

اساس و مکانیسم فرایند PEF

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
7	فصل اول - مقدمه
11	فصل دوم - تاریخچه
13	فصل سوم - اساس و مکانیسم فرایند PEF
18	شیوه های فرایند PEF قبل و بعد از بسته بندی
23	فصل چهارم - اصول و پارامترهای فرایند PEF
29	خصوصیات محصول الکتریکی
31	خصوصیات مواد الکتریکی
33	مفاهیم فراوری
38	مواد پلیمری و رسانای الکتریسیته
38	پلیمرهای رسانای درونی
39	پلیمرهای رسانای خارجی
42	فصل پنجم - تاثیر PEF بر فرایند مواد غذایی
43	تاثیر میدان پالسی الکتریکی ولتاژ بالا روی میکروارگانیسم ها
45	تاثیر میدان پالسی الکتریکی شدید بر روی آنزیم ها
47	اثرات میدان پالسی الکتریکی روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی
49	اثرات میدان پالسی الکتریکی روی ویتامین ها و ترکیبات تغذیه ای
50	مورفولوژی سلولها بعد از فرایند PEF
51	تاثیر PEF بر غیر فعال سازی باکتریهای مهم در محصولات لبنی
51	تاثیر PEF بر ریز مغذی ها و کیفیت تغذیه ای شیر
52	عوامل موثر بر سرعت و وسعت غیر فعال سازی باکتریها توسط PEF
54	تاثیر PEF بر میکروارگانیسم های اسپور زای شیر
55	فصل ششم - کاربردها
58	القای استرس
58	جداسازی ترکیبات زیستی
60	غیر فعال سازی میکروارگانیسم ها
60	سوپ نخود
63	تخم مرغ مایع

67	آب سیب
68	کاربرد PEF در انواع شیر
78	کاربرد PEF در فراورده های گوشتی
۸۰	فصل هفتم – مقایسه روشهای غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی
۸۳	فراوری مواد غذایی با استفاده از فشار هیدرواستاتیک بالا (HPP)
۹۰	میدان الکتریکی پالسی قوی PEF
۹۵	میدان مغناطیسی
۹۸	پالس های نوری (PL)
۹۹	فناوریهای ترکیبی
۹۹	اشعه دهی
۱۰۳	استفاده از ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی در نگهداری مواد غذایی
۱۱۰	نتیجه گیری
۱۱۳	فصل هشتم - منابع

مقدمه

مقدمه:

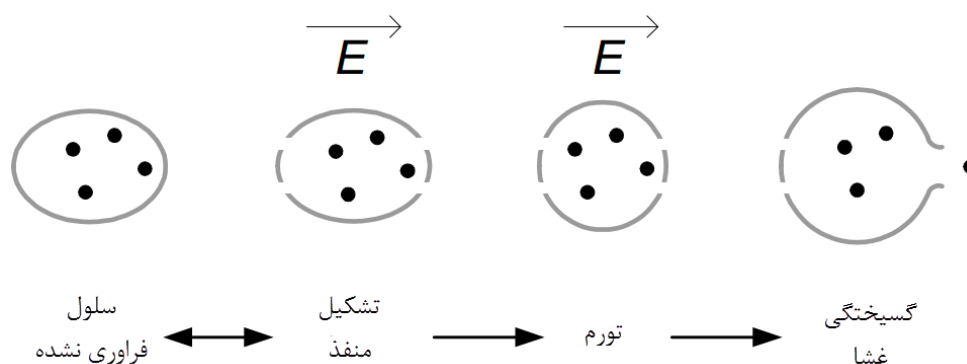
یکی از پیشرفت های عمده در تاریخچه صنعت نگهداری از غذا، قابلیت افزایش مدت زمان نگهداری غذاها از طریق اجتناب از فساد ناخواسته بوده است. در نتیجه همین پیشرفت، تخریب و فساد محصولات غذایی

و پیدایش بیماری های ناشی از مواد غذایی کاهش چشمگیری داشته است. در دهه های گذشته، شاهد علاقه ای روز افزون نسبت به تکنیک های نگهداری غیر حرارتی بوده ایم که خصوصیات تازگی محصولات غذایی را حفظ می کنند. اکثر تکنیک های نگهداری معروف پیشین، مانند خشک کردن، شور کردن، منجمدسازی، دودی کردن و فرایند های حرارتی هنوز هم مورد استفاده قرار می گیرند. این شیوه ها بر پایه کاهش میکروارگانیسم ها یا ایجاد یک محیط زندگی نامطلوب برای اجتناب از رشد میکروارگانیسم های باقیمانده بنا شده اند. در طول فرایند خشک کردن، آب که برای رشد میکروارگانیسم هایی که منجر به فساد غذا می شوند و برای ایجاد باکتری های بیماری زا ضروری است از یک محصول خارج می شود. شیوه های سنتی بر پایه افزودنی ها، مانند شور کردن یا کانفیت (یعنی نگهداری با شکر)، وقتی در تراکم های بالا مورد استفاده قرار

می گیرند دارای یک تاثیر خشک کنندگی قوی بر روی محصول می باشند. افزودنی های ضد میکروبی شیمیایی یا تابش یونی هم برای نگهداری طولانی مدت از محصولات غذایی به کار رفته اند، هرچند، به علت ارتقای سلامتی و نگرانی های ایجاد شده در میان مصرف کنندگان، این شیوه ها دیگر ممنوع اعلام شده یا به صورت چشمگیری کاهش یافته اند. در شیوه دودی کردن، به علت شک و دوگانگی که در مورد سرطان زا بودن این شیوه وجود دارد احتیاط زیادی اعمال می گردد، هر چند هنوز این شیوه به طور کامل ممنوع اعلام نشده است. در قرن ۱۹، پاستور (۱۸۲۲ - ۱۸۹۵) تحقیقاتی بنیادی در زمینه نگهداری از غذا با استفاده از فراوری دمایی انجام داد. وی اولین کسی بود که پایه ای علمی برای تئوری میکروبی در فساد غذایی و بیماری های ناشی از غذا ارائه داد. پاستور همچنین فرایندهای حرارتی غذایی مانند پاستوریزاسیون و استریل سازی پزشکی را به جهانیان عرضه داشت. این جدای از این حقیقت بود که تاثیر نگهداری فراوری دمایی قبل از آن در زمان های باستانی هم مورد استفاده قرار می گرفت و آنتونی فان لیوونهوک (۱۶۳۲ - ۱۷۲۳) قبلاً جانوران ریز حساس به گرمای خود (میکرو ارگانیسم ها) را چندین قرن قبل، در ۱۶۷۶ کشف کرده بود. /۲،۴/

اکثر شیوه های نگهداری باستانی ذکر شده، تاثیر زیادی بر روی طعم اولیه یک محصول دارند. در طول دهه های گذشته افزایش چشمگیری در تقاضای مشتریان برای محصولات غذایی مشابه تر به غذای تازه به وجود آمده است. آب پرتقال تازه و طبیعی میتواند مثال خوبی باشد. برای اکثر ما، تفاوت در طعم آب پرتقال پاستوریزه و آب پرتقال تازه دیگر شناخته شده است. تغییر در طعم بیشتر به علت افزایش بیش از اندازه دما در فرایند پاستوریزاسیون ایجاد می شود، این یعنی یک دمای خیلی بالا برای زمانی نسبتاً

طولانی. به همین دلیل، شیوه های نگهداری متعادل تر یا غیرحرارتی متعددی معرفی شده اند، مانند پاستوریزاسیون سریع، استریل سازی سرد، فراوری فشار بالا، حرارت دهی اهمی یا استفاده از میدان های الکتریکی پالسی (PEF). در طول فرایند پاستوریزاسیون سریع، محصول برای یک مدت نسبتاً کوتاه حرارت دیده و سپس با حداکثر سرعت ممکن خنک می شود. استریل سرد تا حد زیادی بر پایه پرتو دهی میکروب کشی ماوراء بنفش (یعنی نور UV-C) و تشکیل رادیکال ها می باشد. همچنین، می توان از فشار های ایستایی بالا هم برای از بین بردن میکروارگانیسم ها استفاده کرد. در حرارت دهی اهمی، رسانایی الکتریکی طبیعی یک محصول برای جریان یافتن یک جریان الکتریکی در محصول مورد استفاده قرار می گیرد، که این امر منجر به گرم شدن بسیار سریع تر آن از داخل می گردد. نگهداری به شیوه میدان الکتریکی پالسی هم شیوه ای الکتریکی است، که بر پایه در معرض قرار گرفتن محصول در یک میدان الکتریکی قوی معمولاً $1-5 \text{ kV mm}^{-1}$ می باشد. بر اساس توزیع پتانسیل، ولتاژ اعمال شده در کل جسم ماده تقسیم شده و به کل میکروارگانیسم های موجود در محصول می رسد. اگر ولتاژ رسیده به غشای یک میکروارگانیسم به اندازه کافی قوی باشد، منفذهایی در این فرایند تشکیل می شوند که این فرایند *الکتروپوراسیون* نام دارد، و سرانجام، گسیختگی غشاء رخ خواهد داد. این پدیده ها در تصویر ۱ نشان داده شده اند/۲،۴،۷/



تصویر ۱: الکتروپوراسیون یک میکروارگانیسم و سپس تورم و گسیختگی غشای سلول

گسیختگی غشاء منجر به مرگ میکروارگانیسم شده و در نتیجه زمان نگهداری محصول غذایی افزایش می یابد. جریان الکتریکی که در طول فرایند جریان می یابد یک تاثیر ثانویه ناخواسته بوده که به صورتی اجتناب ناپذیر دمای محصول را افزایش می دهد. بدین ترتیب فراوری PEF در پالس های خیلی کوتاه اعمال می شود که به منظور محدود کردن این افزایش دما معمولاً بین ۱ تا ۱۰ میکروثانیه طول می کشد. به طول

کل، می توان گفت که PEF یک شیوه نگهداری غیر دمایی است، در حالیکه غذا در دماهایی بسیار پایین تر از شیوه های پاستوریزاسیون فراوری می شود. در طول فرایند PEF، میکروارگانیسم های فاسد کننده غذا و باکتری های بیماری زا بدون از دست رفتگی چشمگیر طعم، مزه، رنگ و مواد مغذی اولیه محصول از بین می روند. / ۴،۶ /

تاریخچه

مفاهیم پایه و تاریخچه شیوه فراوری میدان الکتریکی پالسی (PEF)

از دهه ۱۹۶۰، این اکتشاف صورت گرفت که یک محرک میدان الکتریکی می تواند تاثیری مرگ آور بر روی سلول ها داشته باشد. این خصیصه قبل از این در سال ۱۹۵۵ توسط گاسلینگ هم مشاهده شده بود، هرچند در آن زمان این پدیده به میدان الکتریکی نسبت داده نشد. این پدیده بعدها نام *الکتروپوراسیون* یا *الکتروپرمیابیلیزاسیون* غشاهای سلولی را به خود گرفت. /۴/

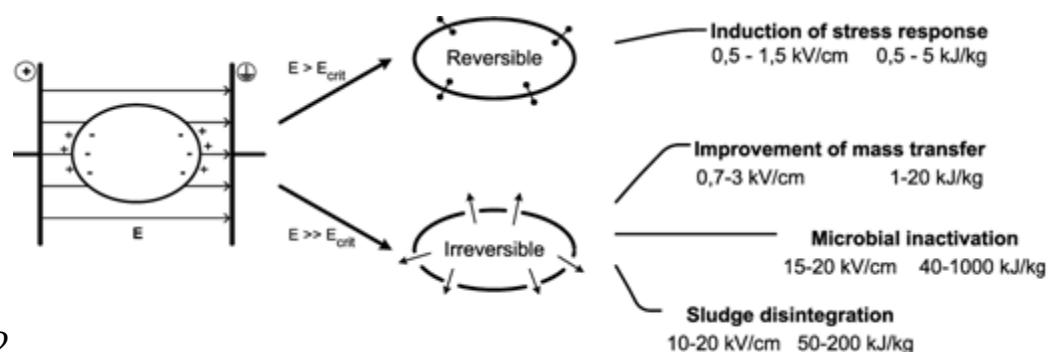
در بسیاری از کشورهای اروپایی، فراوری نگهداری PEF و همچنین برداشت مواد غذایی توسط فراوری PEF نزدیک به یک تحول صنعتی است. شرکت های متعددی مانند DIL ، Scandi-Nova ، OMVE ، DTI ، و KEA-TEC وجود دارند که در حال استفاده از فراوری PEF بوده و یا شروع به تهیه تجهیزات آن کرده اند. همچنین، گسترش تجهیزات آزمایشگاهی برای ظرفیت های محصول بالاتر هنوز هم در جریان می باشد. افزایش روز افزون کاربردهای PEF کاملاً مشهود است. دو مثال از آن می تواند شامل : فراوری آب برای کشتی ها یا فراوری مدفوع حیوانی برای اجتناب از آلودگی زیست محیطی شود. برای نگهداری غذایی PEF دارای محدودیت هایی است. PEF تنها قادر به جایگزینی فرایند پاستوریزاسیون بوده و جای استریل را نمی گیرد، چرا که منافذ باکتریایی را نمی توان بدون محرک جوانه زنی غیرفعال ساخت. همچنین، در فراوری همه محصولات غذایی مایع نمی توان انتظار همان نتایج مطلوب به دست آمده از فراوری محصولات اسیدی، مانند آبمیوه ها را داشت. به منظور افزایش تعداد محصولاتی که می توانند توسط PEF فراوری شوند، تکنیک های ترکیبی جدید باید مورد کاوش قرار گیرند. شیوه هایی مانند PEF به همراه نگهدارنده های زیستی، PEF به همراه فراوری دمایی معتدل، یا PEF به همراه فراوری درون بسته در آینده ای نزدیک بیشتر مورد بررسی قرار خواهند گرفت. /۶/

اساس کار و مکانیسم فرایند

اساس و مکانیسم عمل فرایند PEF

کاربرد میدان های الکتریکی پالسی خارجی روی سلول های زیستی (حیوانی، گیاهی و میکروبی) باعث پارگی غشای سلولی می شود. قابل قبول ترین نظریه پذیرفته شده با مدل الکترومکانیکی معرفی شده توسط زیمرمن و همکاران ۱ در سال 1974 تطابق می کند. این مدل توضیح می دهد که غشای سلولی خازنی با

ثابت دي الكتریك كم می باشد. بارهاي آزاد با قطبیت هاي مخالف در دو طرف غشا(داخل و خارج آن) وجود دارند که به صورت طبیعی باعث ایجاد انتقالات غشایی می شوند. قرار گرفتن در معرض میدان الکتریکی، تجمع بار داخل و خارج سلول را در اطراف غشا القا می کند و باعث افزایش پتانسیل انتقال غشایی می شود. پتانسیل اضافی القا شده از میدان الکتریکی باعث افزایش جذب بارهاي مخالف دو طرف غشا به هم می شود و با فشار اعمال شده ناشی از این اتفاق، نازك شدن غشاي سلول رخ می دهد. جذب الکترواستاتیک دو طرف غشا، ناشی از نازك شدن غشا، افزایش پیدا می کند. با بیشتر شدن فشار الکترواستاتیکی از مقاومت الاستیکی غشا، پارگی محلی به صورت تشکیل منافذ در حد کمتر از میکروثانیه در میدان الکتریکی اعمال شده، ایجاد می شود (شکل) (Toepfl, 2006).

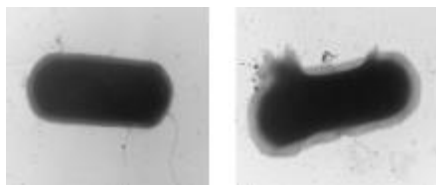


2

شکل 2- نحوه غیرفعال سازی میکروارگانیسم ها به روش ایجاد منافذ در غشا (Toepfl, 2006). به صورت برگشت پذیر و برگشت ناپذیر (2006)

تشکیل منافذ، یک فرایند دینامیک می باشد و می تواند با توجه به شدت تیمار برگشت پذیر یا برگشت ناپذیر باشد. زمانی که منافذ ایجاد شده در مقایسه با سطح غشا کوچک و تیمار میدان هاي الکتریکی پالسی با شدت ضعیف باشد، تخریب الکتریکی برگشت پذیر می شود. قابلیت زنده ماندن سلول حفظ می شود و بیوسنتز اضافه متابولیت هاي ثانویه به عنوان پاسخ به شرایط استرس القا شده ناشی از تیمار با میدان هاي الکتریکی پالسی، می تواند مورد هدف قرار گیرد. با افزایش میدان الکتریکی قوي و یا زمان تیمار) شامل تعداد پالس ها و عرض پالس هاي به کارگرفته شده در سیستم غیرمداوم (تشکیل منافذ بزرگ افزایش می یابد و نفوذپذیری برگشت پذیر به تخریب برگشت ناپذیر تبدیل می شود. نیروي میدان الکتریکی بحرانی برای القای نفوذپذیری به 12-20 برای میکروارگانیسم ها 40 kV/cm میلی متر (و دامنه 1-2 - برای سلول هاي گیاهی) با اندازه سلولی 200 kV/cm شکل سلول و اندازه و دامنه 1 میلی متر (بستگی دارد بر اساس این پدیده، نفوذپذیری الکتریکی ۲) نفوذپذیری غشاي سلولی ناشی از اعمال میدان الکتریکی) - با اندازه سلولی

10 خارجی (در جنبه های کاربردی سیستم های زیستی متعدد در زمینه دارویی و زیست شناسی مورد مطالعه قرار گرفته است. اگرچه اخیراً کاربرد نیروی متوسط میدان در صنایع غذایی مد نظر قرار گرفته است، اکثر مطالعات در محدوده ایجاد نفوذپذیری برگشت ناپذیر غشاء، با هدف القای غیرفعال سازی) میکروبی یا تسهیل استخراج مواد خاص و یا افزایش سرعت خشک کردن انجام شده است) شکل 3



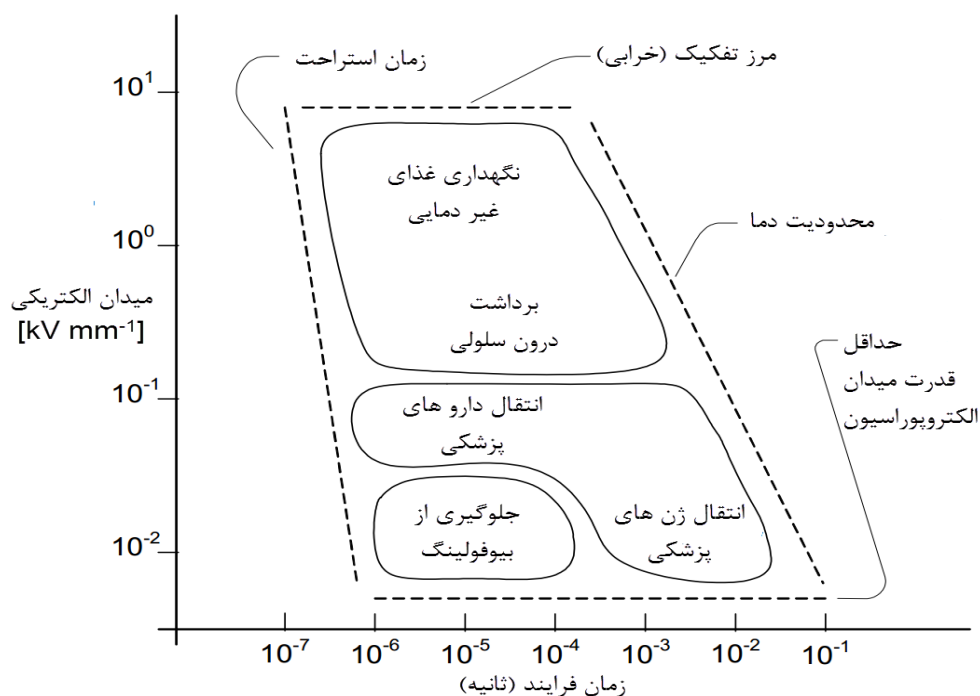
شکل 3- سلول باسیلوس سرنوس قبل و بعد از تیمار با میدان های الکتریکی پالسی (Brennan, J.G. 2006).

با اعمال فشار بر روی یک غشای سلولی با استفاده از یک میدان الکتریکی قوی و گذشتن از مرز قدرت تحمل خاصیت عایقی آن، رسانایی یک غشاء به سرعت افزایش می یابد. در طول این پدیده، منافذ ریز برگشت پذیری در غشا ایجاد می شوند، که غشاء را قابل نفوذ می سازند. پس از یک فراوری با شدت بیشتر، منافذ برگشت پذیر بیشتری ایجاد می شوند که سرانجام منجر به گسیختگی غشاء می گردند. در نتیجه، تبادل میان مواد درون سلول (مانند هسته یا سیتوپلاسم) و مایع بیرونی ممکن می گردد. کل این پدیده در تصویر ۱ به نمایش درآمده است. ترتیب گام ها و بازگشت پذیری شان توسط پیکان ها مشخص شده اند. /۶،۸/

تشکیل منفذ در غشای سلول، با یا بدون گسیختگی غشاء، دارای سه کاربرد عمده در PEF است:

- فراوری غذایی غیرحرارتی، که برای نگهداری غذا یا برداشت محصولات درون سلولی به کار می رود.
- کاربردهای پزشکی، مانند سیستم های انتقال دارو (یا ژن) موضعی در سلول ها یا در بافت زنده.
- جلوگیری از بیوفولینگ، که به معنی به حداقل رسانی رشد ناخواسته توده های زیستی (مانند میکرو ارگانیسم ها، جلبک ها و صدف ها) بر روی سطوح جامد دریایی، مانند بدنه کشتی ها، تورهای ماهیگیری یا مبدل های حرارتی می باشد. /۴،۳/

تصویر ۲ دامنه عملیاتی دو مورد از مهم ترین پارامترهای PEF را نشان می دهد، یعنی قدرت میدان الکتریکی و زمان فرایند. زمان فرایند به صورت تعداد کل پالس های اعمال شده ضرب در مدت زمان هر پالس تعریف می شود. /۶/

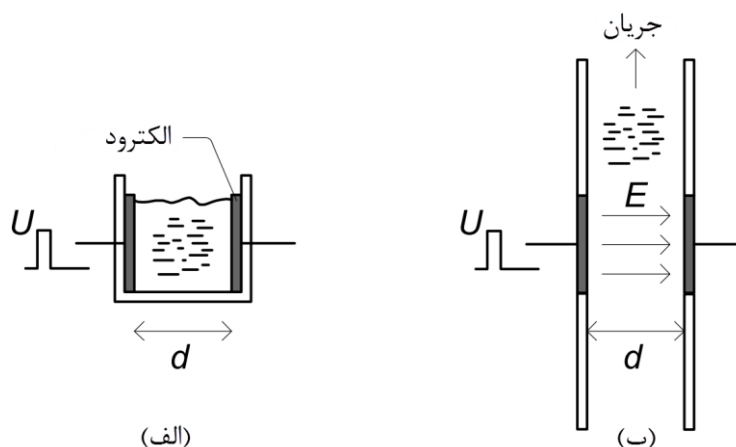


تصویر ۲: میدان الکتریکی در برابر زمان فراوری برای نواحی کاربردی مختلف

به طور کلی، الکتروپوراسیون قابل بازگشت، که برای برداشت، جلوگیری از بیوفولینگ یا اهداف پزشکی به کار گرفته می شود، غالباً توسط قدرت های میدان الکتریکی نسبتاً پایین (0.1 تا 1 kV mm^{-1}) و زمان های فراوری مختلف (1 میکروثانیه تا 10 میلی ثانیه) شناخته می شود. الکتروپوراسیون غیر قابل بازگشت، که برای پاکسازی باکتریایی غذا مورد استفاده قرار می گیرد، نیازمند قدرت های میدان الکتریکی بالاتر (معمولاً 1 تا 5 kV mm^{-1}) و زمان های فراوری کوتاه تر (معمولاً 1 تا 1000 میکروثانیه) است. چهار بخش خطی در تصویر نمایانگر مرزهای کلی یک فرایند الکتروپوراسیون می باشند. در میادین الکتریکی خیلی بالا، تخلیه الکتریکی رخ می دهد، که با همان عبارت مرز تفکیک تعریف می گردد. سمت راست نمودار نشان دهنده محدودیت دمایی است؛ بالای این محدوده، سلول ها توسط گرما کشته می شوند و فرایند دیگر متعادل یا غیر دمایی نیست. پایین حداقل قدرت الکتریکی میدانی و پایین یک زمان فرایند خاص، که

با زمان استراحت سلول در ارتباط است، دیگر الکتروپوراسیون رخ نمی دهد. قدرت الکتریکی میدانی و زمان فرایند بهینه برای یک فرایند الکتروپوراسیون خاص به بسیاری فاکتورهای دیگر نیز بستگی دارد؛ مانند اندازه سلول ها، مرحله رشدشان، اسیدیته (pH)، رسانایی الکتریکی و دمای تعلیق سلول. /۵،۶/

