure determined by synchronous fluorescence spectroscopy and turbiscan. Food chemistry 135: 1809-1817.

Bosiljkov T, Tripalo B, Brnčić M, Ježek D, Karlović S and Jagušt I, 2011. Influence of high intensity ultrasound with different probe diameter on the degree of homogenization (variance) and physical properties of cow milk. African Journal of Biotechnology 10: 34-41.

Cameron M, McMaster LD and Britz TJ, 2008. Electron microscopic analysis of dairy microbes inactivated by ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry 15(6): 960-964.

Chakinala AG, Gogate PR, Burgess AE and Bremner DH, 2007. Intensification of hydroxyl radical production in sonochemical reactors. Ultrasonics sonochemistry 14(5): 509-514.

Chandrapala J, Zisu B, Kentish S and Ashokkumar M, 2013. Influence of ultrasound on chemically induced gelation of micellar casein systems. Journal of dairy research 80: 138-143.

D'amico DJ, Silk TM, Wu J and Guo M, 2006. Inactivation of microorganisms in milk and apple cider treated with ultrasound. Journal of Food Protection 69(3): 556-563.

Dehghani MH, 2005. Effectiveness of ultrasound on the destruction of E. coli. American journal of environmental sciences. 1(3): 187-189.

Fernandes FA, Oliveira VS, Gomes WF and Rodrigues S, 2016. Degradation kinetics of vitamin E during ultrasound application and the adjustment in avocado puree by tocopherol acetate addition. LWT-Food Science and Technology 69: 342-347.

Ferrari CKB, 2000. Free radicals, lipid peroxidation and antioxidants in apoptosis: implications in cancer, cardiovascular and neurological diseases. Biologia-Bratislava 55(6): 581-590.

www.SID.ir

Archive of SID

Ganesan B, Martini S, Solorio J and Walsh MK, 2015. Determining the effects of high intensity ultrasound on the reduction of microbes in milk and orange juice using response surface methodology. International journal of food science 1:1-7.

Gao S, Lewis GD, Ashokkumar M and Hemar Y, 2014. Inactivation of microorganisms by low-frequency high-power ultrasound: Effect of growth phase and capsule properties of the bacteria. Ultrasonics Sonochemistry 21(1):446-53.

Garcia ML, Burgos J, Sanz B and Ordonez JA, 1989. Effect of heat and ultrasonic waves on the survival of two strains of Bacillus subtilis. The Journal of applied bacteriology 67(6): 619-628.

Gera N and Doores S, 2011. Kinetics and mechanism of bacterial inactivation by ultrasound waves and sonoprotective effect of milk components. Journal of food science 76(2): 111-119.

Gogate PR, Sutkar VS and Pandit AB, 2011. Sonochemical reactors: important design and scale up considerations with a special emphasis on heterogeneous systems. Chemical Engineering Journal 166(3): 1066-1082.

Guerrero S, López-Malo A and Alzamora SM, 2001. Effect of ultrasound on the survival of Saccharomyces cerevisiae: influence of temperature, pH and amplitude. Innovative Food Science and Emerging Technologies.2(1): 31-39.

Gursoy O, Yilmaz Y, Gokce O and Ertan K, 2016. Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. Emirates Journal of Food and Agriculture 235-241.

Herceg Z, Režek Jambrak A, Lelas V and Mededovic Thagard S, 2012. The effect of high intensity ultrasound treatment on the amount of Staphylococcus aureus and Escherichia coli in milk. Food Technology and Biotechnology 50(1): 46-52.

Houghtby GA, Maturin LJ and Koenig EK, 1992. Microbiological count methods. In: Marshall, R.T. (ed). Standard methods for examination of dairy products. American Public Health Association 213-246.

Inguglia ES, Tiwari BK, Kerry JP and Burgess CM, 2018. Effects of high intensity ultrasound on the inactivation profiles of Escherichia coli K12 and Listeria innocua with salt and salt replacers. Ultrasonics Sonochemistry 48:492-498.

Juliano P, Torkamani AE, Leong T, Kolb V, Watkins P, Ajlouni S and Singh TK, 2014. Lipid oxidation volatiles absent in milk after selected ultrasound processing. Ultrasonics sonochemistry 21(6): 2165-2175.

Kanthale P, Ashokkumar M and Grieser F, 2008. Sonoluminescence, sonochemistry (H2O2 yield) and bubble dynamics: frequency and power effects. Ultrasonics sonochemistry 15(2): 143-150.