به منظور اعمال یک میدان الکتریکی به یک ماده مایع، به یک اپلیکاتور نیاز است که حاوی مایع بوده و ولتاژ اعمال شده را به یک میدان الکتریکی موثر انتقال می دهد. دو نوع عمده از اپلیکاتورها (یا محفظه های فرایند) وجود دارند، به نام های اپلیکاتورهای دسته ای، یا اپلیکاتورهای جریان ممتد. تصویر ۳ هر دو نوع را به ترتیب نشان می دهد. /۵،۶/



تصویر ۳: الف) اپلیکاتور دسته ای برای فراوری مقدار ثابتی از مایع ب) اپلیکاتور جریان ممتد برای استفاده در یک سیستم لوله ای

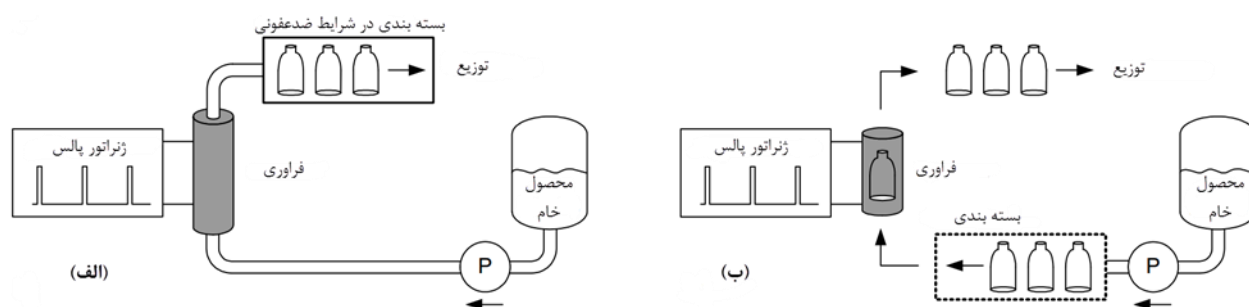
هر دو نوع محفظه دارای حداقل دو الکتروود برای اعمال ولتاژ هستند. در این هندسه ساده، میانگین قدرت میدان الکتریکی E برابر با U/d می باشد. محفظه های فراوری دسته ای، که غالباً برای فعالیت های تحقیقاتی مورد استفاده قرار می گیرند، مقدار ثابتی از مواد را مورد فراوری قرار می دهند. برای فرایندهای صنعتی، مانند پاستوریزاسیون غذاهای پمپ شدنی، محفظه های جریان ممتد مناسب تر اند. این محفظه ها میدان الکتریکی را به یک میانهی متحرک اعمال می کنند. نرخ تکرار پالس های فراوری باید با نرخ جریان تنظیم گردد تا اطمینان حاصل شود که هر بخش از حجم به اندازه کافی فراوری شده است. بر اساس ساختار سخت اسپور های باکتری، می دانیم که فراوری PEF برای اسپورهای غیرفعال بدون محرک رویش تخمی مناسب نیست. همچنین برای محصولات غذایی با خاصیت اسیدی کمتر و محصولات غذایی که حاوی چربی هستند (مانند شیر)، عدم فعالیت دست یافته از طریق PEF کمتر است. به منظور افزایش نرخ

عدم فعالیت و افزایش فراوری PEF به دامنه گسترده تری از محصولات، محققین شروع به بررسی ترکیب شیوه های نگهداری متعادل با سایر شیوه ها، مانند فرایند حرارتی، فشار بالا و روش های زیستی کرده اند. /۵،۶/

شیوه های فرایند PEF قبل و بعد از بسته بندی

اخیرا، در طول توسعه بیشتر و گسترش مقیاس استفاده از PEF به عنوان یک تکنیک نگهداری متعادل، مسایل جدیدی مورد کاوش قرار گرفته اند، مانند طول عمر محدود الکتروود محفظه های فراوری، و نظارت بر جنبه های ایمنی غذایی. اکثر شیوه های نگهداری متعادل مورد استفاده از الکتروودهای فلزی (مانند فولاد بدون زنگ) استفاده می کنند که دارای تماس مستقیم با محصول غذایی در حال فراوری شدن می باشند. در طول فرایند، انتقال اجزای الکتروود به محصول غذایی رخ داده و می تواند منجر به خرابی محصول شود. به همین دلیل، محققین متعددی الکتروودهای کربنی فاقد نیروی جنبشی را پیشنهاد و مورد استفاده قرار داده اند. شیوه نوید بخش دیگر برای اجتناب از تماس مستقیم فلز با محصول غذایی، استفاده از فراوری PEF پس از بسته بندی است. هرچند، سوالات و چالش هایی جدید مطرح می شوند. برای مثال: ایجاد یک میدان الکتریکی با اندازه کافی در یک محصول از پیش بسته بندی شده و قابلیت استفاده از آن در بسته بندی که در حال حاضر مورد استفاده است. /۴/

تصویر ۴ تفاوت های اصلی میان فراوری درون بسته بندی PEF و شیوه های فراوری PEF سنتی را نشان می دهد.



تصویر ۴: (الف) فراوری PEF استاندارد، که در آن محصول خام قبل از بسته بندی فراوری می شود؛ (ب) فراوری PEF پس از بسته بندی

در فراوری PEF سنتی، که در بخش الف تصویر ۴ نمایش داده شده است، خطوط بسته بندی بهداشتی گران قیمت مورد نیازند. بسته بندی برای شیوه PEF پس از بسته بندی، که در بخش ب همین تصویر به نمایش

درآمده، کمتر نیازمند خطوط بهداشتی سخت گیرانه بوده و بدین ترتیب یک استراتژی بسته بندی ارزان قیمت تر به شمار می رود. /۶/

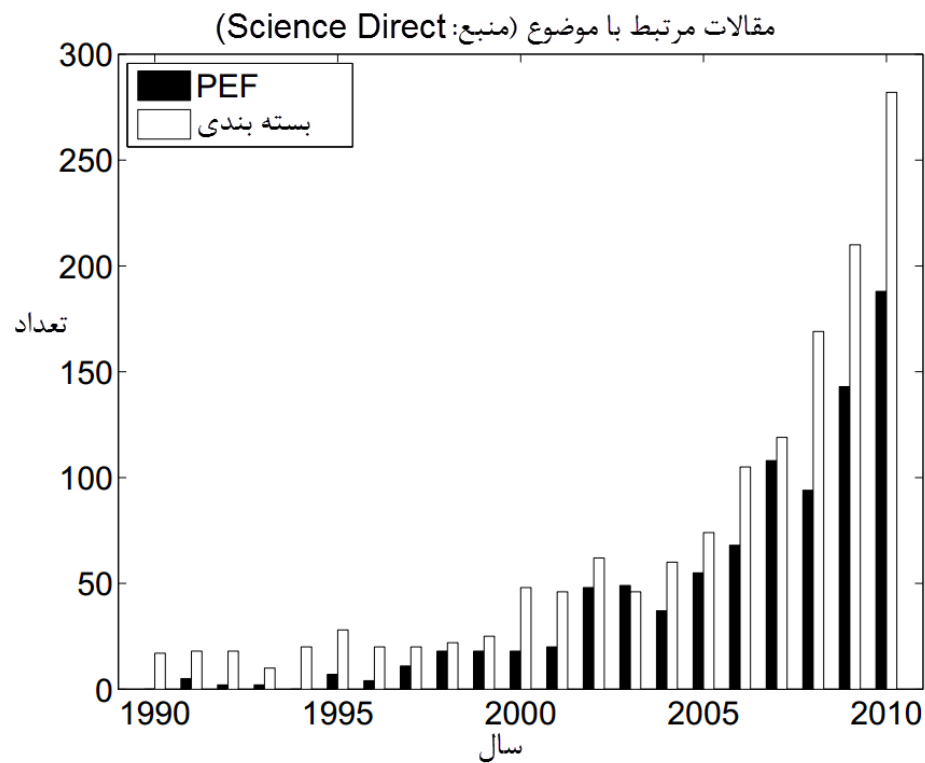
برای اینکه محصول قابل حمل و نقل شود بسته بندی محصولات غذایی ضروری است، به ویژه برای محصولات مایع یا ریزدانه. این کار همچنین از نفوذ گونه های مضر (مانند باکتری ها یا قارچ ها) یا مواد ناخواسته (مانند اکسیژن) به محصول جلوگیری می کند. به همین دلیل، محصول بلافاصله پس از فراوری بسته بندی می شود. روش های نگهداری بر پایه حرارت، به صورت فراوری قبل یا بعد از بسته بندی اعمال می شوند. مورد دوم نیاز به ضدعفونی سازی مجدد پس از بسته بندی را از بین برده و به عنوان استریلیزاسیون درون بسته بندی (ICS) شناخته می شود. در طول فرایند ICS، نفوذ دما به درون بسته اندکی زمان می برد. این امر بار دمایی کلی بر روی محصول را به صورتی چشمگیر افزایش داده و در نتیجه خصوصیات تازگی محصول از بین می روند. بنابراین، اکثر محصولات رتبه بالا با استفاده از شیوه های نگهداری متعادل فراوری شده و سپس همان طور که در بخش الف تصویر ۴ نشان داده شده به صورتی بهداشتی و ضدعفونی بسته بندی می شوند. این امر دارای دو عیب است. اولاً، این خطر وجود دارد که غذا بین مراحل فراوری و بسته بندی مجدداً آلوده شود. ثانیاً، این رویه هزینه های تولید را افزایش می دهد، چرا که بسته بندی بهداشتی گران تر از بسته بندی های عادی بوده و به مواد بسته بندی از قبل استریل شده نیاز دارد. به همین دلایل، محققین اخیراً شروع به بررسی احتمال عملی بودن شیوه های نگهداری متعادل درون بسته بندی کرده اند. یکی از اولین شیوه ها، حرارت دهی اهمی درون بسته بود، که در ابتدا برای ایجاد بسته بندی های با قابلیت ماندگاری ۳ تا ۵ سال برای ماموریت های فضایی بلند مدت به مریخ مورد بررسی قرار گرفت. گام بعدی در این زمینه معرفی PEF درون بسته بود. در طول این فرایند، محصول خام (فراوری نشده) قبل از اینکه با PEF فراوری شود بسته بندی می گردد. فراوری محصول به این ترتیب می تواند دارای مزیت های ذیل باشد:

- آلودگی مجدد محصول پس از بسته بندی دیگر رخ نخواهد داد.
- نیازی به بسته بندی بهداشتی نیست.
- فراوری محصول و بسته به صورت همزمان ممکن می گردد.
- از تماس مستقیم فلز-غذا، که در محفظه های فراوری سنتی وجود دارد اجتناب می شود.

- بسته بندی غذا به عنوان یک الکتروود PEF دور ریختنی عمل کرده و فقط یک بار مورد استفاده قرار می گیرد.

- ترکیب با شیوه های بسته بندی فعال ممکن می گردد.

استفاده از بسته بندی فعال، یا بسته بندی هوشمند، مفاهیم گسترده ای از بسته بندی را پوشش می دهد، در حالیکه در آن بسته نقشی بیشتر از فقط حفاظت و ذخیره محصول دارد. برای مثال می تواند از رشد میکروارگانیسم ها جلوگیری کرده و طول عمر یک محصول بسته بندی شده را با استفاده از فیلم های بسته بندی که دارای یک آزاد سازی کنترل شده از نگهدارنده های زیستی هستند افزایش دهد. مجموع عدم فعالیت میکروبی در یک فراوری ترکیبی، مثلاً ترکیب PEF به همراه نگهدارنده زیستی نیستین، بسیار بیشتر از فراوری ها به صورت جداگانه است. یک مزیت دیگر می تواند قابلیت افزودن یک میانجی الکتریکی به محصول بسته بندی شده باشد. برای مثال، فساد و رشد باکتری در محصولات غذایی دارای تاثیری مستقیم بر روی مقاومت ظاهری الکتریکی محصول است. بنابراین، یک شیوه غیرتخریبی برای چک کردن استریل بودن یک محصول بسته بندی شده در طول عمرش وقتی بسته بندی رسانای الکتریسیته باشد ممکن می گردد. بدین ترتیب، مطالعه ترکیب عدم فعالیت میکروبی به علت PEF به همراه ماده بسته بندی مورد استفاده بیش از پیش حائز اهمیت می گردد. این رویه را می توان در تصویر ۵ نیز مشاهده کرد، که در آن تعداد مقالات ژورنالی در این موضوع در طی بیست سال گذشته نشان داده شده است. /۶/



تصویر ۵: تعداد مقالات ژورنالی در پایگاه داده "Science Direct" در بیست سال گذشته با عناوین "میدان الکتریکی پالسی" و "فراوری غذا"، و "بسته بندی فعال و هوشمند" و "بسته بندی غذایی" به عنوان موضوع اصلی

فصل چهارم

اصول و پارامترهای فرایند

اصول و پارامترهای فرایند

مکانیزم الکتروپوراسیون – تحت شرایط نرمال، غشای سلولی یک باکتری برای جریان الکتریکی غیرقابل نفوذ بوده و به عنوان یک خازن الکتریکی عمل می کند. با اعمال یک میدان الکتریکی بیرونی به سلول، در ابتدا، غشاء برای جریان غیرقابل نفوذ باقی می ماند، به غیر از یک جریان جابجایی کوچک که غشاء را شارژ می کند. در صورتی که پتانسیل غشاء از یک سطح بحرانی خاص بالاتر برود، معمولاً بین ۷ V تا ۰/۵ ، مسیرهای آبی موقتی در غشاء ایجاد

می شوند. این تخلخل ها یا منافذ کوچک در غشاء با شکستگی دی الکتریک و تخریب غشاء متفاوت اند، که در ولتاژ های غشای بالا رخ می دهد. در ابتدا، این منافذ کوچک اند، غالباً ۱۰ nm الی ۱۰۰، و فرایند تشکیل آنها سریع می باشد. بلافاصله پس از تشکیل حفره ها، بار الکتریکی غشاء به صورت محلی تخلیه می شود. در صورتی که میدان الکتریکی قبل از ایجاد تعداد زیادی حفره از بین برود، غشای سلول قادر خواهد بود با یک غشای کاملاً بهبود یافته دوباره به حالت اولیه خود بازگردد (رجوع شود به تصویر ۱). این فرایند به نام الکتروپوراسیون برگشت پذیر شناخته می شود. /۶/

در مورد یک فراوری با شدت بیشتر، مثلاً فراوری طولانی تر یا میدان الکتریکی قوی تر، منافذ بزرگ تر شده و بدین ترتیب الکتروپوراسیون برگشت ناپذیر در غشای سلولی رخ می دهد. در این مورد، نسبت بین سطح منافذ و مجموع کل سطح غشاء بزرگتر می شود، که این امر منجر به برون تراوشی سیتوپلاسم و سرانجام نابودی سلول می گردد. پذیرفته شده ترین دلیل گسیختگی غشاء این است که اثرات ثانویه، مانند فشار الکترو-مکانیکی در غشاء، به علت جداسازی بار به همراه میادین الکتریکی قوی، غشاء را نابود می سازند. همچنین، از حرارت دهی محلی و عدم تعادل تراوشی، بدین ترتیب بهبود انتقال یون ها از میان غشاء، در تالیفات به عنوان تاثیرات ثانویه مرگبار مهم یاد شده است. /۶/

مدل عدم فعالیت – محققین متعددی اثبات کرده اند که نرخ باکتری های کشته شده تا حد زیادی توسط قدرت میدان الکتریکی اعمال شده (E) و زمان فراوری آن (t_f) تعیین می گردد. سایر پارامترهایی که می توانند بر روی کاهش نهایی باکتری ها در محیط مایع تاثیر بگذارند از این قرارند:

- اندازه و نوع سلول.
- دما، pH و رسانایی الکتریکی محیط مایع.
- سطح اینوکالوم ها (مقدار اولیه باکتری).
- شکل و مدت زمان پالس.
- همگنی میدان الکتریکی.

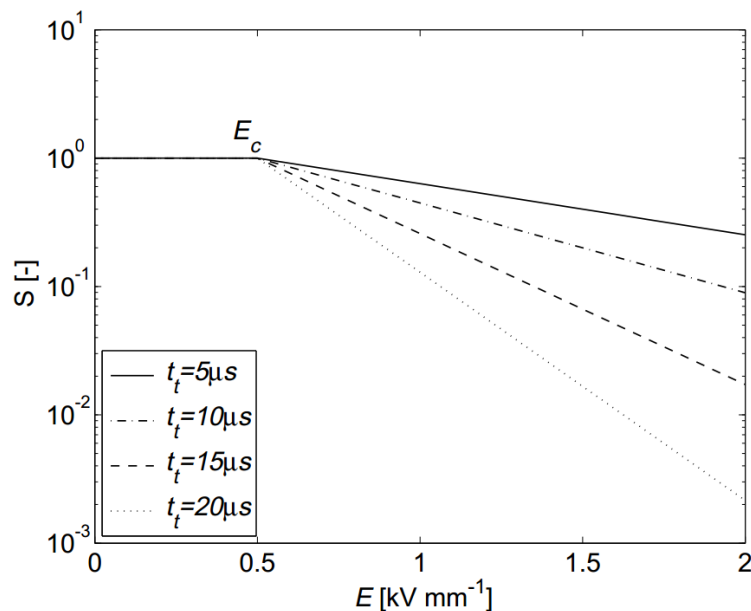
پایین ترین قدرت میدان الکتریکی و کوتاه ترین مدت زمان پالس در جایی که الکتروپوراسیون اتفاق خواهد افتاد، به ترتیب به صورت قدرت میدانی بحرانی (E_c)، و مدت زمان پالس بحرانی (t_c) تعریف می شوند. یک رابطه ریاضیاتی مورد قبول میان نرخ زنده مانی باکتریایی، S و این پارامترها بدین صورت است:

$$S(E, t_t) = \frac{N_t}{N_0} = \left(\frac{t_t}{t_c} \right)^{-\left(\frac{E - E_c}{c} \right)} \quad (1)$$

که در آن S نرخ زنده مانی باکتری بین ۰ و ۱ است، که همان نسبت بین تراکم باکتریایی قبل و بعد از فراوری، به ترتیب N_0 و N_t می باشد. پارامترهای E_c [V·m⁻¹], t_c [s] و c همگی مقادیر ثابت وابسته به سلول هستند. این رابطه نشان می دهد که با افزایش بیشتر میدان الکتریکی، وقتی $E > E_c$ ، سلول های کمتری زنده مانده و اینکه میدان الکتریکی اعمال شده مهم تر از زمان فراوری می شود. در عمل زمان فراوری، t_t ، توسط مجموعه ای از پالس های منفرد به دست می آید.

$$t_t = n_{pls} t_{pls} \quad (2)$$

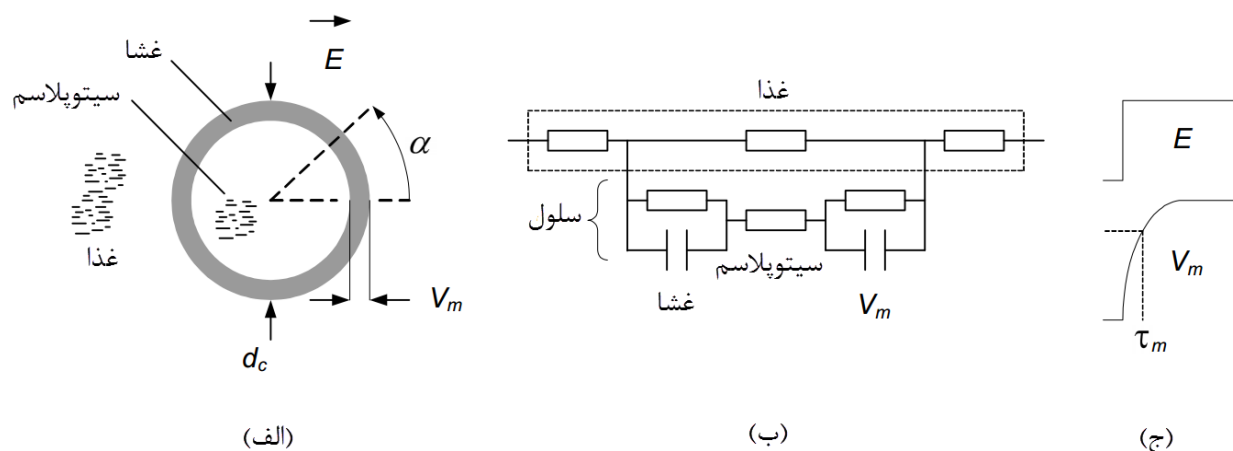
که در آن n_{pls} تعداد پالس ها [-] و t_{pls} مدت زمان هر پالس [s] می باشد. مقادیر فراوری رایج n_{pls} ، t_{pls} و قدرت میدانی، E ، برای فراوری غذا به قصد نگهداری به ترتیب بین ۱ تا ۱۰۰، ۱ تا ۱۰ میکروثانیه و $kV\ mm^{-1}$ ۱ تا ۵ می باشند. تصویر ۶ منحنی های زنده مانی معمولی برای زمان های فراوری مختلف به صورت تابعی از قدرت میدان الکتریکی اعمال شده را نشان می دهد. /۶/



تصویر ۶: نرخ زنده مانی عادی به صورت تابعی از قدرت میدانی الکتریکی اعمال شده

$$(E_c = 0.5\ kV \cdot mm^{-1}, t_c = 2\ \mu s\ and\ c = 1)$$

تصویر ۷ یک سلول کروی، شبکه الکتریکی متعادل و پاسخ ولتاژ غشاء به یک تغییر همگام در میدان الکتریکی اعمال شده را نشان می دهد. /۶/



تصویر ۷: (الف) تعریف ولتاژ غشایی یک سلول (ب) مدار الکتریکی متعادل رایج (ج) پاسخ ولتاژی غشا و زمان استراحت سلول

ولتاژ غشای وابسته به زمان تقریباً بدین صورت است:

$$V_m(E, d_c, t) \approx f_s \frac{d_c}{2} E \left(1 - e^{\frac{-t}{\tau_m}} \right) \cos(\alpha) \quad (3)$$

که در آن f_s همان فاکتور شکل ظاهری سلول $[-]$ ، d_c قطر سلول $[m]$ ، t_m زمان استراحت غشای سلول $[s]$ ، E میدان الکتریکی اعمال شده $[V \cdot m^{-1}]$ ، و α زاویه میان مسیر میدان الکتریکی و یک موقعیت دلخواه بر روی غشای سلول می باشد. به منظور نتیجه گیری از معادله (۳)، تعدادی فرضیه ساده سازی ارائه شدند، مانند برابری رسانایی سیتوپلاسم و رسانایی مایع (غذا) بیرونی. زمان استراحت غشا را می توان به صورت زیر تخمین زد:

$$\tau_m \approx \frac{3}{4} \frac{\epsilon_m}{d_m} \frac{d_c}{\sigma_{fp}} \quad (4)$$

که در آن ϵ_m/d_m همان ظرفیت الکتریکی غشا [$F \cdot m^{-2}$] (C_m) است، که بعداً مورد توصیف قرار خواهد گرفت، σ_{fp} همان رسانایی محصول غذایی در [$S \cdot m^{-1}$] می باشد. برای سلول های کروی، فاکتور شکل ظاهری، f_s ، برابر با ۱/۵ است و برای سلول های میله ای این فاکتور برابر است با

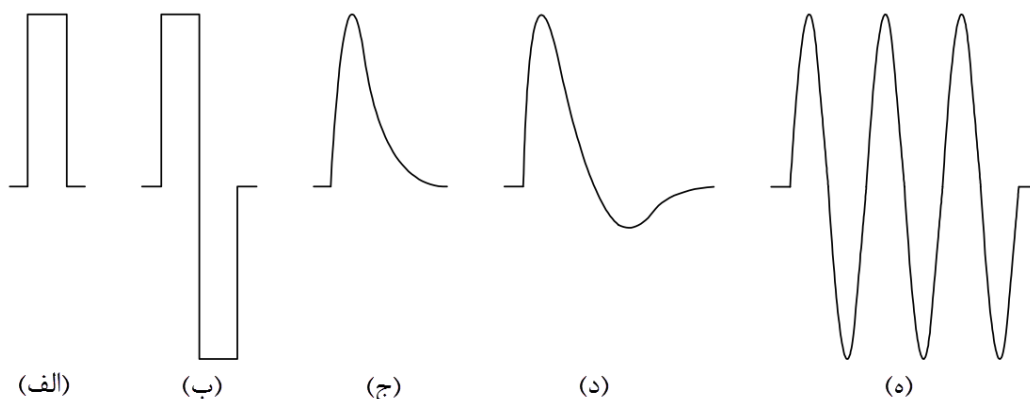
$$f_s = l_c / (l_c - 0.33 d_c) \quad (5)$$

که در آن l_c طول سلول می باشد. برای یک ولتاژ گسیختگی ثابت، V_m ، می دانیم که $d_c \propto E^{-1}$. این بدین معنی است که سلول های بزرگتر برای الکتروپوراسیون به میداین الکتریکی پایین تری نیاز دارند، و همچنین اثبات می کند که قدرت های میداین الکتریکی بالاتر منجر به منافع بیشتر و بزرگتر می شود. برای الکتروپوراسیون برگشت ناپذیر، یک ولتاژ غشای عادی ۱ ولتی مورد نیاز است. /۶/

در دماهای بالاتر، عدم فعالیت باکتریایی به علت PEF را می توان به صورتی چشمگیر بهبود بخشید، که بیشتر به علت سیالیت بیشتر غشاست. به همین دلیل، محصولات غالباً قبل از فراوری PEF معمولاً تا ۳۰ درجه سانتی گراد پیش دما دهی می شوند. یک pH پایین تر در محیط میانجی (یا غذا) منجر به ایجاد سلول هایی می شود که حساسیت بیشتری به PEF دارند. علاوه بر این، یک رسانایی پایین تر غذا در مقایسه با رسانایی سیتوپلاسم منجر به افزایش تفاوت های یونی در سطح غشاء می شود. این پدیده ها همگی غشای سلول را ضعیف ساخته و آن را نسبت به فراوری PEF نفوذپذیرتر می سازند. پایین تر بودن رسانایی محیط همچنین منجر به بازدهی انرژی بهتر می شود؛ هرچند، در محصولات غذایی درجه یک، کنترل رسانایی PEF قابل قبول نیست. به علت تاثیر هم نیرو زایی فراوری PEF، آزمایشات PEF باکتریایی در محیط مایع، با رسانایی هایی در سطوح مختلف پایین تر از محصولات غذایی واقعی دیگر توصیه نمی شوند. /۶/

سلول های باکتریایی متشکل اند از یک غشاء با رسانایی ضعیف و یک محیط درونی سلول رسانا. پس از ارسال اولین پالس های الکتروپوراسیون، باقیمانده های غشای سلول های نابود شده می توانند ایجاد در هم ریختگی کرده و سلول های فراوری نشده را از میدان الکتریکی اعمال شده محافظت کنند. این پدیده با عنوان "مکانیزم محافظت خوشه ای" توصیف شده و مفروض است که دلیل اصلی اینکه منحنی های بازمانی اندازه گیری شده دارای کاهشی یکنواخت برای زمان های فراوری طولانی نیستند همین امر می باشد. هم زدن مناسب محلول تعلیق باکتریایی در طول فراوری منجر به ترکیب بخش های غشایی باقیمانده خوشه ای شده و این کار منجر به عدم فعالیت بیشتر شده و بدین ترتیب داده های عدم فعالیت همخوانی بهتری با

معامله (۲/۱) خواهند داشت. تفاوت ها در عدم فعالیت به دلیل شکل های پالس تک یا دو قطبی ظاهرا اختیاری هستند. پالس های فراوری رایج در تصویر ۸ به نمایش درآمده اند. /۶/



تصویر ۸: شکل های رایج موج برای فراوری PEF. (الف) موج مربعی تک قطبی (ب) موج مربعی دو قطبی (ج) موج تک قطبی نمایی (د) موج دو قطبی نمایی (ه) موج نوسانی

تحقیقات بر روی چهار شکل موج مختلف تک قطبی و دو قطبی نشان داده است که بالاترین میزان عدم فعالیت می تواند از پالس های مربعی به دست آید. پایین ترین میزان عدم فعالیت از پالس های تاخیری نوسانی نمایی به دست آمد، که بیشتر در آزمایشات همجوشی سلولی پزشکی کاربرد دارند. این امر با نتیجه تحقیقات چانگ همخوانی دارد، که در آن زنده مانی بسیار بالاتری در طول همجوشی سلول ها وقتی پالس های نوسانی فرکانس رادیویی (RF) به جای پالس های تک قطبی موج مربعی مورد استفاده قرار گرفتند گزارش شد. برای همه انواع شکل های موج، مدت زمان میدان الکتریکی اعمال شده باید به اندازه کافی برای شارژ غشاء به بالاتر از سطح بحرانی اش طولانی باشد، که با عنوان زمان استراحت سلول تعریف می گردد. زمان های استراحت رایج برای سلول های میکرومتر حدود ۱ میکروثانیه است. / ۶ /

- باید از تراکم های بالای میدان الکتریکی در محصول فراوری شده اجتناب کرد. این تراکم ها باعث ایجاد تخلیه بار ناقص (PD) یا حتی یک گسیختگی الکتریکی کامل می شوند. بدین ترتیب تولید رادیکال های آزاد و نور ماوراء بنفش می تواند نرخ کلی عدم فعالیت باکتریایی را افزایش داده، و مهم تر از این، می تواند منجر به از بین رفتن خصوصیات تازگی محصول شود. رخ دادن PD غالبا به علت وجود هوا شروع می شود. /۶/

خصوصیات محصول الکتریکی و نیروی مورد نیاز

خصوصیات محصول – افزایشی در قدرت یونی در یک محصول غذایی منجر به افزایش رسانایی الکتریکی اش می شود. از آنجایی که نیرو در تناسب با رسانایی می باشد، یک رسانایی بالاتر منجر به اتلاف نیروی بیشتر در محصول وقتی در معرض یک میدان الکتریکی است می شود. محققین متعددی به بررسی رسانایی الکتریکی محصولات غذایی پرداخته اند. محصولات غذایی مایع غالباً رسانایی بین $0.06 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ و $3/1$ دارند، که وابسته به دماست. به طور کلی، دماهای بالاتر منجر به رسانایی بالاتر می شوند، غالباً ۱ تا ۳ درصد به ازای هر درجه سانتیگراد. بالاترین مقادیر را می توان از آب انگور و آب گوجه فرنگی به دست آورد. این عصاره ها برای یک دامنه دمایی بین ۴ تا ۶۰ درجه سانتیگراد به ترتیب دارای رسانایی بین $0.06 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ تا 0.14 و $1/2$ تا $3/1 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ می باشند. دماهای معمولی فراوری PEF بین ۳۰ تا ۶۰ درجه می باشند. بر همین اساس، می توان از 0.1 تا $3/1 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ به عنوان یک دامنه رسانایی معمولی برای محصول استفاده کرد. /۶/

اکثر محصولات غذایی پمپ شدنی که برای فراوری PEF در نظر گرفته می شوند معمولاً ۷۰ تا ۹۰ درصد از حجم کلی شان متشکل از آب است. قدرت میدان تخریب ایده آل آب خالص و رسانای الکتریسیته بین 20 تا $30 \text{ kV}\cdot\text{mm}^{-1}$ برای پالس های ۱ میکروثانیه ای می باشد. هرچند، اکثر محصولات غذایی حاوی فیبر و ذرات کوچکی هستند که می توانند حاوی هوا یا بخار باشند. این ناخالصی ها، و به ویژه وجود حباب های هوا، باعث پایین آمدن چشمگیر قدرت میدان تخریب می شوند. اگر این حباب ها به اندازه کافی بزرگ بوده و میدان الکتریکی کافی نیز وجود داشته باشد، تخلیه بار ناقص (PD) در حباب رخ می دهد. PD ها گسیختگی های محلی بوده و به علت ثبات عایقی پایین حباب در مقایسه با ماده اطرافش رخ می دهند. محصولات مایع همچنین حاوی مقادیر خاصی از هوای حل نشده هستند. در طول فراوری PEF به ویژه در مورد توزیع های میدانی غیر یکنواخت، دمای مایع (به صورت موضعی) افزایش می یابد. این امر موجب کاهش حلالیت گازها و بدین ترتیب افزایش احتمال PD می گردد. در محصولات دارای رسانایی بالاتر و بدین ترتیب تراکم جریان بیشتر، حباب ها در قدرت میدان الکتریکی یکسان سریع تر شکل می گیرند. یک ناحیه فراوری با افزایش موضعی در دما معمولاً جایی است که در آن حباب ها و متعاقباً PD ها رخ می دهند. تنظیم فشار هوا و تخلیه گاز غذا منجر به قدرت های میدان تخریب بالاتر می شود. تخلیه های ناقص امری نامطلوب به شمار می روند، چرا که باعث خرابی محصول مورد فراوری می شوند. یک معیار طراحی عملی، شکل دادن محفظه PEF و الکترودهایش به گونه ای است که حداکثر میدان الکتریکی پایین تر از دو برابر میدان در مرکز ناحیه فراوری باشد. بدین ترتیب، برای یک تراکم PEF

برابر با $2/5 \text{ kV}\cdot\text{mm}^{-1}$ ، یک حداکثر طراحی قدرت میدان حدود $5 \text{ kV}\cdot\text{mm}^{-1}$ می تواند واقع گرایانه باشد. /۴/

نیروی الکتریکی دخیل – برای فراوری PEF محصولات غذایی مایع، یک محفظه فراوری یا اپلیکاتور مورد نیاز است. کارکرد آنها دوگانه است؛ این محفظه ها حاوی مایع بوده و پالس ولتاژ اعمال شده را به یک میدان الکتریکی موثر منتقل می کنند. نیروی الکتریکی مورد نیاز نقشی حیاتی در ایجاد محفظه های PEF بازی کرده و به سه پارامتر فراوری وابسته است. به منظور ایجاد یک میدان الکتریکی یکدست در یک حجم V_t با رسانایی الکتریکی یکدست، حداکثر نیرو برابر است با

$$P_p = \iiint_{V_t} \sigma_{fp}(x,y,z) E^2(x,y,z) dx dy dz = \sigma_{fp} E^2 V_t \quad (۶)$$

که در آن σ_{fp} رسانایی محصول غذایی $[\text{S}\cdot\text{m}^{-1}]$ ، E میدان الکتریکی $[\text{V}\cdot\text{m}^{-1}]$ ، و V_t حجم فراوری $[\text{m}^3]$ می باشد. برای رسانایی غذایی ذکر شده در قبل ($0.1-3.1 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$) و یک فراوری معمولی در $2/5 \text{ kV}\cdot\text{mm}^{-1}$ ، حداکثر نیروی الکتریکی مورد نیاز برابر می شود با $0/6$ تا $19/4 \text{ MW}\cdot\text{ml}^{-1}$. با یک پالس فراوری معمولی معادل با ۱ میکروثانیه، یک دمای اختصاصی محصول آبی برابر با $4100 \text{ J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ ، و یک غلظت محصول برابر با $1050 \text{ kg}\cdot\text{m}^3$ ، افزایش دما به ازای هر پالس حدودا $0/1$ تا $4/5$ درجه سانتیگراد خواهد بود. با یک نرخ تکرار پالس اعمالی برابر با $f_r = 5-500 \text{ Hz}$ میانگین نیرو چندین برابر پایین تر از حداکثر نیرو بوده و برابر است با

$$P_a = f_r \int_{t_t} P_p dt \quad (۷)$$

که در آن t_t همان زمان فراوری (یعنی $n_{pls}\cdot t_{pls}$) می باشد. سطوح حداکثر و میانگین نیروی مدرن ژنراتورهای پالس نیمه رسانای صنعتی موجود به ترتیب 5 تا 25 MW و $7/5$ تا 30 kW می باشند. سطوح حداکثر نیروی تا 100 MW نیز با سوئیچ های الکترونیکی مدرن قابل دستیابی می باشند. /۴/

خصوصیات مواد الکتریکی

امروزه، محفظه های غذای اصلی غالبا از پلاستیک، کاغذ، شیشه، آلومینیوم، قلع و استیل ساخته می شوند. پلاستیک های مورد استفاده برای بسته بندی غذاهای مایع بیشتر بر پایه پلیمر های ترکیبی می باشند. به

طور کلی، کاغذ و شیشه از لحاظ الکتریکی نارسانا هستند، در حالیکه آلومینیوم، قلع و استیل رسانی می باشند. خصوصیات الکتریکی این مواد بسته بندی اصلی در جدول ۱ ارائه شده اند. /۴/

پالس های PEF برای فراوری نگهداری دارای شکلی مستطیلی بوده و با یک نرخ تکرار بین ۵ Hz تا ۵۰۰ بین ۲ تا ۱۰ میکروثانیه طول عمر دارند. به علت وابستگی فرکانسی مقدار ثابت دی الکتریک، مقادیر ارائه شده در جدول ۲/۲ اندکی پایین تر از مقادیر ارائه شده برای DC هستند. با یک گذردهی نسبی معمولی ۲ و ضخامت فیلم بسته بندی ۱۰۰ میکرومتر، ظرفیت خاص (یعنی نسبت بین گذردهی و ضخامت ϵ_f/d_f) برابر می شود با $18 \text{ pF}\cdot\text{cm}^{-2}$. قدرت میدان تخریب ماده خاص معمولاً در مقادیر بزرگتر از مقادیر معمولی فراوری PEF مقداری بزرگتر است. جدول ۱ همچنین ظاهر محفظه های معمولی و نوع محصول بسته بندی شده را نیز نشان می دهد. غلظت ماده بسته بندی (p) هم به علت نگرانی های زیست محیطی و رویه استفاده از محفظه های غذایی سبک وزن تر ذکر شده است. /۴/

جدول ۱: خصوصیات محفظه، ظاهر بسته بندی و محصولات.

نام	ρ [kg·m ³] × 10 ³	ϵ_r [-]	σ [S·m ⁻¹]	E_{bd} [kV·mm ⁻¹]	ظاهر محفظه	محصولات
PET	1.38-1.39	2.5-3.5	10 ⁻¹⁴	60	بطری ها؛ لایه های کیسه ای	نوشابه ها؛ آبجو؛ آبیوه ها
HDPE	0.95-0.97	2-2.5	10 ⁻²⁰	80	بطری ها؛ کیسه ها؛ لایه های کیسه ای	آبیوه های سرد و محصولات لبنی
PVC	1.15-1.35	3-6	10 ⁻¹⁵	24-40	بطری ها	کنسنتره میوه
LDPE	0.92-0.94	2-2.5	10 ⁻²⁰	80	کیسه ها، لایه های کیسه ای	محصولات لبنی سرد
PP	0.9-0.91	2.2-2.8	10 ⁻¹⁹	75	بطری ها؛ درپوش بطری؛ بسته های الیافی	آبیوه ها و محصولات لبنی سرد
کاغذ	0.7-1.2	2-2.5	10 ⁻¹⁰	20	کارتن ها، کیسه ها	نوشابه های غیر کربنات؛ محصولات لبنی
شیشه	2.6	3-10	10 ⁻¹²	40-60	بطری ها، شیشه ها	مشروب؛ آبجو؛ نوشابه ها؛ کچاپ
آلومینیوم	2.7	-	3.7·10 ⁷	-	قوطی؛ لایه جداکننده در کیسه ها و کارتن ها	آبجو؛ نوشابه ها
استیل	7.8	-	5.6·10 ⁶	-	قوطی ها	نوشابه های کربنات؛ شربت ها

قلع	6-7	-	$8.7 \cdot 10^6$	-	لایه درونی قوطی های فلزی	نوشابه های کربنات
-----	-----	---	------------------	---	--------------------------	-------------------

مفاهیم فراوری

همان طور که توصیف شد، فراوری نگهداری غذا یا به صورت قبل یا بعد از بسته بندی انجام می شوند. دو تکنیک فراوری بسته بندی مدرن معرفی شده و مناسب بودن انواع مختلف بسته بندی برای تکنیک های مختلف هم مورد بررسی قرار می گیرند. که به قرار زیر است:

- فراوری های حرارتی "پیش از بسته بندی" و "درون بسته"
- فراوری های غیرحرارتی نوین "درون بسته"

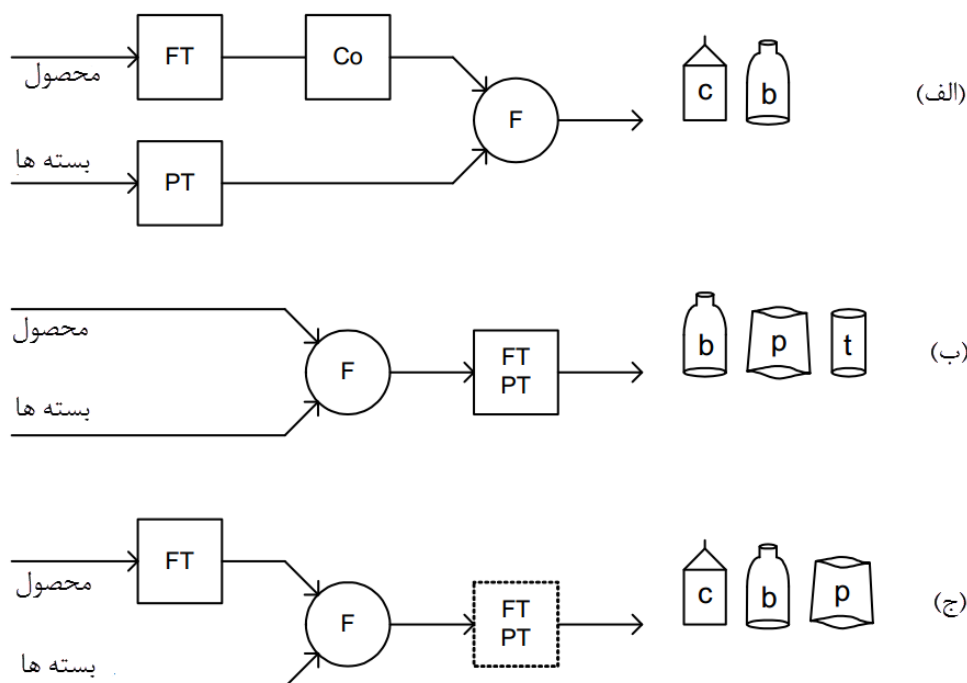
فراوری های حرارتی پیش از بسته بندی و درون بسته ای – محصولاتی که باید برای فراوری PEF در نظر گرفته شوند غالباً با گرما فراوری شده اند. می توان به شیوه های فراوری حرارتی زیر اشاره کرد.

- فراوری گندزدایی یا بهداشتی
- استریل سازی درون بسته بندی
- پر کردن بسته با محصول داغ

در طول فراوری گندزدایی، غذا در ابتدا در دمای 140°C درجه سانتیگراد به مدت ۱ تا ۲۰ ثانیه استریل شده و سپس در یک بسته از قبل استریل شده در محیط استریل بسته بندی می شود. تصویر ۹ یک نمای ساده شده از این فرایند را نشان می دهد، که در آن فراوری غذا (FT) و فراوری بسته (PT) قبل از، پر کردن

(F) رخ

می دهند. /۶/



تصویر ۹: دیاگرام های مساوی برای فراوری دمایی. (الف) فراوری گندزدایی، (ب) استریل سازی درون بسته یا قوطی، (ج) پر کردن به صورت داغ

فراوری ضد عفونی منجر به طول عمر غالباً ۶ ماهه بسته در دمای اتاق شده و از آن به عنوان "استریل سازی تجاری" نیز یاد می شود. در چنین فرایندی، اجزای سلولی توسط دوازده کاهش دهی تقلیل می یابند. برای محصولات اسیدی مانند آب پرتقال، این امر منجر به بیش فراوری شدید می شود و به همین دلیل فراوری با شدت کمتری اعمال می شود، که گاهی از آن با عنوان پاستوریزاسیون یاد می گردد. بسته بندی ضد عفونی، که به صورتی گسترده برای آبمیوه ها و محصولات لبنی به کار برده می شود، در حال حاضر مناسب ترین راه برای بسته بندی محصولات فراوری شده با PEF به شمار می رود. معایب اصلی فراوری بهداشتی از این قرارند: هزینه های بالا، پیچیدگی بالای تجهیزات و نیاز به اپراتورهای با مهارت بالا به منظور حفظ شرایط استریل کامل. برای محصولات پاستوریزه ذخیره شده در کابینت های سرد، یا محصولات اسیدی با $pH < 4.5$ ، فرایند اعمال شده برابر با بخش الف تصویر ۱۳/۲ است، هرچند فراوری دمایی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می گیرد شدت کمتری دارد، غالباً ۶۰ تا ۸۰ درجه به مدت ۱۰ تا ۳۰ ثانیه. به علت پایین بودن pH ، نیازی به یک فرایند پر کردن استریل نیست. در این مورد، اعضای سلول توسط پنج یا شش کاهش دهی تقلیل می یابند. برای فراوری این محصولات، پنج کلاس از ماشین های پر کننده بهداشتی (I، II - V) توسط VDMA تعریف شده اند. اینکه در هر موقعیت چه کلاسی

مورد نیاز باشد به نوع محصول، طول عمر بسته مورد نیاز و شیوه توزیع (به صورت سرد یا در دمای محیط) بستگی دارد. کلاس ۷ (پنج) بهداشتی‌ترین طبقه بندی بوده و با عنوان فراوری ضد عفونی شده تعریف می‌شود. کلاس های پایین تر بیشتر با عنوان فراوری بهداشتی شناخته می‌شوند. تکنیک دوم شیوه "استریلیزاسیون درون بسته" (ICS) است، که در بخش (ب) تصویر ۹ به نمایش درآمده است. این شیوه را می‌توان در قوطی های فلزی، بطری های شیشه ای و کیسه های انعطاف پذیر به کار برد. در طول این فرایند، محصول پس از بسته بندی مورد فراوری قرار می‌گیرند. ICS بیشتر توسط بخار یا اسپری آب داغ انجام می‌شود. این فرایند را می‌توان به صورت دسته ای، در رگه های بزرگ یا به صورت مستمر انجام داد، و غالبا بین ۱۰ تا ۶۰ دقیقه در ۱۱۵ تا ۱۳۵ درجه سانتیگراد به طول می‌انجامد. در مورد فراوری مستمر، از "استریل کننده های ایستایی مستمر" استفاده می‌شود. در عین حال، آبجوی قوطی یا درون بطری معمولا "به صورت تونلی پاستوریزه" شده است، که آن هم به عنوان فراوری ICS شناخته می‌شود. هرچند، استفاده از مخفف ICS در اینجا کمی گیج کننده است، یک واژه بهتر می‌تواند "پاستوریزاسیون درون بسته" باشد. پس از ریختن به درون قوطی یا بطری، بسته ها از میان یک تونل پاستور گذرانده می‌شوند، که آنها را با آب داغ، غالبا در دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه به مدت ۱۰ تا ۳۰ دقیقه فراوری می‌کند. در طول ICS یک حداقل مقدار فضای بالا سری (گازی) در بسته یا به ویژه بطری های انعطاف پذیر برای اجتناب از فشار داخلی بیش از حد بالا و در نتیجه گسیختگی بسته بندی مورد نیاز است. ICS توسط فشار بار دمایی بالا و بدین ترتیب از بین رفتن طعم و ارزش غذایی شناخته می‌شود. این امر بیشتر به علت این واقعیت ایجاد می‌شود که اندکی طول می‌کشد تا دما کاملا به بسته نفوذ کند. به همین دلیل تولید کنندگان به سراغ بسته بندی بهداشتی می‌روند، که پس از فراوری غذا انجام می‌شود، همان طول که در بخش (الف) تصویر ۹ قابل رویت است. /۶/

در طول پاستوریزاسیون "پر کردن داغ"، که در بخش (ج) تصویر ۹ به نمایش درآمده است، فراوری دمایی قبل از بسته بندی انجام شده و بسته مستقیما با مایع داغ پر می‌شود، معمولا در دمای بین ۶۰ تا ۸۰ درجه سانتیگراد. گاهی محصول و بسته بندی به مدتی خاص در همین دما نگه داشته می‌شوند تا از پاستوریزاسیون کامل اطمینان حاصل شود. می‌توان از شیوه پر کردن داغ به عنوان یک فراوری نیمه درون بسته ای برای کارتن ها، بطری های شیشه ای، و کیسه ها یاد کرد. بطری های پلاستیکی غالبا دارای قابلیت پر کردن داغ ضعیف تری می‌باشند، به غیر از بطری هایی که به طور خاص برای همین منظور طراحی شده اند، یا بطری های ساخته شده از پلی پروپیلن PP. /۶/

فراوری های غیر حرارتی و نوظهور درون بسته ای - برای تکنیک های غیر حرارتی و روش های نوظهور به غیر PEF، فراوری های درون بسته ای در گذشته پیشنهاد شده اند. این فراوری های درون بسته ای از این قرارند:

- فراوری فشار بالا
- دما دهی اهمی
- میدان های الکتریکی مغناطیسی
- میدان های الکتریکی فرکانس رادیویی