Knorr D, Zenker M, Heinz V and Lee DU, 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. Trends in Food Science & Technology 15(5): 261-266.

Marchesini G, Fasolato L, Novelli E, Balzan S, Contiero B, Montemurro F, Andrighetto I and Segato S, 2015. Ultrasonic inactivation of microorganisms: a compromise between lethal capacity and sensory quality of milk. Innovative food science & emerging technologies 1(29):215-21.

Margulis MA and Margulis IM, 2003. Calorimetric method for measurement of acoustic power absorbed in a volume of a liquid. Ultrasonics Sonochemistry 10(6): 343-345.

Meshref A, 2008. Effect of heating treatments, processing methods and refrigerated storage of milk and some dairy products on lipids oxidation. Pakistan Journal of Nutrition. 7(1): 118-125.

Milani E and Silva FV, 2017. Comparing high pressure thermal processing and thermosonication with thermal processing for the inactivation of bacteria, moulds, and yeasts spores in foods. Journal of Food Engineering 214: 90-96.

Ojha KS, Burgess CM, Duffy G, Kerry JP and Tiwari BK, 2018. Integrated phenotypic-genotypic approach to understand the influence of ultrasound on metabolic response of Lactobacillus sakei. Plos one 13(1): 153-191.

O'connor TP and O'brien NM, 2006. Lipid oxidation. In Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids. Springer, Boston, MA: 557-600.

www.SID.ir

Archive of SID

Pagán R, Manas P, Raso J and Condón S, 1999. Bacterial resistance to ultrasonic waves under pressure at nonlethal (manosonication) and lethal (manothermosonication) temperatures. Applied and environmental microbiology 65(1): 297-300.

Piyasena P, Mohareb E and McKellar RC, 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: a review. International journal of food microbiology 87(3): 207-216.

Riener J, Noci F, Cronin DA, Morgan DJ and Lyng JG, 2009. The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. Food Chemistry 114(3): 905-911.

Riener J, Noci F, Cronin DA, Morgan DJ and Lyng JG, 2010. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. Food Chemistry 119(3):1108-13.

Savage GP, Dutta PC and Rodriguez-Estrada MT, 2002. Cholesterol oxides: their occurrence and methods to prevent their generation in foods. Asia Pacific journal of clinical nutrition 11(1): 72-78.

Santos VO, Rodrigues S and Fernandes FA, 2018. Improvements on the stability and vitamin content of acerola juice obtained by ultrasonic processing. Foods 7(5).

Torkamani AE, Juliano P, Ajlouni S and Singh TK, 2014, Impact of ultrasound treatment on lipid oxidation of Cheddar cheese whey. Ultrasonics sonochemistry 21(3): 951-957.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Food Researches/vol.30 No.1/ 2020/pp 167-182
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Comparative effect of thermo sonication and conventional heat process on lipid oxidation, vitamins and microbial count of milk

R Razavi[1] and R Esmaeilzadeh Kamari[2*]

Received: May 18, 2019 Accepted: September 25, 2019
[1]PhD Student of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[2]Associate Professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Engineering, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University
[*]Corresponding author: E mail: Reza_kenari@yahoo.com