در طول فراوری فشار بالا (HPP)، بسته غذایی وارد یک محفظه فشار بالای بسته می شود، که با آب پر شده و سپس فشرده می شود. فشار اعمال شده، که معمولاً ۶۰۰۰ بار است، از بسته بندی گذشته و به غذا می رسد، که دارای تاثیری کشنده بر روی باکتری هاست. یکی از محدودیت های مهم در اینجا این است که بسته ها باید قادر به بازگشت به شکل اولیه شان بوده و اینکه خصوصیات آنها تغییر نکند. تغییر شکل بسته ها در طول HPP به علت فشرده شدن فضای خالی بالای گازی رخ می دهد. کیسه های انعطاف پذیر به عنوان ایده آل ترین بسته ها برای فراوری HPP شناخته می شوند. بسته بندی های محکم تر مانند بطری های شیشه ای، قوطی های فلزی و کارتن ها را نیز می توان برای این تکنیک مد نظر داشت، هرچند آنها باید هیچ فضای خالی بالا سری نداشته (یا حداقل آن را داشته باشند) و از انعطاف پذیری کافی برخوردار باشند. دما دهی اهمی هم یک تکنیک فراوری غذای نوظهور است. این شیوه به صورت گرما دهی درون بسته ای به وسیله دو الکتروود فیلم فلزی موازی کار گذاشته شده در یک کیسه بالشی انجام می شود. گوشه های تیز الکتروود ها و در نتیجه میادین الکتریکی بالای موضعی به عنوان دلیل اصلی دما دهی غیر یکدست محصول بسته بندی شده ذکر شده اند. /۶/

القای مغناطیسی می تواند انتقال انرژی به درون بسته بندی غذا را بدون تماس مستقیم با الکتروودها ممکن سازد. این تکنیک، که به نام "میادین الکتریکی القای مغناطیسی" یا "میادین مغناطیسی نوسانی" (OMF) شناخته می شود، می تواند برای فراوری نگهداری غذا، یا برای فراوری های پزشکی به کار رود. تکنیک مورد استفاده برای فراوری غذا بر پایه یک میدان مغناطیسی دارای زمان متغیر معمولاً بین ۲ تا ۱۰۰ kHz به همراه پالس های کوتاه ضعیف شونده ۲۵ میکرو تا ۱۰ میلی ثانیه در فرکانسی بین ۵ تا ۵۰۰ kHz می

باشد. با تولید یک میدان مغناطیسی زمان متغیر ϕ_B ، در یک محیط رسانا مانند غذا، یک میدان الکتریکی E تولید می شود که می توان آن را با معادله ماکسول-فارادی توصیف کرد:

$$\oint \mathbf{E} \cdot d\mathbf{l} = -\frac{d\phi_B}{dt} \quad (۸)$$

در این زمینه، هافمن به توصیف چندین آزمایش درون بسته OMF با شیر، ماست و آب پرتقال با کاهش میکروبی تا $\log_{10}$ ۳/۶ پرداخته است. /۶/

فراوری میادین الکتریکی فرکانس رادیویی (RFEF) ۶۰ سال است که مورد مطالعه قرار گرفته است. این شیوه به صورت قرار دادن یک محصول مایع در معرض یک انفجار ولتاژ AC، غالباً بین ۱۵ kHz تا ۷۰ kHz در طول ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکروثانیه تعریف می شود. عدم فعالیت باکتریایی تا $\log_{10}$ ۵ در میادین الکتریکی بین $1 \text{ kV} \cdot \text{mm}^{-1}$ تا ۳ ثبت شده است. در فرکانس های بالاتر یعنی بیش از ۱۰۰ kHz، ولتاژ غشایی القا شده و بدین ترتیب تاثیر مرگ آور فراوری تا حد زیادی کاهش می یابد. با اینحال، سایر محققین ادعا کرده اند که در فرکانس های خیلی بالاتر، معمولاً بین ۱۰۰ MHz تا ۱۴۰۰ MHz، عدم فعالیت میکروبی ممکن می گردد. این امر می تواند موقعیت هایی را برای غیرفعال سازی حفره ها و فراوری محصولات عایق الکتریکی در فرکانس های بالای ۱۰۰ MHz ایجاد کند. /۴/

مواد پلیمری رسانای الکتریسته

پلیمرها زنجیره هایی از مولکول های بزرگ از گروه های کربن-هیدروژن کوچک تر، یکسان و تکرار شونده که به صورت کووالانسی متصل شده اند هستند. این فرایند پلیمریزاسیون نام دارد. پلیمرها معمولاً عایق الکتریسته بوده و دارای رسانایی $10^{-10} \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ می باشند. دو شیوه برای ایجاد رسانایی الکتریکی در پلیمرها از این قرارند:

- پلیمر رسانای درونی با به دست آوردن الکترون های آزاد
- پلیمر رسانای خارجی با اضافه کردن یک پرکننده رسانا

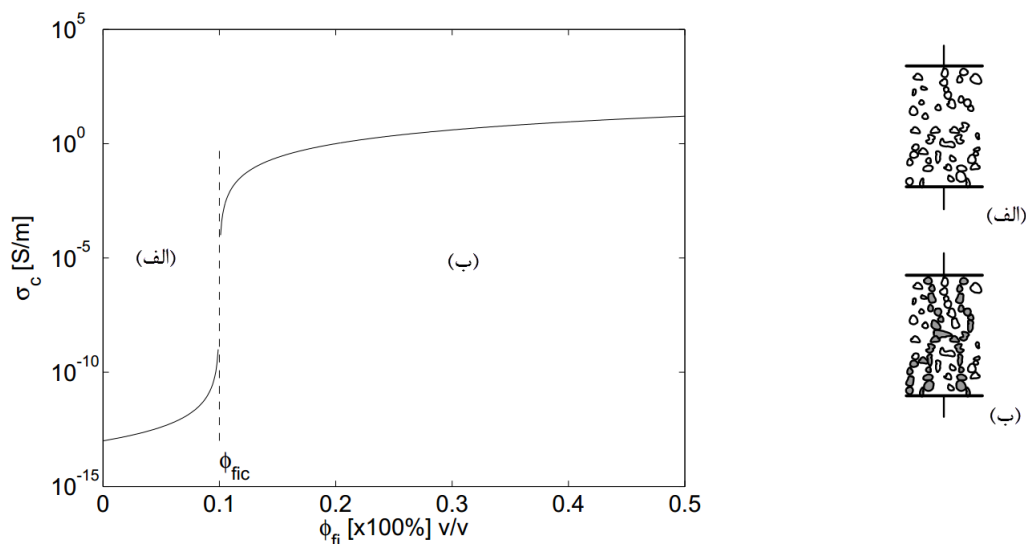
پلیمرهای رسانای درونی

اولین شیوه به دست آوردن رسانایی الکتریکی، ایجاد ساختارهای اتصال مختلف است به گونه ای که الکترون ها بتوانند آزادانه در زنجیره پلیمر حرکت کنند. از این پلیمر ها با عناوین "پلیمرهای رسانای درونی" یا "پلیمرهای ترکیبی" یاد می شود. رسانایی های رایج شامل $10^{-6} - 10^{-8} \text{ S} \cdot \text{m}^{-1}$ می شوند.

افزایش رسانایی به مقدار خیلی زیاد با افزودن ناخالصی های شیمیایی، که به آن رسانش فلزی نیز اطلاق می شود، تا مقداری در حد $400 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ هم قابل دستیابی است. پلیمرهای رسانای درونی به وسیله عامل های کاهش دهنده یا اکسید کننده ترکیب می شوند، مواد شیمیایی هستند که الکترون ها را به الکترون افزوده یا از آن کم می کنند. درون پلیمر، اکسیداسیون یا کاهش منجر به تغییر ساختار می شود، به گونه ای که می تواند جریان الکتریسیته را منتقل کند. پلیمرهای رسانای درونی توجه تعداد زیادی از محققین را معطوف خود ساخته اند. هرچند، به علت معایبی مانند قابلیت فراوری ضعیف، پایداری زیست محیطی نامناسب، هزینه های تولید بالا، و سمی بودن عوامل شیمیایی مورد استفاده، این شیوه کاربردی در صنایع غذایی ندارد. /۶/

پلیمرهای رسانای خارجی

شیوه ای دیگر برای افزایش رسانایی الکتریکی، افزودن پر کننده های رسانای مختلف به پلیمرهای غیر رساناست. در این حالت ذرات رسانای جفت شده زنجیره هایی رسانا با عنوان "کامپوزیت پلیمر رسانا" یا "کامپوزیت ذرات ریز" ایجاد می کنند. تحقیقات جامعی بر روی شبکه های پلیمری مختلف با استفاده از مواد پر کننده مختلف انجام شده اند، مانند ذرات فلزی، گرافیت، کربن سیاه، یا فیبرهای کربنی. این پر کننده ها دارای مقیاس هایی متنوع از میکرومتر تا نانومتر بوده و می توانند در تراکم های مختلف با مواد بسته بندی پلاستیکی معمولی مانند PE، PET و PP ترکیب شوند. در صورتی که تراکم پر کننده، ϕ_{fi} ، از یک سطح بحرانی خاص، ϕ_{fic} ، فراتر رود، رسانایی کامپوزیت به سرعت افزایش می یابد. در چهارچوب نظریه تراوش، از این تراکم بحرانی به عنوان "آستانه تراوش" یاد می شود، و معمولاً برای ترکیبات مختلف برابر است با 0.02 تا 0.2 . در پایین تر از این تراکم، ذرات پر کننده به صورت جداگانه پراکنده شده یا تشکیل خوشه های مجزا با اندازه محدود می دهند، که در کل شبکه پلیمر توزیع شده اند. در بالای تراکم بحرانی، خوشه ها اتصال درونی یافته و تولید مسیرهای نامتناهی از ذرات رسانا میکنند، که اجازه می دهد یک جریان در میان ماده کامپوزیت جریان یابد. به ترتیب بخش های (الف) و (ب) تصویر ۱۰ این دو رویداد را نمایش می دهند. /۶/

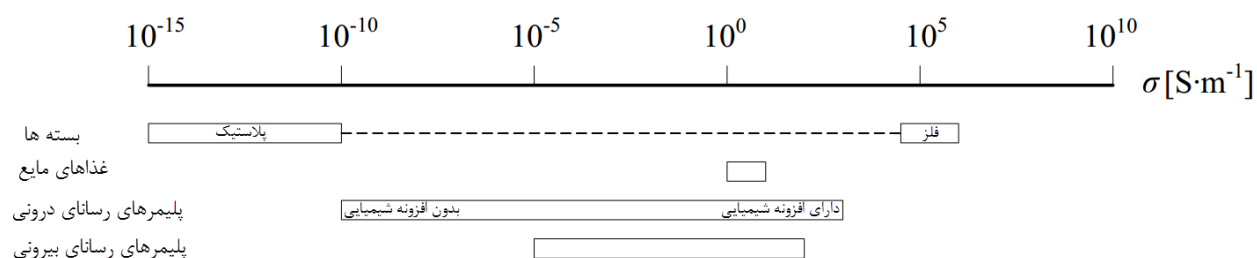


تصویر ۱۰: رسانایی عادی یک کامپوزیت به عنوان تابعی از محتوای پرکننده، $\sigma_{fi} = 100 \text{ S}\cdot\text{m}^{-1}$ ، $v = 2$ ، و $\phi_{fic} = 0.1$ (الف) ذرات پرکننده جدا شده (ب) مسیرهای رسانا بالای آستانه تراوش رسانایی کامپوزیت، σ_c ، بالای آستانه تراوش را می توان با تابع تعریفی زیر توصیف کرد:

$$\sigma_c = \sigma_{fi} (\phi_{fi} - \phi_{fic})^v \quad (9)$$

که در آن σ_{fi} رسانایی پرکننده و v یک نمای بحرانی است. در معادله (۹)، تراکم ها به صورت نسبت حجم (v/v) بیان شده اند. مقدار کلی v برای یک شبکه سه بعدی بین $1/60$ تا $2/100$ می باشد. این پارامتر تحت تاثیر طبیعت پرکننده و شبکه، همچنین شرایط آمادگی کامپوزیت قرار دارد. معادله (۲/۹) اظهار می دارد که افزایش محتوای پرکننده منجر به افزایش رسانایی کامپوزیت می شود؛ هرچند خصوصیات مکانیکی مانند قابلیت کششی کاهش می یابند. برای همخوانی با کاربردهای بیشتر، تراکم پرکننده اندکی بالاتر از آستانه تراوش انتخاب می شود. متأسفانه، کنترل تراکم پرکننده ای که نزدیک به مرز تراوش باشد به علت شیب خیلی تند در رسانایی چالش برانگیز است. کامپوزیتی که نزدیک آستانه تراوش باشد متشکل است از تعدادی مسیرهای رسانایی، همچنین ذرات رسانای نزدیک به اهمی که فقط توسط لایه های نازک مواد شبکه پلیمر عایق شده اند. برای زنجیره های رسانایی که مسیرها را تشکیل داده اند، غالباً یک رفتار اهمی استاندارد مشاهده می شود، در حالیکه برای ذرات رسانای نزدیک به هم یک مکانیزم شرطی ثانویه هم ممکن است. در پیش آمدگی های تیز ذرات، که در آنها میداین الکتریکی بالای موضعی به دست می آیند، نوعی فرایند انتشار الکترونی شرایط را کنترل می کند. این پدیده ها، که از آنها به عنوان "القای تونلی" یا

"پرش" الکترون ها میان ذرات جداگانه یاد می شود، می توانند منجر به یک خصوصیات ولت-آمپری غیرخطی شوند، که توسط محققین متعددی توصیف شده است. پلیمرهای رسانای بیرونی ارزان بوده و ساخت آنها نسبتا آسان است. آنها در کاربردهای مختلفی مورد استفاده قرار می گیرند، مانند سنسورها، ماهیچه های مصنوعی، بسته بندی ایمن ESD لوازم الکترونیکی، محدود کننده های جریان و ژنراتورهای الکتریکی. تصویر ۱۱ دامنه رسانایی الکتریکی هر دو نوع پلیمر رسانا به همراه رسانایی بسته های رایج غذایی و محصولات غذایی مایع را نمایش می دهد. /۶/



تصویر ۱۱: رسانایی الکتریکی عادی بسته ها، محصولات غذایی مایع و پلیمرهای رسانا

بسته های از جنس پلاستیک معمولی یا فلز دارای رسانایی الکتریکی هستند، که بسیار پایین تر یا بالاتر از رسانایی محصولی است که باید بسته بندی شود. برعکس، رسانایی الکتریکی پلیمرهای رسانا دامنه غذاهای مایع را پوشش می دهد، که می تواند برای شیوه PEF درون بسته ای مفید باشد. /۶/

فصل پنجم

تاثیر PEF بر فرایند مواد غذایی

تاثیر میدانهای الکتریکی پالسی روی میکرواورگانیزم های مواد غذایی به منظور فرآوری و تغذیه سالم

فرآیند میدان الکتریکی پالسی PEF با ولتاژ بالا یک تکنیک جدید برای غیر فعال کردن میکرواورگانیزم ها و پاستوریزاسیون غیرحرارتی مواد غذایی می باشد که می تواند جایگزین مناسبی برای فرآیندهای حرارتی باشد.

میکرواورگانیزم های مواد غذایی را می توان با میدان های الکتریکی پالسی در دماهای محیط و پایین تر در مدت زمان کمتر از یک ثانیه غیر فعال نمود و در نتیجه کیفیت و تازگی غذا را با این روش حفظ کرد. در طول فرآیند PEF ، لیز شدن میکرواورگانیزم ها در اثر تغییرات ساختاری غیر قابل برگشت در غشاء سلولی صورت می گیرد که نهایتاً منجر به انهدام دیواره نیمه تراوی غشاء می گردد و در ضمن کیفیت و ارزش تغذیه ای محصولات غذایی هم تحت تاثیر قرار نمی گیرد . میدان های الکتریکی دارای کاربردهای زیادی در صنایع غذایی و تکنولوژی لبنیات است که مهمترین کاربردها علاوه بر غیر فعال کردن میکرواورگانیزم ها و آنزیمهای نامطلوب ، شامل کاهش اسیدهای چرب آزاد در طول مدت نگهداری شیر خام ، بهبود خصوصیات ارگانولپتیکی و بافتی ماست ، بهبود و تسریع رسیدن پنیر ، رفع گرفتگی غشاها و در نهایت افزایش عمر انباری شیر و محصولات تولیدی می باشد . شواهد زیادی وجود دارد که افزایش دما در روش PEF عامل غیر فعال شدن میکرواورگانیزم ها نیست ، بلکه اثرات باکتری کشی PEF مرتبط با شدت میدان الکتریکی ، مدت زمان فرآیند ، تعداد پالس ها و عرض پالس می باشد . علاوه بر عوامل فوق الذکر غیر فعال شدن میکرواورگانیزم ها بوسیله PEF ، بانوع میکرواورگانیزمها ، مرحله رشد میکروبی ، مرحله رشد میکروبی ، میزان تلقیح اولیه ، شرایط پیش کشت ، غلظت یونی و هدایت الکتریکی سوسپانسیون تغییر می نماید .

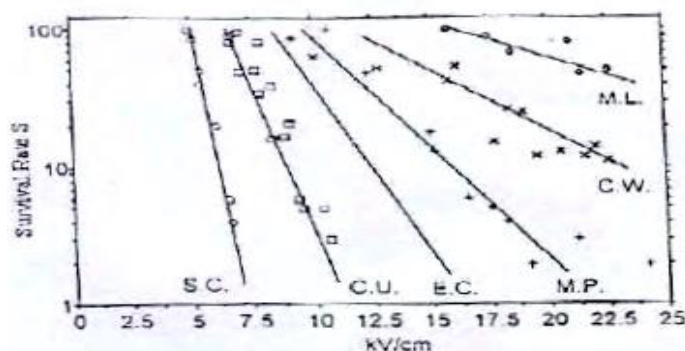
در سطح انبوه در کشورهای صنعتی و نیمه صنعتی کاملاً مرسوم است. این کار مستلزم بهره گیری از روشهای نگهداری مناسب جهت ممانعت از فساد فرآورده تا موقع مصرف می باشد. برای نیل به این منظور، بار میکروبی ماده غذایی نباید از حد ماکزیم تجاوز نماید . در عین حال ، میکرواورگانیزم های بیماری زا نیز باید به طور کامل منهدم گردند تا هیچ خطری سلامت مصرف کننده را تهدید ننماید. با توجه به شرایط و اهداف فرآیند ، امروزه روشهای متنوعی برای از بین بردن میکرواورگانیزم ها به عنوان مهمترین عوامل فساد را به کار برده می شوند که از آن جمله می توان به روشهای پاستوریزاسیون و استرلیزاسیون حرارتی ، روش فیلتراسیون ، فرآیندهای شیمیایی و تکنیک پرتوافکنی به عنوان مهمترین روشهای نگهداری صنعتی اشاره کرد . در سالهای اخیر با افزایش تقاضای مصرف کنندگان برای مواد غذایی تازه ، همچنین با عطر و طعم مطلوب و ارزش تغذیه ای بالا به ویژه در مواد غذایی مایع مانند

عصاره میوه ها و سبزیجات و شیر که غنی از ویتامین ها ، آنتی اکسیدان ها مانند ویتامین C و E ، ترکیبات فنولیک و کاروتن ها هستند (۲۳) و با توجه مسائل و مشکلات فرآیندهای حرارتی علاقه روز افزونی به فرآیندهای غیر حرارتی برای نگهداری و فرآوری سالم مواد غذایی ایجاد شده است (۱۴) . فرآیند حرارتی مرسوم ترین روش سالم سازی صنعتی به شمار می رود که در طی آن از دماهای بالا جهت تخریب ماکرو مولکول های سلولی شامل کوآگولاسیون پروتئین ها و نیز اختلال در عملکرد غشاء که در نهایت منجر به مرگ میکرواورگانیزم ها می گردد ، استفاده می شود ولی در روشهای حرارتی صدمات محسوسی به کیفیت مواد غذایی مثل کاهش ارزش غذایی به ویژه کاهش مقدار ویتامین ها ، از بین رفتن آنتی اکسیدان ها ، واکنش های قهوه ای شدن غیر آنزیمی و تغییر طعم و مزه و رنگ محصول وارد می گردد. اگر چه با پیشرفت تکنولوژی و ابداع مبدل های حرارتی مختلف ، امروزه سعی میگردد این تغییرات به حداقل رسانیده شود ولی استفاده از این تجهیزات به نوبه خود برای محصولاتی نظیر شیر که حاوی پروتئین ، املاح معدنی و دیگر ترکیبات حساس به حرارت هستند ، باعث تشکیل رسوب روی سطوح مبدل و کاهش ضریب انتقال حرارت آن می گردد. افزایش تقاضای عمومی به مصرف غذاهای شبه خام و تازه و بدون تغییر طعم ، ارزش غذایی و محتوای ویتامینی در طول فرآیند ، نظر محققین را به بررسی روشهای غیر حرارتی جهت نگهداری مواد غذایی معطوف ساخته و با تحقیقات گسترده ای که در این زمینه صورت گرفته ، امروزه چندین روش پیشرفته و جدید برای فرآوری مواد غذایی توسعه یافته است که شامل میدان الکتریکی پالسی (PEF) ، فشار هیدرواستاتیکی بالا میدان های مغناطیسی نوسانی (OMF) ، پالس های نور ، میکروب کش های طبیعی و باکتریوسین ها و غیره می باشد (۱). پالس های الکتریکی ولتاژ بالا فرآیندی است که در طی آن پالسه های ولتاژ بالا برای کشتن میکرواورگانیزم های ماده غذایی در بین دو الکترود در دمای نسبتا پایین و زمان کمتر از یک ثانیه استفاده می شود . طبق نظر کاسترو و همکارانش (۴) ، مواد غذایی فرآیند شده با این تکنیک ، خواص فیزیکی ، شیمیایی و تغذیه ای خود را حفظ می کنند.

۱- تاثیر پالس های الکتریکی ولتاژ بالا روی میکرواورگانیزم ها

این فرآیند در درجه حرارت های نسبتا کم و برای کمتر از یک ثانیه انجام می شود. وقتی که یک میدان الکتریکی خارجی (E) برای یک سلول اعمال می شود پتانسیل انتقالی غشاء القاء می شود. سال و همیلتون (۲۱) با استفاده از یک مدل الکترواستاتیک ساده پیشنهاد کردند که لیز شدن سلول هنگامی که میدان الکتریکی اعمال شده یک اختلاف پتانسیل یک ولت را در عرض غشاء سلول میکرواورگانیزم ها ایجاد کند ، روی می دهد که منجر به افت برگشت ناپذیر عمل غشاء به صورت یک دیواره نیمه تراوا بین سلول

و محیط آن می شود. پلاریزاسیون شدید سلولهای زنده بوسیله یک میدان الکتریکی خارجی (E) منجر به افزایش در قابلیت هدایت غشاء سلول و نفوذ پذیری آن می گردد. اخیراً هو و میتال (۱۱) تئوری های رایج روی مکانیسم های غیر فعال شدن میکرواورگانیزم ها بوسیله ELECTROPORATION غشاء سلول (سوراخ شدن غشاء سلول بوسیله جریان الکتریکی) که از PEF استفاده شده است را توضیح داده اند. غیر فعال شدن میکرواورگانیزم ها به غلظت و ماهیت سلولهای مورد فرآیند بستگی دارد، به طوری که مخمرها حساس از باکتری های رویشی می باشند (شکل ۱)



شکل ۱ - ارتباط بین درجه غیر فعال شدن میکروبیو شدت میدان الکتریکی . S.C: ساکارومایسس سروزیه . C.U: کاندیدا یوتیلیس . E.C: اشرشیاکلی . M.P: سودوموناس متحرک . C.W: کلستریدیوم ولشی . M.L: میکروکوکوس لایزودیکریکوس (۲۰)

نتایج تحقیقات نشان می دهد که مخمرها و باکتری های گرم مثبت حساسیت کمتری به عمل پالس الکتریکی نسبت به باکتری های گرم منفی دارند و همچنین میکرواورگانیزم ها در فاز رشد لگاریتمی به طور قابل ملاحظه ای سریعتر از میکرواورگانیزم های داشته شده از فاز سکون رشد غیر فعال می شوند. تحقیقات نشان میدهد که وقتی مقدار پتانسیل بین غشایی به مقدار بحرانی یک ولت می رسد، منافذی در غشاء ایجاد میکند که بعد از حذف پتانسیل اعمال شده باز می مانند. این پدیده با مدل سوراخ شدن الکتریکی زیمرمن (۲۵) و فرآیند سوراخ شدن الکتریکی غشاء قابل توجیه می باشد. در ارتباط با اثر میدان های الکتریکی پالسی روی میکرواورگانیزم ها گزارش های متنوعی وجود دارد که به برخی از آنها اشاره می شود. گوتیرز دپینرس و همکاران (۱۰) اثر نوع فاز رشد روی میزان غیر فعال شدن E.coli در شیر خام را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که با استفاده از میدان های الکتریکی با پالس های تک قطبی و شدت میدان الکتریکی ۵۰ کیلو ولت بر سانتی متر میزان غیر فعال شدن باکتری مذکور در فاز ثابت رشد ۸۶% و در فاز رشد لگاریتمی ۲۸% می باشد. علت این امر مربوط به سرعت رشد بالاتر در فاز رشد لگاریتمی

و عبور بیشتر الکترون ها از غشای سلول به طرف گیرنده های نهایی گزارش شده است. جانگ و همکاران (۱۳) اثر میدان های الکتریکی پالسی در غیر فعال شدن *Pseu. fluorescens* را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از میدان های الکتریکی پالسی با شدت ۶۰ کیلو ولت بر سانتی متر ، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و مدت زمان کل ۲۱۰ میکرو ثانیه باعث غیر فعال شدن این باکتری به میزان ۸ لگاریتم می شود. اورندیلک و همکاران (۶) در فرآیندی با شدت میدان الکتریکی ۲۹ کیلو ولت بر سانتی متر و زمان کل ۳/۷۱ میکروثانیه در شیر بدون چربی بازسازی شده پاستوریزه کاهش ۵-۳ لگاریتم در شمارش *S. aureus* را مشاهده کرده اند . نتایج حاصل از بررسی ها روی غیر فعال شدن *B.stearothermophilus* در شیر UHT نشان داد که استفاده از میدان های الکتریکی پالسی با شدت ۶۰ کیلو ولت بر سانتی متر و کل زمان فرآیند ۲۱۰ میکروثانیه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد با اتاقت فرآوری مداوم باعث کاهش شمارش باکتری به میزان ۳ لگاریتم می شود(۱۳). فرناندز - مولینا و همکاران (۷) غیر فعال شدن *Listeria innocua* در شیر خام بدون چربی تحت میدان الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی : ۵۰ کیلو ولت بر سانتی متر ، تعداد پالس : ۱۰۰ ، عرض پالس : ۲ میکرو ثانیه ، دمای فرآیند: ۱۵-۱۸ درجه سانتی گراد ، اتاقت فرآوری مداوم) را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان دهنده کاهش باکتری به میزان ۶/۲ لگاریتم بود . در یک بررسی اثر استفاده از میدان های الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی ۳۰-۱۵ کیلو ولت بر سانتی متر ، دمای فرآیند : ۶۰-۰ درجه سانتی گراد ، اتاقت فرآوری بچ) روی میزان غیر فعال شدن *L. monocytogenes* نشان داد که در دماهای پایین تر میزان نابودی میکرواورگانیزم کم و در حدود ۱ لگاریتم بود ولی در دماهای بالاتر به دلیل اثرات سینرژیستی میدان های الکتریکی پالسی و دما میزان غیر فعال شدن باکتری تا ۴ لگاریتم افزایش می یابد که مربوط به افزایش حساسیت *L. monocytogenes* نسبت به میدان های الکتریکی پالسی در دمای بالا است . همچنین مطالعات این محققان نشان دادند که باکتری مذکور دارای مقاومت نسبی در برابر میدانهای الکتریکی پالسی است (۸).

۲- تاثیر پالس های میدان الکتریکی شدید (HELP) روی آنزیم ها

به دلیل اثرات مفید و یا مضر آنزیمها کنترل فعالیت آنزیمی در بیشتر مراحل فرآوری غذا مورد نیاز میباشد. استفاده از پالس های الکتریکی بالا به عنوان یک تکنولوژی جدید برای نگهداری غذا بررسی شده است که اطلاعات محدودی مربوط به اثرات میدان های الکتریکی پالسی روی فعالیت آنزیم ها وجود دارد. هو و همکاران (۱۲) میزان فعال شدن آنزیم لیپاز در آب دیونیزه شده را ۸۵% گزارش کردند. بطور

کلی برای غیر فعال شدن معنی دار آنزیم ها نسبت به میکروارگانیزم ها به شرایط شدیدتری از میدان های الکتریکی پالسی نیاز است . این مساله در صنایع لبنیات مهم میباشد ، چون با استفاده از میدان های الکتریکی پالسی بدون غیر فعال شدن آنزیم های مطلوب میتوان میکروارگانیزم های عامل بیماری و فساد را از بین برد . مشخص شده است که اختلاف در کاهش فعالیت آنزیمی وابسته به شدت میدان الکتریکی، تعداد پالس های بکاررفته، نوع آنزیم و شرایط ماده غذایی است که آنزیم در آن وجود دارد (۲). گرال و مارکل (۹) اثر پالس های ولتاژ بالای کاهشی نمایی را در شدت میدان $E=21/5 \text{ Kv/cm}$ روی فسفاتاز قلیایی ، لاکتوپراکسیداز و لیپاز در شیر خام بررسی کردند که غیر فعال شدن ایجاد شده توسط HELP در لیپاز بیشتر از ۶۰٪ در شیر خام گزارش شده است . همچنین تحقیق روی فعالیت پلاسمین در شیر UF باز سازی شده توسط وقامرکادو و همکارانش (۲۴) انجام گرفته است که فعالیت پلاسمین ۹۰٪ بعد از اعمال ۵۰ پالس ، هم در شدت میدان 30 Kv/cm و هم در 45 Kv/cm و در دمای ۱۵ درجه سانتی گراد کاهش یافته است. مکانیسم غیر فعال شدن پلاسمین HELP طبق نظر محققان ممکن است از لحاظ شارژ و تغییرات ساختاری که به خاطر ماهیت الکترواستاتیک پلاسمین است ، توجیه شود. خصوصیات و ساختمان آنزیمها در غیر فعال شدن آنها نقش مهمی دارد، برای مثال پلی فنل اکسیداز و لیپوکسی ژناز که هر دو اکسیدوردوکتاز بوده و به ترتیب به جایگاه فعالشان دارای اتمها مس و آهن می باشند ، در طول زمانهای فرآیند طولانی ممکن است واکنش های الکتروشیمیایی در سطوح الکتروود رخ دهد که منجر به غیر فعال شدن این آنزیمها شود. بنابراین تاثیرات محدود HELP روی آنزیمهای مرتبط با غذا می تواند نشانگر محدودیتی برای استفاده از HELP به عنوان روش نگهداری غذا باشد که بر این محدودیت می توان از طریق ترکیب کردن HELP با سایر فاکتورهای نگهداری مثل فرآیند حرارتی ملایم ، نگهداری در دمای پایین فایق آمد تا فعالیت آنزیمی را در طول نگهداری کنترل کرد.

جدول ۲- میزان غیرفعال سازی آنزیم در شرایط مختلف تیمار در میدان های الکتریکی پالسی (Serrano and et. al., 2011)

آنزیم	آب میوه	شرایط تیمار	غیرفعال سازی (%)
پراکسیداز	گوجه فرنگی	2.5 kV/cm , $2.0 \mu\text{s}$, 20 Hz , $5/5 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۱۰۰
	پرتقال	2.5 kV/cm , $1.5 \mu\text{s}$, 25 Hz , $7 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۱۰۰
	هندوانه	2.5 kV/cm , $2.0 \mu\text{s}$, 114 Hz , $7/0 \text{ s}$ پالس های دوقطبی	۱۰۰
پلی فنل اکسیداز	توت فرنگی	2.5 kV/cm , $2.0 \mu\text{s}$, 229 Hz , $3/23-4/23 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۹۷/۵
	انگور	2.0 kV/cm , $3.0 \mu\text{s}$, 60 Hz , $3/23-4/0 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۱۰۰
لیپوکسی ژناز	گوجه فرنگی	2.5 kV/cm , $5.0 \mu\text{s}$, 25 Hz , $7/0 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۲۰
	گوجه فرنگی	2.5 kV/cm , $6.0 \mu\text{s}$, $5.0 \mu\text{s}$, $3 \mu\text{s}$ پالس عرضی	۸۰
	توت فرنگی	2.5 kV/cm , $5.0 \mu\text{s}$, 15 Hz , $4/0 \mu\text{s}$ پالس های تک قطبی	۳۵
	هندوانه	2.5 kV/cm , $5.0 \mu\text{s}$, $25-22 \text{ Hz}$, $1/0 \mu\text{s}$ پالس های دوقطبی	۵۰
	نخود	2.0 kV/cm , $2.0 \mu\text{s}$, 40 Hz , $400 \mu\text{s}$ پالس	۰

۳ - اثرات میدانهای الکتریکی پالسی روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی:

برخی از محققان بررسی هایی در ارتباط با تاثیر میدانهای الکتریکی پالسی روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصولات لبنی را انجام داده اند. در این ارتباط کین و همکاران (۱۷) اثر میدانهای الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی: ۴۰ کیلو ولت بر سانتی متر) روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی شیر ۲٪ چربی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بین خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی شیر تیمار شده با میدانهای الکتریکی پالسی و شیر پاستوریزه تفاوت معنی داری وجود ندارد. میچالاک و همکاران (۱۵) اثر میدانهای الکتریکی پالسی روی رنگ، PH، میزان رطوبت و پروتئین شیر تیمار شده با میدانهای الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی: ۳۵ کیلو ولت بر سانتی متر، زمان فرایند: ۱۸۸ میکرو ثانیه) در مقایسه با شیر UHT بدون چربی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاکی از آن بود که پارامترهای فیزیکوشیمیایی دو نمونه مورد مطالعه تفاوتی با هم نداشتند. همچنین دان (۵) گزارش داد که استفاده از میدانهای الکتریکی پالسی تاثیر معنی داری روی رشد استارترها، فعالیت آنزیمی، توزیع نسبت کلسیم و بازده تولید دلمه طی پنیرسازی از شیر خام نسبت به شیر تیمار شده با میدانهای الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی: ۲۰ تا ۸۰ کیلو ولت بر سانتی متر، زمان فرایند: ۱ تا ۱۰ میکرو ثانیه) نداشت. پس محصولات تهیه شده از چنین شیرهایی می توانند دارای کیفیت بالا و خصوصیت ارگانولپتیکی مناسبی نسبت به شیرهای پاستوریزه باشند. از گزارشهای دیگر در ارتباط تاثیر میدانهای الکتریکی پالسی روی ساختار پروتئینها و چربیها می توان به تحقیقات اودیروزولا - سرانو و همکاران (۱۶) اشاره کرد.

۴ - اثرات میدانهای الکتریکی پالسی روی ویتامینها و ترکیبات تغذیه ای:

میدانهای الکتریکی پالسی بعنوان روش غیرحرارتی برای فرآوری شیر بوده که چون طی آن از دماهای بالا استفاده نمی شود، پس ترکیب کلی شیر را تغییر نمی دهد. در ارتباط با اثرات میدانهای الکتریکی پالسی روی ترکیبات جزئی موجود در شیر اطلاعات کمی وجود دارد. بندیکو و همکاران (۳) اثر میدانهای الکتریکی پالسی روی ویتامینهای محلول در آب (اسید آسکوربیک، ریبوفلاوین و تیامین) و محلول در چربی (توکوفرول و کلی کلسیفرول) را مورد بررسی قرار داده اند.

نتایج نشان داد که استفاده از میدانهای الکتریکی پالسی (شدت میدان الکتریکی: ۱/۲۷ تا ۳/۱۸ کیلو ولت بر سانتی متر، زمان فرایند: ۴۰۰ میکرو ثانیه) هیچ تاثیری روی کاهش ویتامینها نداشته ولی در این میان

تاثیری روی کاهش ویتامینها نداشته ولی در این میان اسید آسکوربیک تا حدودی کاهش می یابد. مشاهده شد که میزان غیرفعال شدن اسید آسکوربیک طی میدانهای الکتریکی پالسی به مراتب کمتر از پاستوریزاسیون HTST و LTLT است. در گزارش دیگر گرال و مارکل (۹) ذکر کردند که استفاده از میدانهای الکتریکی پالسی باعث کاهش معنی دار میزان اسید آسکوربیک می شود در حالی که ویتامین A چندان تحت تاثیر قرار نمی گیرد. اخیراً" ریواس و همکاران (۱۹) در بررسی اثر میدانهای الکتریکی پالسی روی میزان ویتامینهای بیوتین، اسید فولیک، اسید پانتوتنیک و ریبوفلاوین به این نتیجه رسیدند که استفاده از میدانهای الکتریکی پالس (شدت میدان الکتریکی ۱۵ تا ۴۰ کیلو ولت بر سانتی متر، زمان فرآیند: ۰ تا ۷۰۰ میکرو ثانیه) هیچ تاثیری روی ویتامینهای مورد مطالعه ندارد که این نتیجه با سایر گزارشها مطابقت دارد. همچنین از بررسی های اخیر در ارتباط با ویتامینها می توان به گزارش رینر و همکاران (۱۸) اشاره کرد. می توان نتیجه گرفت که اگر میدانهای الکتریکی پالسی بتواند بخوبی، میکروارگانیسم ها و آنزیم های نامطلوب موجود در مواد غذایی را غیرفعال کنند، تولید محصولات غذایی مختلف با ارزش تقریبی بالا دور از انتظار نیست.

۵ - مورفولوژی سلولها بعد از فرآیند PEF:

سال و همینتون (۲۰) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، غشاهای غیرمعیوب در اریتروسیت ها و E.coli را بعد از فرآیند با ۱۰ پالس با مدت زمان ۲۰ میکرو ثانیه در میدان الکتریکی ولتاژ بالای ۲/۵ ولت بر میکرومتر مشاهده کردند. انهدام ساختار دو لایه ای غشاهای سلولی مشاهده نشده بود، با وجود این میکروگرافهای الکترونی اریتروسیتها نشان داد که شکست جزئی در نواحی ویژه ای غشاها رخ داده است. سلولهای S.cerevisiae فرآیند شده با ۲۴۰۰ پالس در میدان الکتریکی ۱/۵ ولت در میکرومتر با یک میکروسکوپ الکترونی دارای اسکن مورد آزمایش قرار گرفتند. سلولهای مخمر فرآیند شده به نظر می رسید که مانند بادکنک های خالی شده از باد، در مقایسه با سلولهای مخمر غیرفرآیند شده می باشند، که شاید در نتیجه تراوش محتویات سلول بعد از آسیب به دیواره های سلول یا غشاها بوسیله میدانهای الکتریکی اعمال شده باشد. (۲۲)

تاثیر PEF بر غیر فعال سازی باکتری های مهم در محصولات لبنی

تاثیر تیمار PEF در شرایط مختلف آزمایشی بر روی تعداد زیادی از میکروارگانیسم ها که در صنعت لبنیات از نظر شاخص آلودگی، بیماریزایی، ایجاد فساد یا تکنولوژیکی حائز اهمیت هستند با توجه به تفاوت های

ساختمانی این باکتری ها مورد مطالعه قرار گرفته است. تاثیر PEF بر انواع میکروارگانیسم ها در سه محیط تیمار SMUF (یک سیستم مدل شبیه سازی شده از شیر)، شیر و ماست با شرایط متفاوت آزمایشی از نظر دو پارامتر مهم فرآیند یعنی شدت میدان الکتریکی و تعداد پالس ها مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج متفاوتی از نظر کاهش لگاریتمی بار میکروبی به دست آمده است. این مقدار کاهش از ۱/۹ در مورد لیستریا اینوکوا تا ۹ سیکل لگاریتمی در مورد اشرشیا کلی با تغییر شرایط تیمار متغیر می باشد. البته در مورد دو باکتری کرینه باکتریوم و گزانتوموناس مالتوفیلیا در شرایط نامعین تیمار نیز عدم کاهش بار میکروبی اولیه گزارش شده است. /۱،۳/

تاثیر PEF بر ریزمغذی ها و کیفیت تغذیه ای شیر

مطالعه خصوصیات کلی شیمیایی و فیزیکی شیر حاوی ۲ درصد چربی بعد از تیمار PEF نشان داد هیچ تغییری در ویژگی های مذکور بعد از فرآیند رخ نداده است. در سال ۱۹۹۵ نیز خصوصیات ارگانولپتیک شیر اسکیم پاستوریزه شده به روش حرارتی و روش PEF توسط یک گروه ارزیابی حسی مقایسه شد و هیچ تفاوت آشکاری به دست نیامد. همچنین مطالعه تاثیر PEF بر ویتامین های شیر نشان داد که این فرآیند بر ویتامین های محلول در چربی شیر و نیز تیامین و ریبوفلاوین بی تاثیر بوده. تنها اسید آسکوربیک در شرایط مختلف تیمار تا ۹۱ درصد نیز دچار کاهش می شود. /۱،۳/

عوامل مؤثر بر سرعت و وسعت غیرفعال سازی باکتری ها توسط PEF

تاکنون یک مدل عمومی پذیرفته شده مربوط به اثر پارامترهای بحرانی فرآیند PEF به دست نیامده است زیرا برخلاف فرآیندهای تیمار حرارتی و استفاده از فشارهای بالا که ایزوترمال و ایزوباریک هستند در اینجا فاکتورهای متعددی وجود دارند که هر کدام بر دیگری تاثیر می گذارند. به طور کلی عوامل مؤثر بر وسعت غیرفعال سازی میکروارگانیسم ها شامل موارد زیر است؛

- شرایط و خصوصیات تیمار

مهمترین و اساسی ترین پارامترهای تیمار که بر میزان کاهش بار میکروبی مؤثرند شدت میدان الکتریکی (kv/cm) و مدت زمان کل تیمار می باشد. از دیگر عوامل مؤثر می توان به تعداد پالس، شکل پالس، نوع سیستم از نظر پیوسته و ناپیوسته بودن، دمای تیمار و سرعت هم زدن نمونه اشاره کرد. با افزایش شدت

میدان الکتریکی و مدت زمان کل تیمار میزان غیرفعال سازی افزایش می یابد. همچنین در شدت میدان و مدت زمان ثابت، پالس های طولانی تر ($3-4 \mu s$) در مقایسه با پالس های کوتاه تر ($2 \mu s$) مؤثرند و نیز با افزایش تعداد پالس ها میزان غیرفعال سازی افزایش می یابد. البته برای شروع غیرفعال سازی باید یک حداقل شدت میدان الکتریکی اعمال شود که به آن شدت میدان بحرانی می گویند. این ولتاژ بحرانی بسته به نوع میکروارگانیسم

20-15 kv/cm می باشد. در صورتی که شدت میدان کمتر از این مقدار باشد با تغییر سایر شرایط نیز، غیرفعال سازی مشاهده نخواهد شد و در غشاء منافذ غیر قابل برگشت از نظر قطر که منجر به مرگ باکتری شود ایجاد نخواهد شد. همزدن نمونه و ایجاد اغتشاش با حذف فضاهای مرده غیر قابل دسترس، سبب افزایش سرعت غیرفعال سازی می شود. نتایج نشان می دهد که در نمونه های مایع بدون اغتشاش دستی، یک جابجایی طبیعی محدود در اثر خود پالس های الکتریکی رخ می دهد. در صورتی که هیچ جابجایی ایجاد نمی شد، ۱۰-۱۵ درصد حجم نمونه تحت تاثیر تیمار قرار نمی گرفت و در این شرایط تنها یک سیکل لگاریتمی غیر فعال سازی میکروبی قابل حصول بود. بنابراین استفاده از PEF در مواد غذایی مایع با ویسکوزیته پایین و دارای هدایت الکتریکی مانند آب میوه ها منجر به نتایج موفقیت آمیزی شده است. استفاده از PEF به صورت سیستم پیوسته در مقایسه با ناپیوسته مؤثرتر بوده و با افزایش دما حساسیت باکتری ها و در نتیجه کارایی فرآیند افزایش می یابد. به منظور اجتناب از تاثیر حرارت، دما در طی تیمار دقیقاً کنترل شده و زیر ۴۱ درجه نگهداری می شود. /۱/

- خصوصیات محیط تیمار

ترکیبات تشکیل دهنده محیط حاوی میکروارگانیسم ها، pH، قدرت یونی و هدایت الکتریکی آن بر وسعت غیرفعال سازی میکروب ها مؤثرند. حضور یون ها در ماده غذایی سبب می شود که با اعمال PEF جریانی در ماده غذایی ایجاد شود که منجر به شکست غشاء سلول می شود. در حقیقت PEF در محیط های با هدایت الکتریکی پایین تر در مقایسه با غذاهای مایع معمولی از لحاظ انرژی کارآمدتر و مؤثرتر است. زیرا هرچه هدایت الکتریکی محیط پایین تر باشد، در شدت میدان ثابت، تفاوت هدایت الکتریکی سیتوپلاسم باکتری و محیط بیشتر بوده در نتیجه استرس بیشتری بر غشاء سلول وارد می شود و غیرفعال سازی افزایش می یابد. تاثیر ترکیبات تشکیل دهنده ماده غذایی بر میزان غیرفعال سازی میکروبی به خوبی شناخته نشده است. در حالیکه برخی تحقیقات حاکی از اثر حفاظتی پروتئین ها، چربی ها و صمغ گزانتان دارند سایر مطالعات این مسأله

را نقض کرده اند. وجود ذرات بزرگ غیر هادی مانند حباب های هوا، کارایی PEF را به صورت قابل توجه کاهش می دهد. همچنین کاهش pH، حساسیت باکتری ها را در مقابل تیمار افزایش می دهد. /۱/

- خصوصیات میکروارگانیسم ها

باکتری های گرم مثبت در مقایسه با باکتری های گرم منفی نسبت به PEF مقاومترند. همچنین حساسیت باکتری ها در فاز سکون آنها نسبت به فرآیند پالس الکتریکی کمتر می باشد. به طور کلی سلول ها در فاز رشد لگاریتمی و هنگامی که در دماهای پایین رشد کرده اند نسبت به PEF و سایر روش های غیرفعال سازی حساس تر می باشند. /۱/

تاثیر PEF بر میکروارگانیسم های اسپورزا

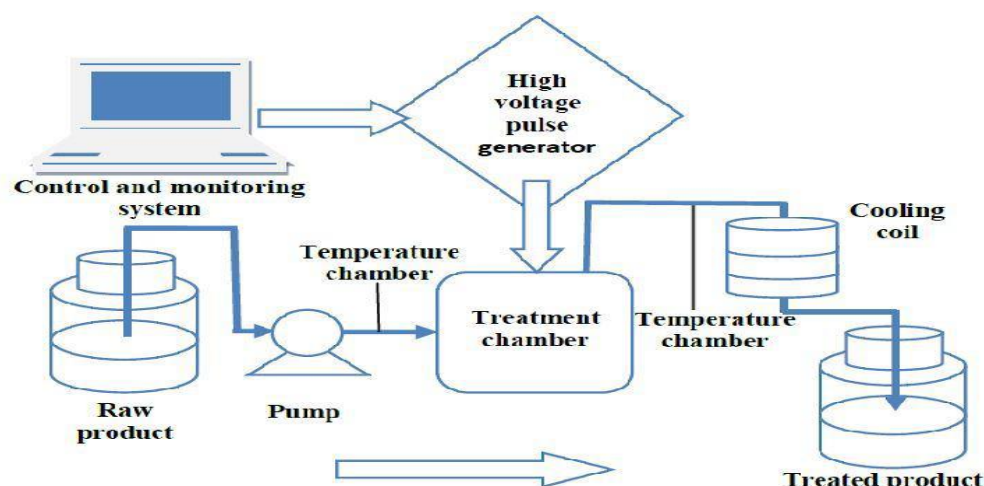
فرآیند PEF فاقد تاثیر کشنده بر اندوسپورها می باشد و اعمال شرایط مختلف تیمار PEF به تنهایی نمی تواند سبب غیرفعال شدن اسپورها شود تنها استفاده از PEF در ترکیب با فشارهای بالا (۱۵۰۰ atm) (به مدت ۳۱ دقیقه در دمای ۴۱ درجه) به علت جوانه زدن اسپورها در اثر اعمال فشار توانست شکل رویشی اسپورها را غیرفعال کند. /۱/

کاربردها

کاربردهای PEF در فراوری غذایی

تکنولوژی کاربرد میدان های الکتریکی پالسی در فراوری مواد غذایی، توجه زیادی را نه تنها به عنوان یک تکنولوژی نگهداری غیرحرارتی بلکه به دلیل کاربردهای مفید در صنایع غذایی به خود جلب نموده است. توجه مصرف کنندگان به مواد غذایی با درجه بالایی از تازگی و حفظ مواد مغذی به همراه ایجاد تکنولوژی دوستدار محیط زیست باعث شد، تکنولوژی هایی نظیر میدان های الکتریکی پالسی در راستای توسعه قرار گیرد. اثر جریان الکتریکی پالسی متغیر روی تراوایی غشاهای زیستی از آغاز قرن بیستم شناخته شده، اما در طی دهه 1990 تحقیقاتی در این زمینه شروع شده است. از کاربردهای این روش می توان به غیرفعال سازی آنزیم ها، پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون مواد غذایی مایع و نیمه مایع اشاره نمود. اخیراً، تیمارهای ملایمی روی پتانسیل این روش در استخراج یا خشک کردن با توجه به نفوذپذیری غشا انجام شده است. به علاوه، میدان های الکتریکی پالسی توانایی القای واکنش های استرسی در سیستم های گیاهی یا کشت های سلولی را دارند و بدین ترتیب می توانند تولید زیستی ترکیبات خاصی را افزایش دهند یا تحریک نمایند. با توجه به مزایای این روش، تحقیقات بسیاری در حال انجام است تا بتوان این روش غیرحرارتی را در مقیاس صنعتی مورد استفاده قرار داد. در طی سال های گذشته، مطالعات متعددی در زمینه توانایی تیمار با میدان های الکتریکی پالسی قوی انجام شده و اثرات این تیمارها از نظر

میزان امن بودن و ماندگاری محصولات تیمار شده مورد بررسی قرار گرفته است. پیشرفت تکنولوژی میدان الکتریکی پالسی با کاربرد فراوری مواد غذایی به صورت غیر حرارتی یکی از زمینه های مهم تحقیقاتی در دهه های اخیر به عنوان جایگزینی در مطالعه کاربرد بهینه انرژی در صنعت می باشد. تکنولوژی میدان های الکتریکی پالسی شامل اعمال پالس های الکتریکی کوتاه با قدرت بالا روی فراورده قابل پمپ بین (Toepfl and et. al., 2005). دو الکترود در اتاقک تیمار می باشد. سیستم های معمول شامل یک واحد ژنراتور (ژنراتور با ولتاژ بالا و ژنراتور پالسی)، اتاقک تیمار، سیستم مناسب نقل (Maged and et. al., 2012). و انتقال درون خط تولید و ابزاری جهت کنترل و آشکارسازی بخش های مختلف فرایند می باشد) شکل 1



شکل 1- شماتیک کاربرد میدان های الکتریکی پالسی برای مواد غذایی قابل پمپ

(Maged and et. al., 2012).