Introduction: Milk is the most consumable dairy product in the world which is predominantly treated to heat pasteurization and sterilization processes to increase safety and shelf life (Meshref 2008). Heat treatment can cause undesirable protein denaturation, non-enzymatic browning, loss of vitamins and volatile flavor compounds, freezing point depression, and flavour changes. Due to using high temperature of heat in this process, the nutritional composition and sensory properties of milk are changed (Herceg et al., 2012). Today, there is interest in use of high-intensity ultrasound waves with a mild heat treatment process to deactivate microbes and enzymes leading to spoilage and degradation of safety in foods. The aim of this study was to evaluate the effect of ultrasound process as an alternative for high temperature heat process on microbial count, lipid oxidation as qualitative parameter and vitamins as nutritional characteristics of milk.
Materials and methods: Fresh milk was prepared from the Firoozkandeh cow farm (Sari-Mazandaran-Iran) and transferred to the laboratory in cold conditions then it was treated by ultrasonication techniques at 3 temperature levels of 45, 55 and 65 ° C and duration 5, 10 and 15 min using ultrasound probe type (350 W) in two intensities of 50 and 75% and ultrasound bath (280 W). The control sample was heated at 90 ° C for 10 min. Total viable count of bacteria, total count of mold and yeast, count of coliforms, psychrophilic bacteria and *Escherichia coli* in raw milk, control milk and treated milk with ultrasound were measured. Plates with 30 to 300 colonies were selected to count of colonies and microbial changes of milk samples were reported based on Log CFU/ml. The effect of thermo sonication on the lipid oxidation of milk was evaluated by measuring peroxide value and thiobarbituric acid value. Riboflavin and thiamine as water-soluble vitamins and retinol and tocopherol were measured as lipid-soluble vitamins by HPLC method.
Results and discussion: It was found that an increase in ultrasonication temperature from 45 to 65°C and duration from 5 to 15 min, increased lipid oxidation of milk and the samples treated with ultrasound bath had the least amount of peroxide value (0.019±0.01 meq O2/Kg oil) and thiobarbituric acid value (0.03±0.0 µg/Kg). Raw milk has the least oxidation because no heat process was applied to it. The presence of air bubbles during sonication and solid particles of milk leads to the formation of nuclei for free radicals and intensifies the oxidation process. The formation of primary and secondary compounds resulting from fat oxidation depends on the variables of ultrasound treatment, the time and temperature of treatment with ultrasound, as well as the type and intensity of ultrasound. When sound waves pass through a liquid; in each section of the fluid, a continuous compression occurs and an exponential cycle occurs. Because of the sound energy cannot be absorbed by molecules, the fluid is drawn to one side and the cavitation phenomenon occurs, which is associated with the formation of small gas bubbles. The collision of gas bubbles encounters the formation of

www.SID.ir

Archive of SID

other waves. Given that the effects of ultrasound depend on the number and severity of explosive bubbles inside the liquid over time and type of treatment environment. In same sonication condition the effect of increasing in temperature on vitamin degradation was higher than that of ultrasound type, and the highest levels of thiamin (10.80±0.06 µg/100g), riboflavin (97.55±0.68mg/100g) and retinol (14.9±0.09µg/100g) degradation occurred in the control sample. The effect of temperature on riboflavin and thiamine amount was significant ($P<0.05$) and with increasing in temperature riboflavin and thiamine amount decreased and there was a significant difference ($P<0.05$). The ultrasound process was effective in reducing riboflavin and thiamine amount, resulting in a decrease in their amount, and the probe type of ultrasound caused the most vitamin degradation. The separate and interaction effects of each factor were not significant on retinol content. The retinol content decreased with increasing in temperature but the difference was not statistically significant. The reason for the decrease in tocopherol during sonication treatment can be attributed to the anti-radical properties of vitamin E. Also, the effect of ultrasound on water-soluble vitamins and lipid-soluble soluble vitamins showed lower levels of degradation of these vitamins compared with conventional heat-treated specimens. Very few studies have investigated the direct and indirect effects of ultrasound on the nutritional value of food, and the use of ultrasound at low temperatures reduces the probability of nutrient degradation. Increasing in time of ultrasound was effective in reducing the count of microorganisms but it had a statistically significant effect ($P<0.05$) on reducing the number of Escherichia coli, mold and yeast. Ultrasound type and ultrasound temperature had a significant effect on the total viable count of bacteria, coliforms, mold and yeast and psychrophilic bacteria ($P<0.05$). Probe type ultrasound is very suitable for the 75% oscillation range in the destruction of a variety of microorganisms, but increases the fat oxidation. The effect of none of the studied variables on count of Escherichia coli was statistically significant ($P<0.05$). When probe type of ultrasound used, the antimicrobial effect of sonication increased with increasing in intensity of ultrasound due to the cavitation effect. Increasing the time of ultrasound process has reduced the number of bacteria and in this regard, probe ultrasound has been more effective than ultrasound bath, which is consistent with the results of the present study. In addition to the cavitation phenomenon, ultrasound application results in a change in permeability of the membrane. Entering high amounts of water into the microbial cells can easily damage the cells.

Conclusion: The results showed that ultrasound has been able to reduce the microbial load of milk and it made fewer changes in vitamins than milk treated with conventional method. In this regard, the ultrasound probe has been more effective at 75% intensity. The use of ultrasound probe type at 55 ° C and 75% intensity for 10 minutes is recommended as a non-destructive process for milk pasteurization.

Keywords: lipid oxidation, ultrasound, microbial load, heating, vitamin

www.SID.ir