اثر جریان الکتریکی پالسی متغیر روی تراوایی غشاهای زیستی از آغاز قرن بیستم شناخته شده، اما در طی دهه 1990 تحقیقاتی در این زمینه شروع شده است. با این حال، اکثر تحقیقات در این زمینه تنها به کاربردهای پاستوریزاسیون روی مایعات با هدف به دست آوردن سطوح مناسب جمعیت میکروبی و میزان فعالیت آنزیم ها اختصاص یافته است. مطالعات تجربی بیانگر این است که تیمار میدان های الکتریکی پالسی راهی آسان برای اطمینان اخیراً، تیمارهای ملایمی (Toepfl and et. al., 2005). از فرایند پاستوریزاسیون بدون اثر قابل ملاحظه روی ترکیبات غذایی محصولات غذایی می باشد (2005) روی توانایی این روش در استخراج یا خشک کردن، با توجه به نفوذپذیری غشا انجام شده است. به علاوه،

میدان های الکتریکی پالسی توانایی القای واکنش های استرسی در سیستم های گیاهی یا کشت های سلولی را دارند و بدین ترتیب می توانند تولید زیستی ترکیبات خاصی را افزایش دهند (Fortuny, and et. al., 2009).

کاربرد PEF به عنوان یک ابزار فراوری غذا در حال جلب توجه فراوانی است، چرا که نماینده یک جایگزین غیرحرارتی برای روش های پاستوریزاسیون و استریل سازی سنتی است. انتظار می رود شیوه PEF، که شامل استفاده از افزودنی های نگهدارنده نمی شود، برای مصرف کنندگانی که در مورد استفاده از مواد شیمیایی در غذا حساسند امری مطلوب تلقی شود. علاوه بر این، فراوری PEF که فرایندی غیرحرارتی است، همچنین هیچ تاثیر مضری بر روی اجزای حساس به دمای درون غذا مانند ویتامین ها ندارد. یکی از معایب اصلی عملیات PEF نیاز به سرمایه گذاری اولیه بالاست. یک پالسر اندازه کارگاهی ممکن است قیمتی حدود ۲۵۰ هزار دلار داشته باشد. سایر واحدها برای کاربرد صنعتی در دامنه های قیمتی بین ۴۵۰ هزار تا دو میلیون دلار در دسترس هستند. /۵/

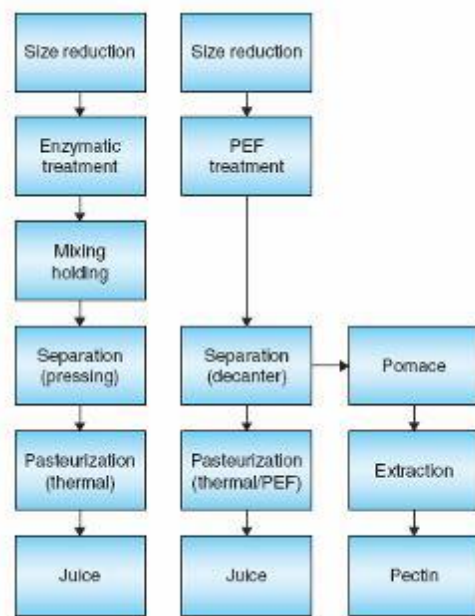
القای استرس

مطالعات نشان داده است که در میدان الکتریکی ضعیف و یا تعداد کم پالس (تیمار با شدت کم)، فعالیت متابولیکی تحریک می شود و قابلیت استخراج ترکیبات داخل سلولی بهبود می یابد. تیمار میدان الکتریکی پالسی در دماهای پایین به آنزیم ها یا پروتئین ها آسیبی وارد نمی کند و استخراج مواد باارزش فراهم می شود. برای مثال، تیمار ملایم جوانه ذرت، بازده تولید روغن و فیتوسترول را افزایش می دهد و روغنی با غلظت بالای فیتوسترول تولید می کند. در مطالعه دیگری، بازده تولید روغن و ایزوفلاونوئید در لوبیای سویا و زیتون افزایش یافت. پس، این تیمار توانایی بالایی را در فعال نمودن (Toepfl and et. al., 2005) به عنوان یک بیوراکتور دارد و مواد غذایی با کیفیت و غلظت بالایی از اجزای عملگر تولید می کند.

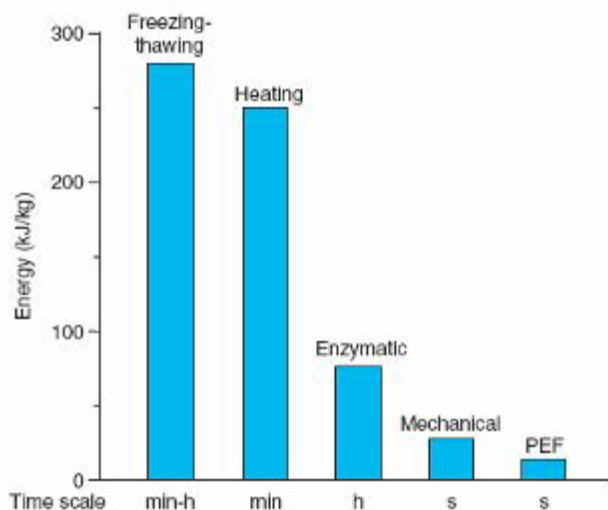
جداسازی ترکیبات زیستی

بسیاری از فرایندهای زیست مهندسی مواد غذایی شامل استخراج، فشردن یا خشک کردن و در برگیرنده تیمارهای آنزیمی یا حرارتی یا خرد کردن برای به هم ریختن ساختارهای سلولی می باشند. این تکنیک ها به انرژی بالایی مکانیکی یا حرارتی به همراه زمانی برای خیساندن و نگهداری درون مخازن فراوری نیاز دارند؛ بدین ترتیب از بین رفتن ترکیبات مغذی و کم شدن فعالیت آنزیم ها و تجزیه حرارتی مواد مغذی و فیزیولوژی معمول می باشد. با استفاده از تکنیک میدان الکتریکی پالسی، ضریب انتقال جرم از بافت های

سلولی افزایش پیدا می کند. در فراوري آب میوه با استفاده از این روش، آب میوه با بازده بالا و حفظ تازگی و غلظت هاي بالاتري از اجزاي عملگر تولید می شود. مراحل فرایند تولید آب میوه به صورت معمول و استفاده از تیمار میدان هاي الکتریکی پالسی به صورت مقایسه اي در شکل 4 نشان داده شده است. انرژی و زمان لازم براي خرد کردن بافت سیب زمینی در روش تیمار مداوم با میدان هاي الکتریکی پالسی در مقایسه با تیمار حرارتی و آنزیمی کاهش داشت که نشان دهنده توانایی این روش در جایگزینی یا ارتقای (Toepfl and et. al., 2005). تکنیک هاي فراوري مرسوم می باشد) شکل 5



شکل 4- دیاگرام تولید آب میوه به صورت سنتی و با استفاده از تیمار با میدان هاي الکتریکی پالسی



شکل 5- میزان انرژی مورد نیاز برای تیمارهای مختلف برگه های سیب زمینی (Toepfl and et. al., 2005).

غیرفعال سازی میکروارگانیسم ها

آب سیب خام و عصاره ای، آب هلو، شیر بدون چربی، تخم مرغ هم زده، و سوپ نخود در معرض PEF بین ۲۵ تا ۴۵ kV/cm مورد فراوری با محفظه طراحی شده در دانشگاه دولتی واشنگتن قرار گرفتند. *E. coli* به شیر بدون چربی اضافه شده و در معرض ۶۰ پالس با عرض ۲ μ s در ۴۵ و ۳۵ kV/cm درجه سانتیگراد قرار گرفت و 2D کاهش یافت. یک کاهش ۶D در مایع تخم مرغ آغشته شده به *E. coli* و فراوری شده با یک میدان الکتریکی ۲۵/۸ kV/cm و ۱۰۰ پالس ۴ μ s در ۳۷ درجه سانتیگراد مشاهده شد. *E. coli* و *B. subtilis* به سوپ نخود اضافه شده و در معرض PEF های ۲۵ تا ۳۳ kV/cm قرار گرفتند، در حالیکه وقتی دمای فراوری سوپ نخود کمتر از ۵۳ درجه بود فعالیت محدود وجود داشت، در عین حال عدم فعالیت میکروبی در دمای فراوری بین ۵۳ تا ۵۵ درجه معادل ۴/۴ D بود. ۵/۵/

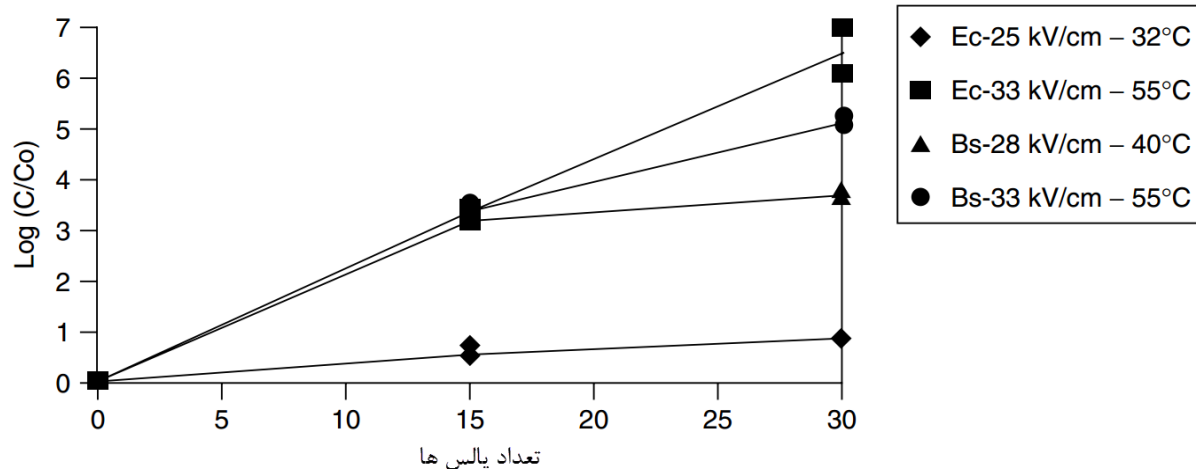
سوپ نخود

۳۰ kV/cm		۲۸ kV/cm		تعداد پالس ها	فرکانس نرخ جریان
کاهش Log (D)	دمای فراوری	کاهش Log (D)	دمای فراوری		
۲/۳	۵۵	۰/۷	۴۳	۱۵	0.5 L/min
۴/۰	۵۵	۱/۶	۳۹	۳۰	4.3 Hz
۴/۴	۵۳	۰/۷	۴۱	۱۵	0.7 L/min
۴/۸	۵۵	۰/۷	۴۱	۳۰	6.7 Hz
۱/۱	۴۱	۰/۸	۳۲	۱۰	0.75 L/min
۱/۰	۴۲	۱/۰	۳۱	۲۰	4.3 Hz

جدول ۳: عدم فعالیت ترکیب *E. coli* و *B. subtilis* ترکیب شده با سوپ نخود با استفاده از PEF

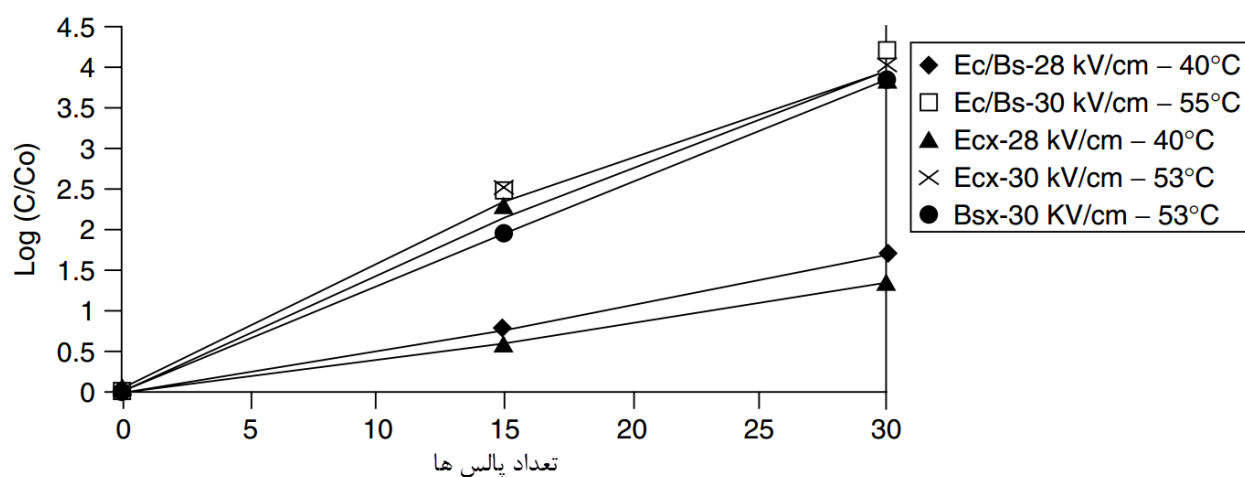
غیرفعالسازی PEF بر روی *E. coli* و *B. subtilis* ترکیب شده با سوپ نخود به شدت میدان الکتریکی، تعداد پالس ها، نرخ پالس دهی، و نرخ جریان بستگی دارد (جدول ۳). حداکثر دمای توده ای سوپ دست یافته شده در طول فراوری PEF برابر با ۵۵ درجه سانتیگراد بوده و تابعی است از هر دوی نرخ جریان و نرخ پالس دهی. فراوری های PEF با یک دمای توده ای پایین تر از ۵۳ درجه منجر به غیرفعالسازی میکروبی محدود می شوند. وابستگی غیرفعالسازی میکروبی به دمای فرایند را می توان با تغییرات در حساسیت میکروارگانیسم ها به PEF هنگامی که دما از ۵۳ درجه بیشتر می شود توضیح داد. از غیرفعالسازی دمایی میکروارگانیسم ها با خنک سازی سوپ نخود تا دمای ۲۰ درجه اجتناب شد. غیرفعالسازی دمایی *E. coli* در آبگوشت نیازمند زمانی تا ۱۰ دقیقه در دمای ۶۱ درجه می باشد. فعالسازی PEF مربوط به *E. coli* و *B. subtilis* وقتی میکروارگانیسم ها با یکدیگر در سوپ نخود ترکیب شده بودند تقریباً به مقدار ۲D کاهش یافت. تصاویر ۲۱ تا ۲۳ غیرفعالسازی *E. coli*، *B. subtilis* و ترکیب ارگانیسم های حل شده در سوپ نخود در شرایط فراوری مختلف را به صورت خلاصه نشان می دهند. یک تفاوت معنادار ($p < 0.05$) در سطوح عدم فعالیت *E. coli* به تنهایی و *E. coli* ترکیب شده با *B. subtilis* وجود دارد. عدم فعالیت PEF برای *E. coli* به تنهایی به ۶/۵ D پس از ۳۰ پالس در ۳۰ kV/cm و نرخ جریان ۰/۵ L/mm رسید، در حالیکه یک عدم فعالیت ۰/۴D هنگامی که *E. coli* با *B. subtilis* ترکیب شده بود مشاهده گردید. *B. subtilis* به تنهایی هنگامی که در معرض ۳۳ kV/cm در ۴/۳ Hz و ۰/۵ L/mm قرار گرفت دارای ۰/۵D بود، در حالیکه وقتی با *E. coli* ترکیب شد و در معرض ۲۰ پالس در ۳۰ kV/cm قرار گرفت فقط ۰/۲D مشاهده گردید. نتایج برای غیرفعالسازی *E. coli* و *B. subtilis* با استفاده از PEF امکان پذیری فن آوری نگهداری از غذاهای حاوی ذرات معلق و نشاسته های ژلاتینه را اثبات می سازند.

/۵/



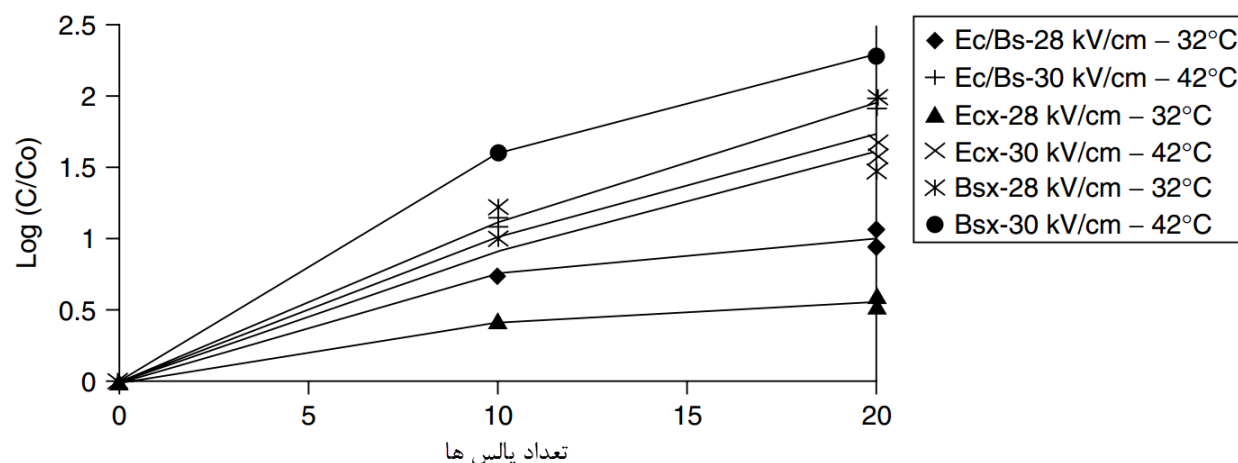
تصویر ۲۱: غیرفعالسازی میکروارگانیزم های معلق در سوپ نخود با استفاده از PEF در 0.5 L/min و

4.3 Hz



تصویر ۲۲: غیرفعالسازی ترکیبی از میکروارگانیزم های معلق در سوپ نخود با استفاده از PEF در

0.5 L/min و 4.3 Hz



تصویر ۲۳: غیرفعالسازی ترکیبی از میکروارگانیسم های معلق در سوپ نخود با استفاده از PEF در ۰/۷۵ L/min و 4.3 Hz

تخم مرغ مایع

PEF با شدت بالا (۲۶ kV/cm) فراوری شده در سیستم های جریان ممتد منجر به عدم فعالیت E.coli موجود در تخم مرغ مایع به میزان ۶D با یک حداکثر دمای فراوری ۳۷/۲ درجه سانتیگراد می شود (جدول ۴ و تصاویر ۲۴، ۲۵). فراوری های PEF با پالس های ۴ μs اثربخشی بیشتری به نسبت پالس های ۲ μs دارند (تصاویر ۲۶ و ۲۷)، که می توان این امر را با مقدار انرژی اعمال شده به تخم مرغ مایع توضیح داد. تصویر ۲۸ تاثیر ورودی انرژی در غیرفعالسازی E. coli را به تصویر می کشد، در حالیکه ورودی انرژی را می توان به صورت زیر محاسبه کرد:

$$\frac{\text{انرژی}}{\text{پالس}} = 0.5 CV^2$$

که در آن C ظرفیت، ۰/۵ μF برای پالس های ۲ μs و ۰/۱ μF برای پالس های ۴ μs، و ۷ پتانسیل اندازه گیری شده در کل محفظه فراوری (۱۵/۶ kV) می باشد. /۵/

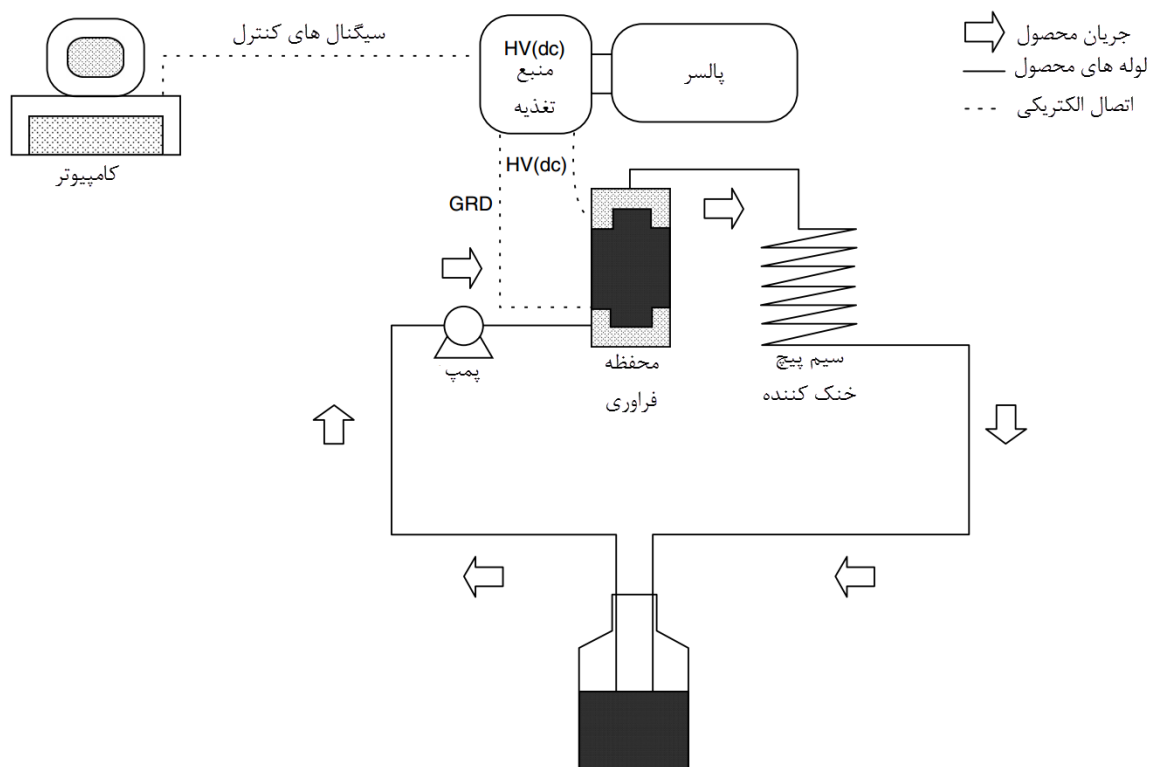
مجموع ورودی انرژی پس از n پالس بدین صورت محاسبه می شود:

$$\text{پالس/انرژی} \times n = \text{کل انرژی}$$

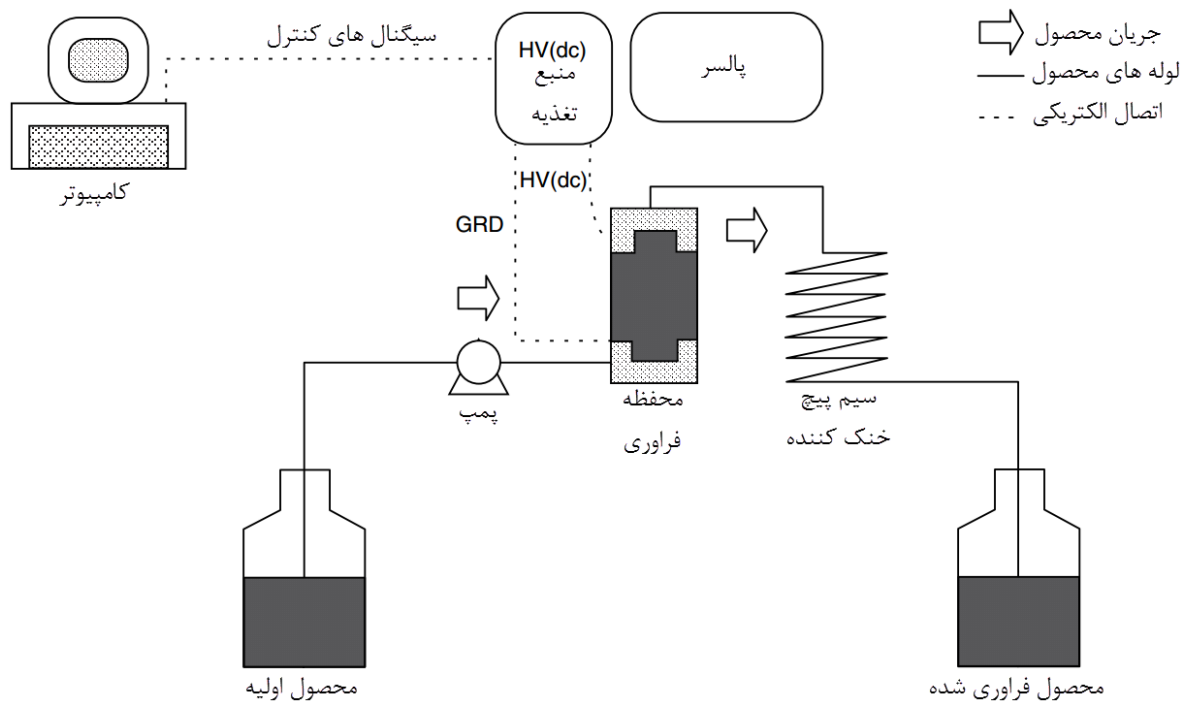
کسر زنده مانی E. coli در تخم مرغ مایع با J ۱۲۰۰۰ اعمال شده در پالس های $4\mu s$ حدود ۶D کاهش می یابد (تصویر ۲۷). /۵/

شرایط عملیاتی		توصیف
فراوری ۲	فراوری ۱	
۴	۲	مدت زمان پالس (μs)
۱	۰/۵	ظرفیت (μF)
۳۰	۴۰	ولتاژ ورودی (kV)
۰/۵	۰/۵	نرخ جریان ورودی (L/min)
۲/۵ ، ۱/۲۵	۲/۵ ، ۱/۲۵	نرخ پالس ورودی (Hz)
۱۵/۵	۱۵/۵	اوج ولتاژ (kV)
۸/۰	۸/۰	اوج جریان (kA)
۲۶	۲۶	شدت میدان الکتریکی (kV/cm)
۱۲۰	۶۰	پالس انرژی (J)
۳۷	۳۷	حداکثر دما (سانتیگراد)

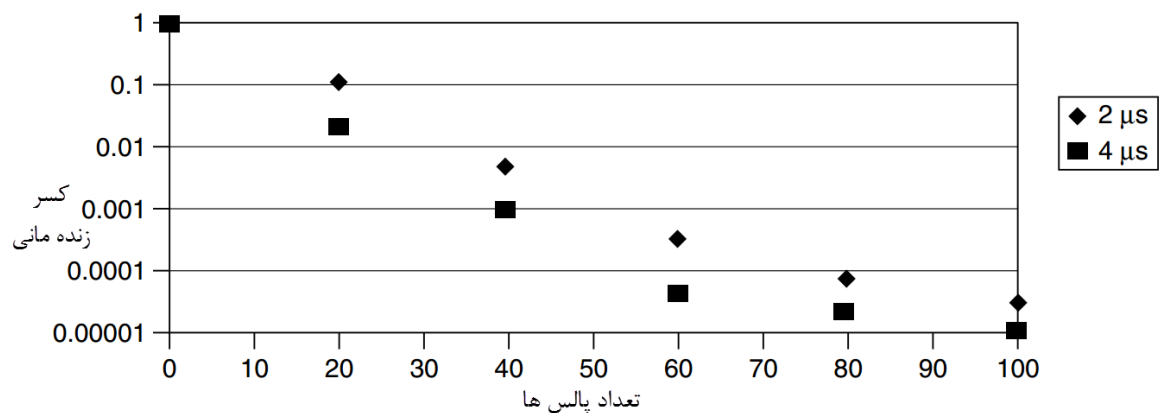
جدول ۴: شرایط فراوری برای تخم مرغ مایع در معرض PEF قرار گرفته



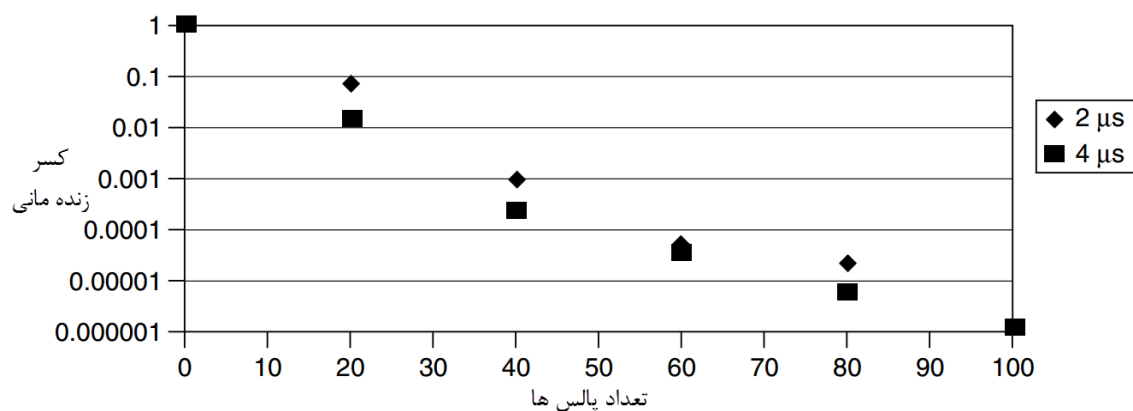
تصویر ۲۴: عملیات PEF با جریان ممتد



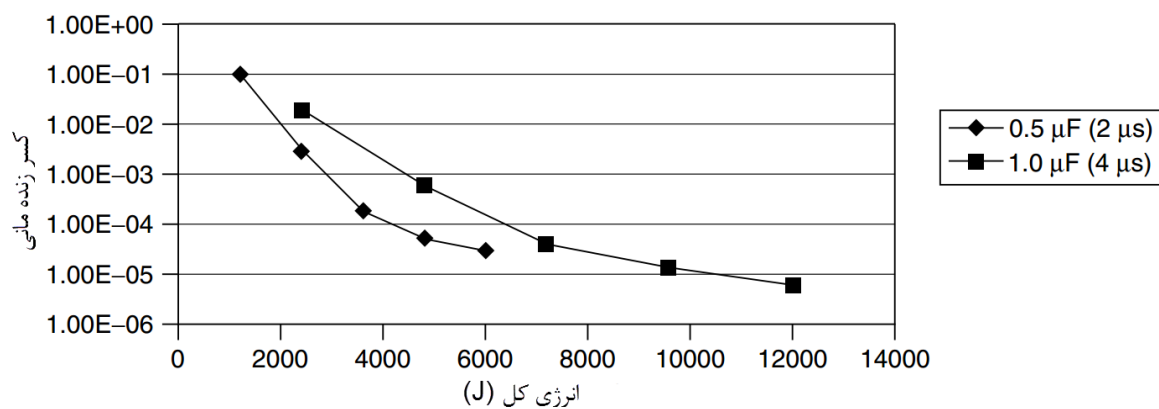
تصویر ۲۵: عملیات PEF تک مرحله ای



تصویر ۲۶: *E. coli* در تخم مرغ مایع پس از فراوری PEF در 26 kV/cm و 37°C درجه سانتیگراد در یک سیستم گردش ممتد.



تصویر ۲۷: *E. coli* در تخم مرغ مایع پس از فراوری PEF در 26 kV/cm و 37°C درجه سانتیگراد در یک سیستم گام به گام



تصویر ۲۸: *E. coli* در تخم مرغ مایع پس از فراوری PEF در 26 و 37 درجه سانتیگراد به عنوان تابعی از انرژی ورودی

پروتئین ها، یک ماده مغذی مهم برای رشد میکروبی، اثربخشی فراوری PEF را تقلیل می دهند. غیرفعالسازی میکروارگانیسم ها با استفاده از PEF در مواد غذایی که در محلول های بافر قرار گرفته اند دشوارتر است. به طور کل، تاثیر باکتری کشی PEF دارای تناسبی معکوس با قدرت یونی بوده و با مقاومت الکتریکی افزایش می یابد. مقاومت الکتریکی تخم مرغ مایع ($1/9 \Omega$) در مقایسه با سایر غذاها پایین بوده و ملزم به این است که تخم مرغ مایع در معرض تعداد زیادی (100) پالس قرار گیرد. $5/$

هیچ تفاوت معنی داری ($p > 0.05$) بین اثربخشی فراوری PEF وقتی که نرخ پالس از $1/25$ Hz تا $2/5$ متغیر بود مشاهده نشد، چرا که غیر فعال بودن *E.coli* در تخم مرغ مایع در صورتی که تعداد پالس ها و عرض پالس ثابت باقی می ماندند حداقل $4D$ بود. همچنین هیچ تفاوت معنی داری ($p > 0.05$) بین عدم فعالیت *E.coli* با استفاده از چرخش های ممتد یا فراوری های گام به گام هم مشاهده نشد. $5/$

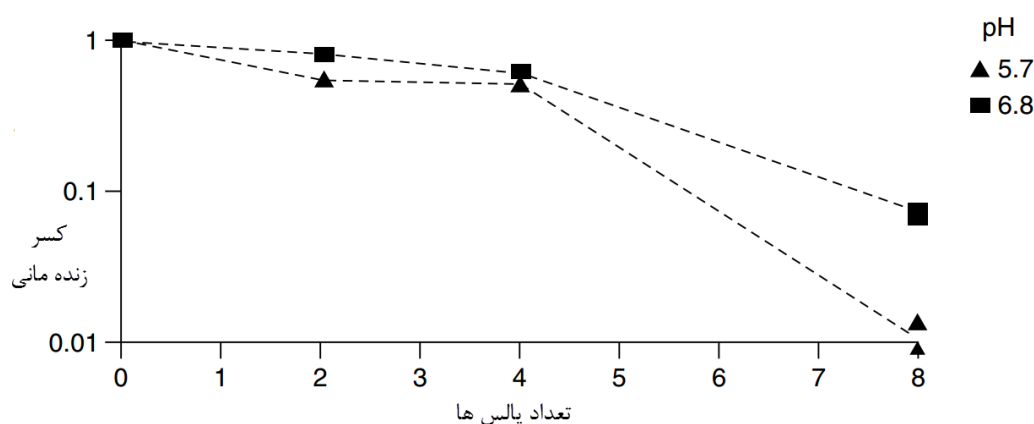
آب سیب

همان طور که جدول ۵ به صورت خلاصه ارائه شده، آب سیب تجاری فراپالایش شده و در معرض فراوری های PEF مختلف قرار گرفته هیچ تغییری در pH، اسیدیته، ویتامین C، گلوکوز، فروکتوز و ساکروز از خود نشان نداد. غیرفعالسازی *S. cerevisiae* معلق در آب سیب تحت تاثیر شدت میدان الکتریکی، زمان فراوری و تعداد پالس ها قرار دارد. تصویر ۲۹ شمارش میکروبی *S. cerevisiae* را به عنوان تابعی از اوج شدت میدان هنگامی که دو پالس مورد استفاده قرار گرفته اند و شدت های میدان انتخابی برابر با 13 ، 22 ، 35 و 50 بوده اند نشان می دهد. نرخ عدم فعالیت به همراه افزایش در شدت میدان افزایش می یابد. همان طور که در تصویر ۳۰ قابل رویت است، عدم فعالیت میکروبی تابعی از تعداد پالس هاست. یک عدم فعالیت $6D$ پس از 10 پالس 35 kV/cm در دمای 22 تا 34 درجه سانتیگراد گزارش شده است. همان طور که در تصویر ۳۱ مشخص است طول عمر آب سیب فراوری شده با PEF وقتی در دماهای 4 یا 25 درجه ذخیره می شود تا 3 هفته افزایش می یابد. $5/7$

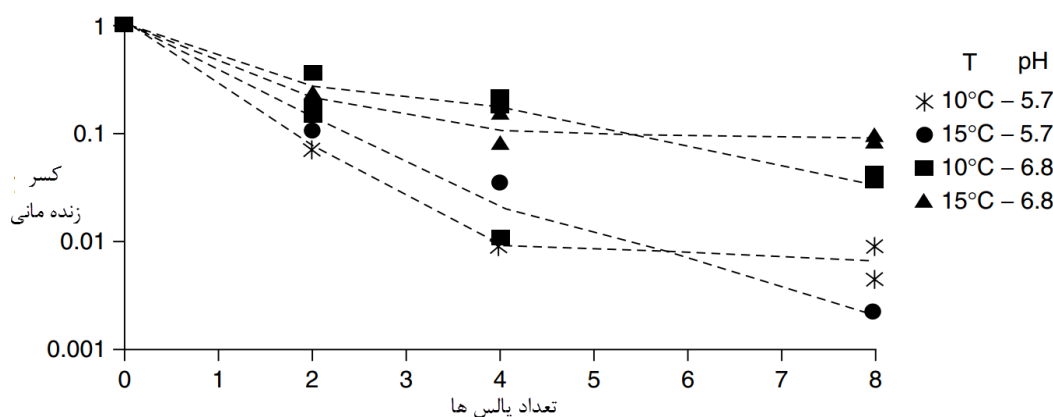
کاربرد PEF در انواعی از شیر

شیر فراپالایش شده شبیه سازی شده (SMUF)

عدم فعالیت *E. coli* به صورت تابعی از شدت میدان الکتریکی، تعداد پالس ها و pH متغیر بود. تراکم پایین میدان (۲۰ kV/cm) منجر به عدم فعالیت چشمگیر میکروارگانیسم های مستقل از دما و pH می شود. در عین حال، عدم فعالیت *E. coli* به همراه افزایش در تعداد پالس ها و افزایش در میدان الکتریکی از ۴۰ kV/cm به ۵۵، افزایش می یابد. این عدم فعالیت در pH ۵/۶۹ چشمگیرتر از pH ۶/۸۲ بود (تصاویر ۱۲ و ۱۳). تاثیر دمایی (۱۰ یا ۱۵ درجه) بر روی عدم فعالیت برای این آزمایشات از لحاظ آماری معنا دار نبود ($p>0.05$). جدول ۱ نتایج عدم فعالیت پس از هشت پالس برای هر کدام از شرایط آزمایش را خلاصه کرده است. /۵/



تصویر ۱۲: عدم فعالیت *E. coli* ترکیب شده با SMUF، با استفاده از ۴۰ kV/cm در ۱۰ درجه سانتیگراد، دو نمونه به ازای هر شرط آزمایشی.



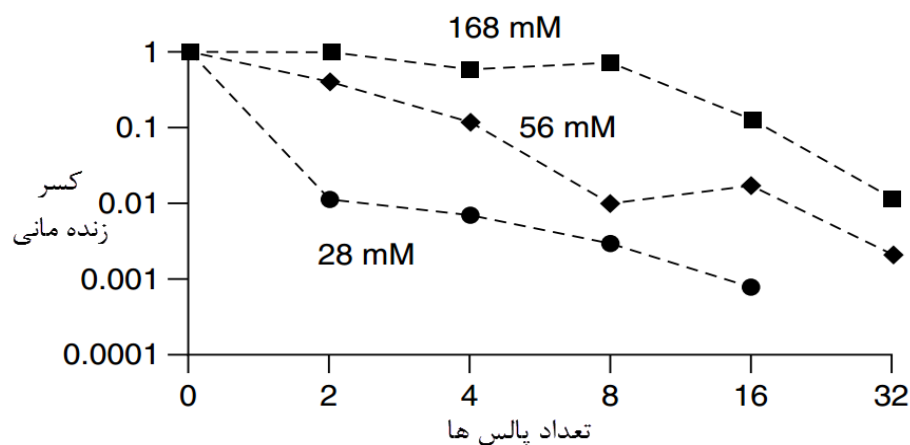
تصویر ۱۳: عدم فعالیت *E. coli* ترکیب شده با SMUF، با استفاده از ۵۵ kV/cm دو نمونه به ازای هر شرط آزمایشی.

تعداد کاهش چرخه Log		pH	توصیف
15°C	10°C		
0.20 ^a	0.00 ^a	۵/۷	۲۰ kV/cm
0.06 ^a	0.00 ^a	۶/۸	
1.85 ^b	1.95 ^b	۵/۷	
1.00 ^c	1.16 ^c	۶/۸	
2.56 ^d	2.22 ^d	۵/۷	
1.10 ^c	1.45 ^e	۶/۸	

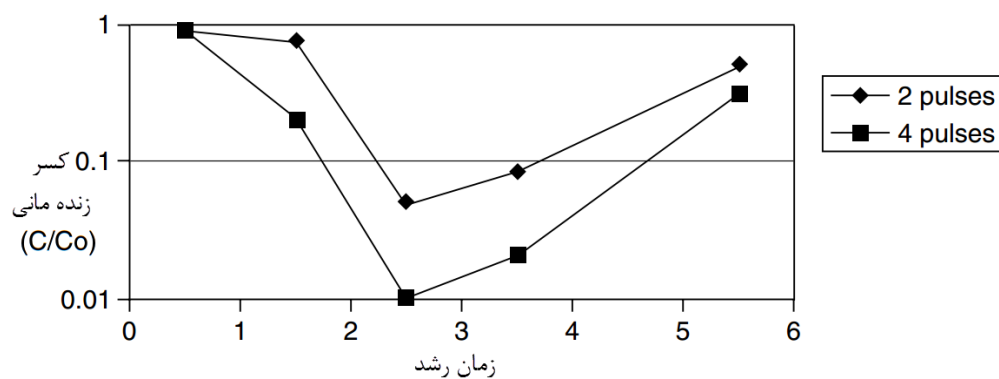
جدول ۲: تاثیر پارامترهای فراوری بر روی عدم فعاليت E. coli تركيب شده با SMUF پس از هشت پالس

نقش pH در بقای میکروارگانیسم ها با قابلیت ارگانیسم ها در حفظ pH سیتوپلاسم نزدیک به حد خنثی در ارتباط است. نفوذناپذیری غشا به علت تشکیل منافذ در دیواره سلولی در طول فراوری PEF افزایش می یابد و نرخ انتقال یون های هیدروژن هم ممکن است به علت عدم تعادل تراوشی در اطراف سلول افزایش یابد. بدین ترتیب، کاهش در pH سیتوپلاسم ممکن است مشاهده شود، چرا که تعداد بالاتری از یون های هیدروژن به نسبت pH خنثی در دسترس هستند. تغییر در pH درون سلول می تواند منجر به تغییرات شیمیایی در ترکیباتی بنیادی مانند DNA یا ATP شود. همچنین اکسیداسیون و واکنش های کاهشی هم ممکن است درون ساختار سلول به علت فراوری PEF رخ دهند. قدرت یونی محلول هم نقشی مهم در عدم فعاليت E. coli بازی می کند. یک افزایش در قدرت یونی منجر به افزایش جنبش الکترون ها در میان محلول شده، این امر باعث کاهش در نرخ عدم فعاليت می گردد. کاهش نرخ عدم فعاليت در محلول های دارای قدرت یونی بالا را می توان با پایداری غشای سلول وقتی در معرض محیطی با یون های متعدد قرار می گیرد توضیح داد. تاثیر قدرت یونی را می توان در تصویر ۱۴ مشاهده کرد، که در آن تفاوت log ۲/۵ چرخه بین محلول های M ۰/۱۶۸ و ۰/۰۲۸ به دست آمد. مرحله رشد E. coli بر روی کارایی فراوری های PEF تاثیر می گذارد. سلول های در مرحله لگاریتمی بیشترین حساسیت را به فراوری های میدان الکتریکی در مقایسه با سلول های مراحل ایستایی یا تاخیر زمانی داشتند (تصویر ۱۵). تصاویر ۱۶ و ۱۷ نشانگر تاثیر دما بر روی کاهش چرخه log مربوط به E. coli با استفاده از پالس های کم شونده بیرونی و پالس های موج مربعی در ۳۵ kV/cm می باشند. نرخ عدم فعاليت به همراه افزایش در دما بیشتر می شود. نرخ عدم فعاليت وقتی پالس های موج مربعی مورد استفاده قرار می گیرند در مقایسه با پالس های کاهشی

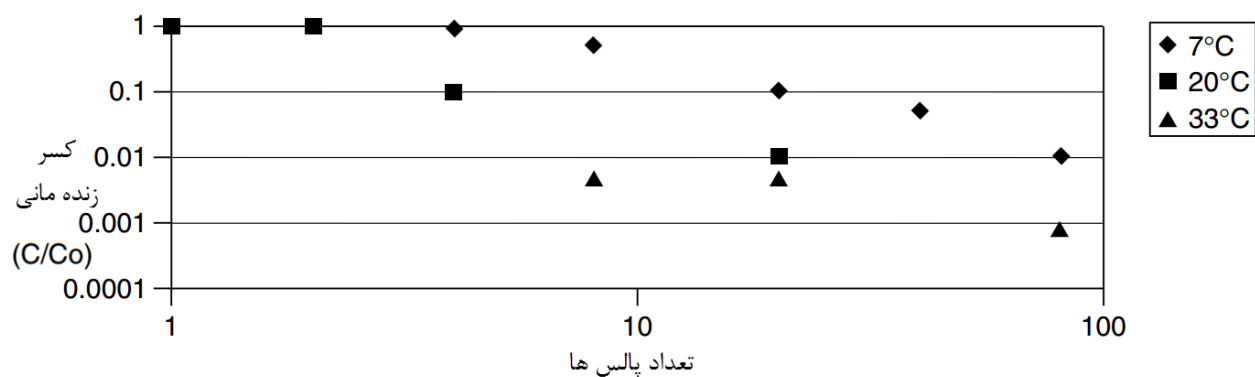
بیرونی بیشتر می شود. تصاویر ۱۸ تا ۲۰ نتایج گزارش شده برای *S. aureus*، *L. delbrueckii* و *B. subtilis* معلق در SMUF را نشان می دهند. /۵/



تصویر ۱۴: تأثیر قدرت یونی بر روی عدم فعالیت *E. coli* ترکیب شده با SMUF، در 40 kV/cm در 10°C سانتریگراد، دو نمونه به ازای هر شرط آزمایشی.

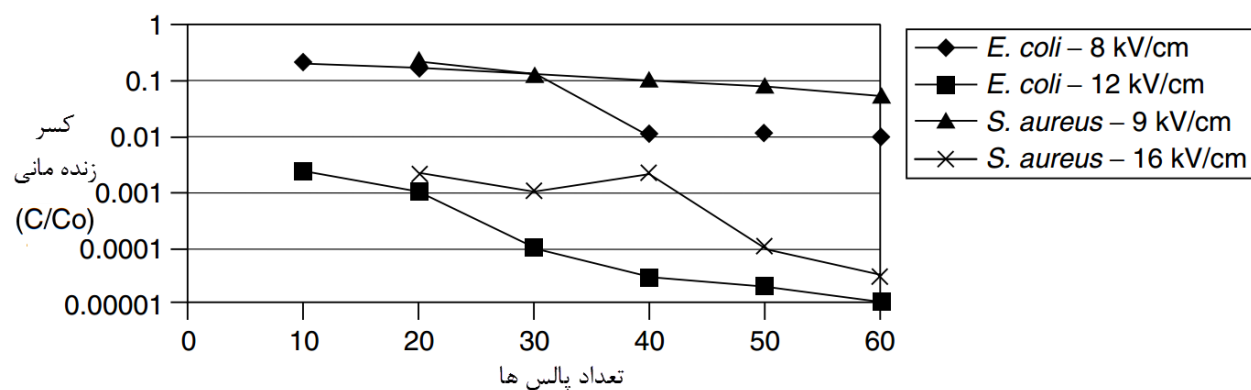


تصویر ۱۵: تأثیر مرحله رشد بر روی عدم فعالیت PEF مربوط به *E. coli* ترکیب شده با SMUF

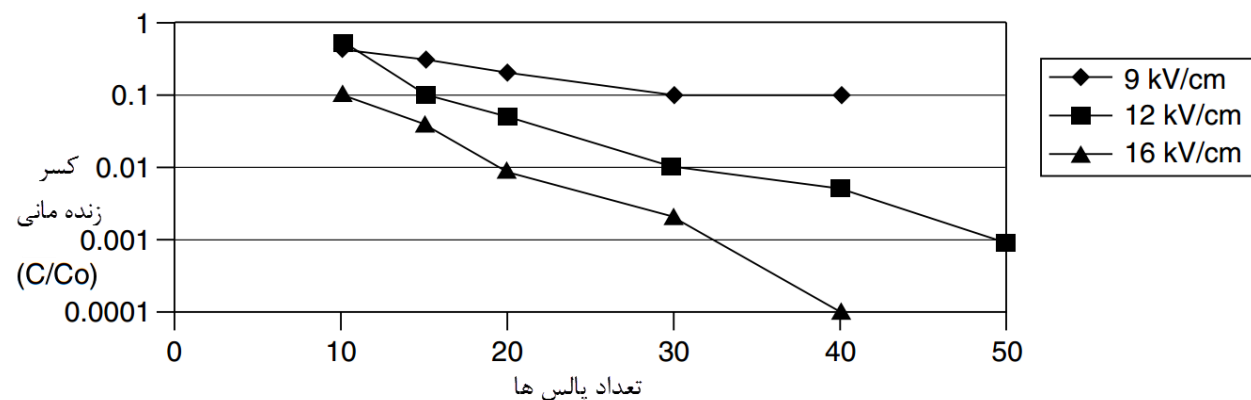


تصویر ۱۶: تاثیر دما بر روی عدم فعالیت PEF گونه *E. coli* ترکیب شده با SMUF، با استفاده از پالس های کاهشی

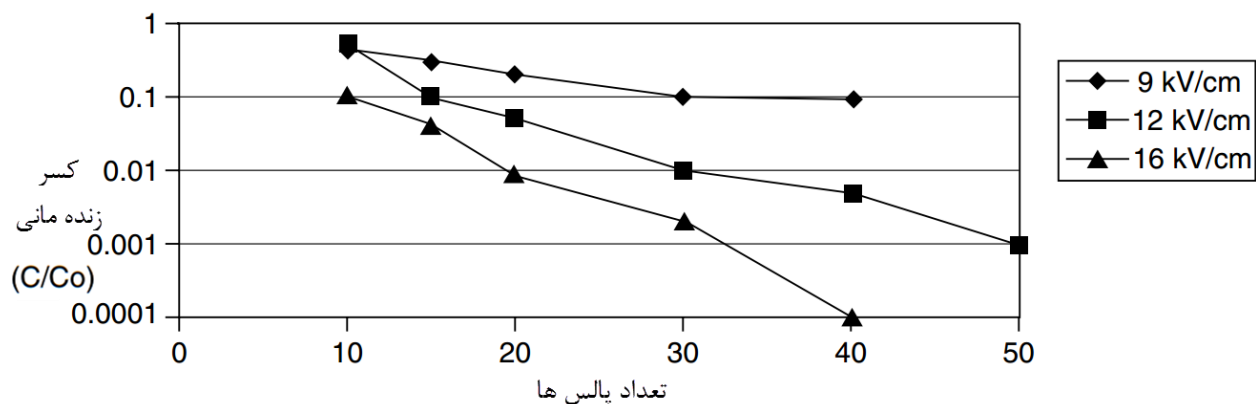
بیرونی



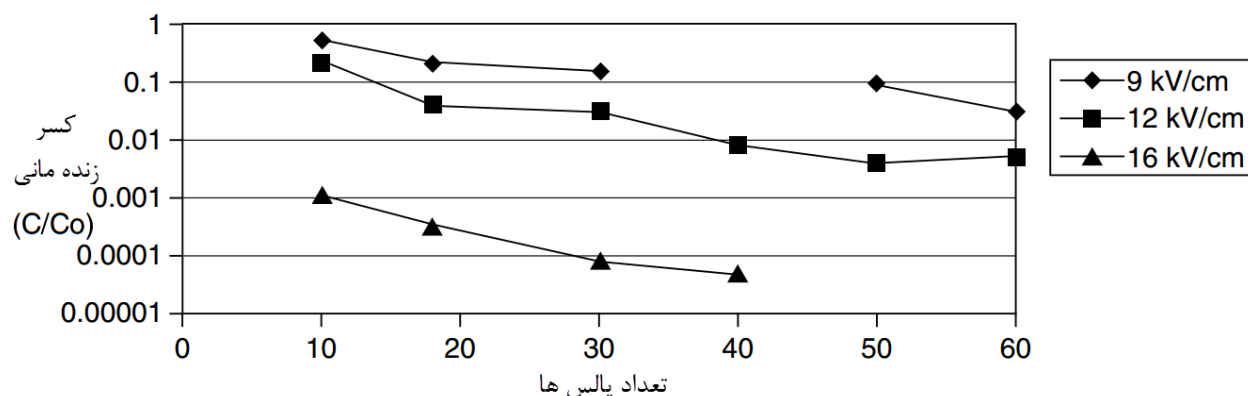
تصویر ۱۷: تاثیر دما بر روی عدم فعالیت PEF گونه *E. coli* ترکیب شده با SMUF، با استفاده از پالس های موج مربعی



تصویر ۱۸: عدم فعالیت *E. coli* و *S. aureus* در SMUF توسط REF. مدار ساده سازی شده برای تولید پالس کاهشی بیرون و ولتاژ پالس کاهشی بیرونی.



تصویر ۱۹: عدم فعالیت *L. delbrueckii* در SMUF



تصویر ۲۰: عدم فعالیت *B. subtilis* در SMUF

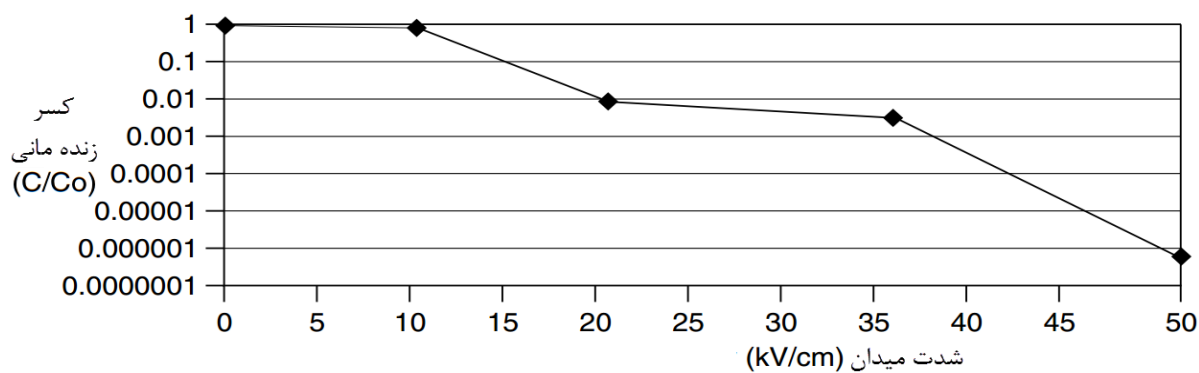
شیر بدون چربی

فراوری در یک سیستم محفظه ای ایستا

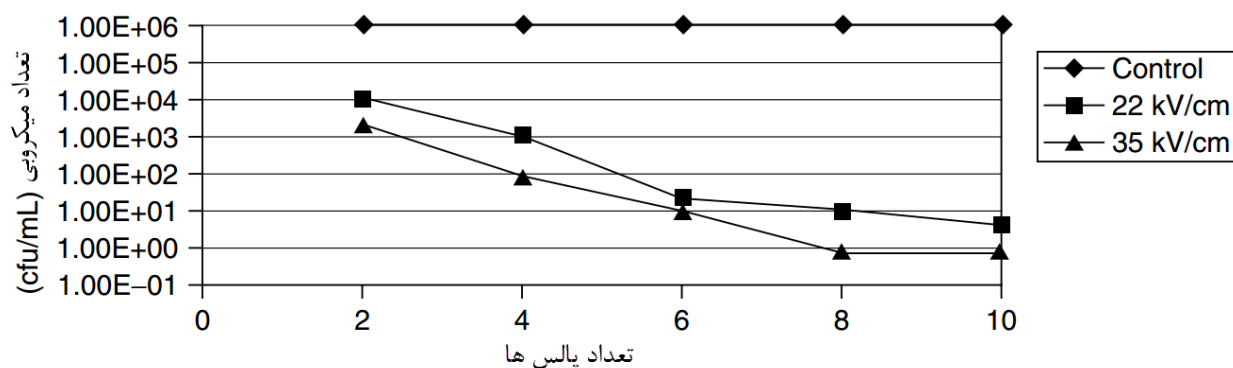
فراوری PEF موجب عدم فعالیت *E. coli* در شیر بدون چربی در دمای ۱۵ درجه سانتیگراد می شود. پارامترهای اصلی تاثیر گذار بر روی عدم فعالیت میکروبی شامل شدت میدان الکتریکی اعمال شده و زمان فراوری می شوند، که می توان وقتی عرض همه پالس ها ثابت است آن را به صورت تعداد پالس ها (n) هم بیان داشت. کسر زنده مانی *E. coli* وقتی شیر با یک تعداد افزایشی از پالس ها در یک شدت میدان ثابت فراوری می شود کاهش می یابد (تصویر ۳۲). نرخ عدم فعالیت *E. coli* به همراه یک افزایش در شدت میدان الکتریکی در یک تعداد ثابت از پالس ها افزایش می یابد (تصویر ۳۳). کمتر از ۱ کاهش log در جمعیت *E. coli* برای فراوری های PEF دارای ۲۰، ۲۵ و ۳۰ و ۶۴ پالس در ۱۵ درجه مشاهده شد. /۵/

نمونه	pH	اسیدیته (Malic Acid)	ویتامین C (mg/100 g)	گلوکوز	فراکتوز	ساکروز
Control	4.10 ± 0.02	2.63 ± 0.02	1.15 ± 0.01	2.91 ± 0.33	4.95 ± 0.64	2.18 ± 0.25
PEF-T1	4.36 ± 0.03	2.67 ± 0.02	1.02 ± 0.02	2.87 ± 0.06	4.96 ± 0.11	2.25 ± 0.06
REF-T2	4.18 ± 0.01	2.75 ± 0.07	1.12 ± 0.00	3.01 ± 0.34	5.08 ± 0.67	2.21 ± 0.31
REF-T3	4.09 ± 0.01	2.63 ± 0.02	1.02 ± 0.00	2.90 ± 0.09	4.89 ± 0.13	2.13 ± 0.06
REF-T4	4.23 ± 0.01	2.61 ± 0.00	1.15 ± 0.24	2.57 ± 0.25	4.33 ± 0.47	2.43 ± 0.13

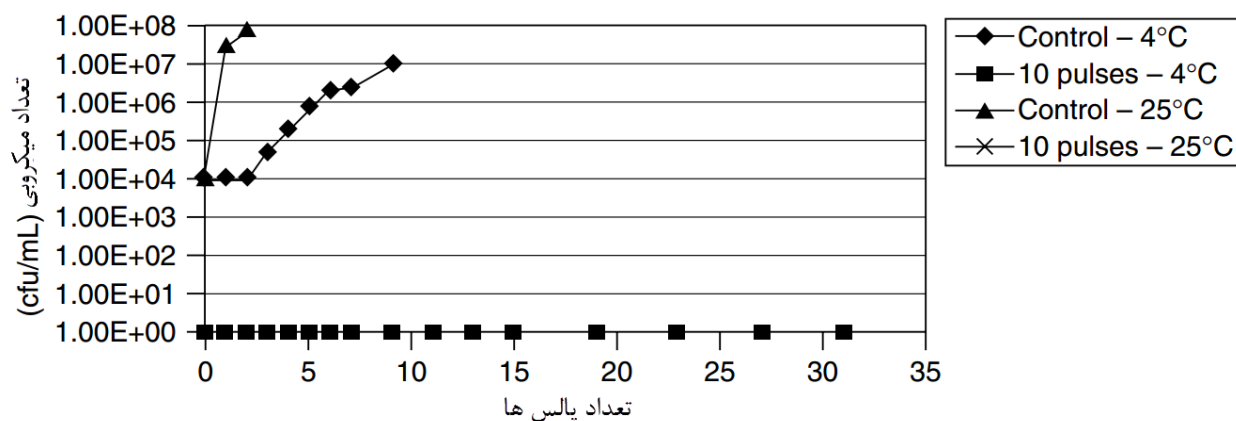
جدول ۵: خصوصیات شیمیایی آب سیب قبل و بعد از PEF



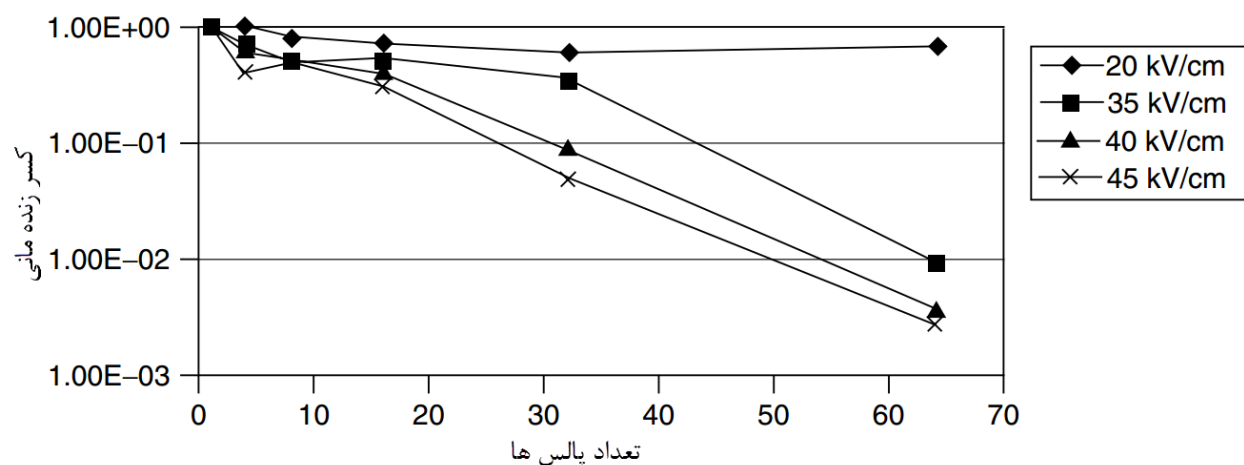
تصویر ۲۹: کسر زنده مانده *S. cerevisiae* به عنوان تابعی از حداکثر شدت میدان وقتی دو پالس ۲/۵ s و ۲۰ μ اعمال می شوند.



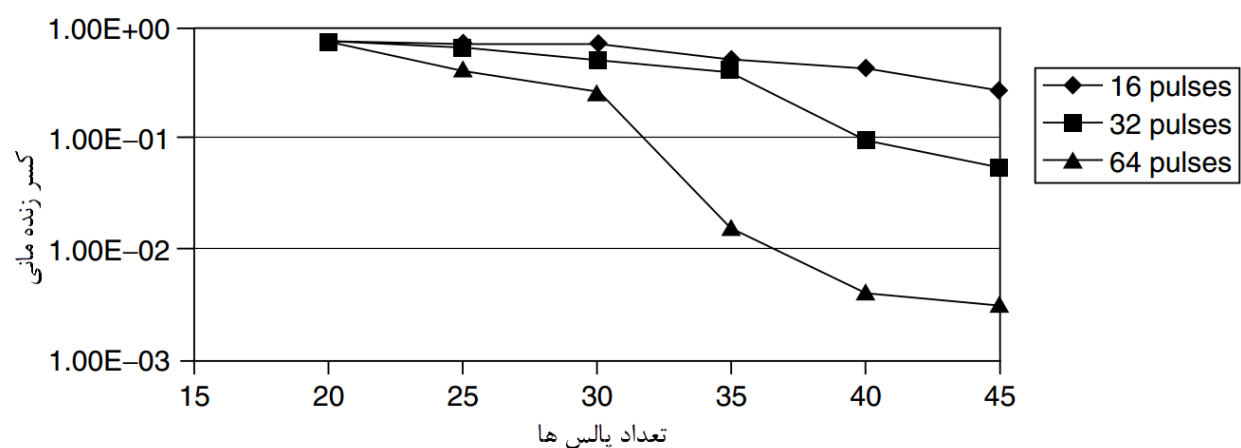
تصویر ۳۰: شمارش میکروبی *S. cerevisiae* در آب سیب به عنوان تابعی از تعداد پالس های ۲/۵ s و ۲۰ μ.



تصویر ۳۱: طول عمر آب سیب پس از فرآوری PEF با ۱۰ پالس ۲/۵ s و ۲۰ μ در ۳۶ kV/cm



تصویر ۳۲: غیرفعالسازی *E. coli* در شیر بدون چربی در دمای ۱۵ درجه در یک محفظه ایستا در شدت های میدانی متعدد.



تصویر ۳۳: غیرفعالسازی *E. coli* در شیر بدون چربی در دمای ۱۵ درجه در یک محفظه ایستا در تعداد پالس های مختلف.

شدت میدان الکتریکی (kV/cm)	تعداد پالس ها (n)	n_{min}	E_c (kV/cm)	K (kV/cm)	R^2
35	<64	15.2	—	5.6	0.829
40	<64	13.0	—	6.1	0.958
45	<64	11.0	—	8.0	0.985
<45	16	—	18.7	2.9	0.833
<45	32	—	20.4	3.9	0.861
<45	64	—	19.9	2.7	0.924

جدول ۶: ثابت حرکتی مدل هالشگر برای غیرفعالسازی *E. coli* در شیر بدون چربی توسط PEF

مرجع	PF ⁱ /Pw ^k	شکل موج	محفظه فراوری	واحد PEF	کاهش Log	T ^c (°C)	E ^b (kV/cm)	محیط فراوری	میکروارگانیزم ها
[82]	40 μs	کاهش بیرونی	متوالی	اندازه آزمایشگاهی (WSU ^d) نمونه اولیه)	۶/۰ و ۹/۰	۴۰	۶۰ و ۳۶	SMUF ^a	E. coli
[۶۹]	1700 Hz	مربع تک قطبی	جریان کوفیلد	مقیاس کارگاهی مستمر (OSU ^e - 4A)	۱-۴/۰	۲۵ و ۵۰	۳۵ و ۲۵	شیر	L. monocytogenes
[۸]	3.5 Hz	کاهش بیرونی	متوالی	واحد آزمایشی (فیزیک بین المللی)	۱/۷ و ۲/۰ و ۲/۵	۲۲ و ۳۴ و ۲۸	۵۰ و ۴۰ و ۳۰	شیر بدون چربی	L. innocua
[۷۵]	10 – 63 Hz	گزارش نشده	متوالی	مستمر	۲/۳ - و ۴/۰ و ۰/۷ - ۳/۹	۳۷	۴۱	شیر بدون چربی	E. coli L. innocua
[۸۳]	1.1 – 100 Hz	کاهش بیرونی	دسته ای	دسته ای (Centrtalp-) (Enertronic)	۱/۱۳	۳۵/۵	۲۹	شیر کامل	L. innocua
[۶۴]	2 – 3.5 Hz	کاهش بیرونی	ایستایی	دسته ای (دانشگاه Lleida) و مستمر (WSU)	متغیر	۹۰ و ۵۰	۳۷/۳ و ۱۶/۴	SMUF	P. fluorescens
[۸۴]	500 Hz	مربع دو قطبی	جریان کوفیلد	مقیاس کارگاهی مستمر (OSU-) (3C)	۳/۰	۵۲	۳۵	شیر بدون چربی	L. lactis
[۸۵]	5 – 50 Hz	مربع تک قطبی	ایستایی	CoolPure Pulser	۱-۴/۵	<50 55	۳۰ و ۱۵	شیر بدون چربی	L. monocytogenes
[۷۶]	2.8 μs	مربع تک و دو قطبی	جریان کوفیلد	مقیاس کارگاهی مستمر (OSU-) (4A)	۲/۰ و ۱/۲۷ و ۱/۸۸	۳۰	۲۴	شیر بدون چربی	E. coli O157:H7
[۴۹]	200 Hz	تک قطبی	جریان کوفیلد	مقیاس آزمایشگاهی مستمر (OSU-) (4A)	۳/۱	۱۵ و ۴۵ و ۵۵		شیر UHT	Pseudomonads
[50]	200 Hz	تک قطبی	جریان کوفیلد	مقیاس آزمایشگاهی مستمر (OSU-) (4A)	۲/۴ و ۵/۹	۱۵ و ۶۰	۳۷ تا ۲۵	شیر بدون چربی	Enterobacteriaceae Pseudomonads
					۲/۱	مجموع کل میکروارگانیزم ها			

جدول ۷: غیرفعال سازی میکروبی در شیر و شبیه سازی فرایالایش شیر با استفاده از فراوری میدان الکتریکی پالسی

نتایج یک طرح تحقیقاتی در رابطه با استفاده از میدان های الکتریکی در از میان بردن میکروارگانیزم های موجود در شیر در جدول ۷ و ۸ نمایش داده شده است.

مرجع	PF ^h /Pw ⁱ	شکل موج	محفظه فراوری	عدم فعالیت (%)	T ^e (°C)	E ^b (kV/cm)	محیط فراوری	آنزیم
[۹۸]	۷۰ پالس ۴۰۰ μs	کاهش بیرونی	N/R ^g	۶۵	43.9	21.8	شیر بدون چربی	AIP

[۹۵]	0.1 Hz	ناشناخته	ممتد با الکترودهای موازی	۹۰	۸۰ و ۶۰	15-45	SMUF ^c	Plasmin
[۵۹]	۲۲ Hz	کاهش بیرونی	دسته ای	ناچیز ناچیز ۶۰	<50	21.5	شیر کامل	‘AIP ,LPX ^b Lipase
[۸۹]	۱ Hz	مربع تک قطبی	دسته ای	۷۴ ۰	70	19	شیر کامل	‘AIP LPX
[۳]	۲-۳/۵ Hz	کاهش بیرونی	بسته ای و ممتد هم محور	۶۲/۱	<34	16.4-27.4	SMUF	Lipase(P. fluorescens)
[۹۹]	۸۹، ۶۷ و ۱۱۱ Hz	مربع تک قطبی	بسته ای و ممتد هم محور	62.7- 81	<46	19.7-35.5	/ SMUF شیر بدون چربی	Protease (B. subtilis)
[۵۰]	۲۰۰ Hz ۱۹/۲ μs	مربع تک قطبی	کوفیلد ممتد	عدم فعالیت	۶۰ و ۱۵	25-37	شیر بدون چربی	AIP
[۱۰۰]	۲۲ پالس ۶۷ Hz و ۸۰ پالس ۴ μs در ۰/۱ Hz	مربع تک قطبی	بسته ای و ممتد هم محور	فعالیت – عدم فعالیت ^f	۴۰ و ۳۴	19.7-37.3	شیر بدون چربی	Protease (B. subtilis)
	۲۲ پالس ۶۷ Hz و ۸۰ پالس ۴ μs در ۰/۱ Hz	مربع تک قطبی	بسته ای و هم محور ممتد	فعالیت – عدم فعالیت ^f	۴۰ و ۳۴	16.4-27.4	SMUF	

جدول ۸: غیرفعال سازی آنزیمی در شیر و و شبیه سازی فرآپالایش شیر بدون چربی با استفاده از فراوری میدان الکتریکی پالسی

تیمارهای حرارتی رایج در صنعت شیر شامل پاستوریزاسیون LTLT، پاستوریزاسیون HTST و استریلیزاسیون می باشند، در بسیاری موارد به علت بار میکروبی اولیه بالای شیر خام از تیمار حرارتی شدیدتری استفاده می شود که سبب تخریب ویتامین ها و آنزیم های مفید در نتیجه افت ارزش غذایی شیر می شود. همچنین تحریک جوانه زنی اسپورها، تغییر فلور میکروبی شیر، دناتوره شدن پروتئین های محلول، تولید ترکیبات سمی و ایجاد طعم پخته از دیگر مضرات حرارت بالا است. فرآوری غذا با استفاده از میدان الکتریکی پالسی عبارتست از تیمار ماده غذایی توسط پالس های الکتریکی خیلی کوتاه (در حد ۱-۱۰ μs) و شدت میدان بالا (۸۰-۲۰ kv/cm) در دماهای متوسط. در این روش ماده غذایی در

داخل اتاقک تیمار بین دو الکتروود قرار می گیرد و میدان الکتریکی با خصوصیات مشخص اعمال می شود. سیستم ممکن است به صورت پیوسته یا نا پیوسته باشد. /۱/

کاربرد PEF در گوشت

یکی از کاربردهای دیگر فرایند PEF در فراوری گوشت می باشد. در طول فرایند PEF، نفوذ پذیری سلولهای بافت گوشت افزایش و با انجام تیمار PEF سبب تسهیل جذب آسان تر عوامل، ادویه جات ترشی جات، عطر و طعم تقویت و غیره را در بافت گوشت می شود و در نتیجه در طول فرایند پخت این عوامل به بافت گوشت اتصال می یابد. از نتایج استفاده از فرایند PEF در گوشت حفظ طراوت، کیفیت تغذیه ای رضایت بخش و همچنین افزایش عمر مفید آن توسط (کاسترو و همکاران، ۱۹۹۳؛ Kozempel و همکاران، ۱۹۹۸؛ دیویس، ۱۹۹۵؛ کارل، ۱۹۷۵؛ KNORR، ۱۹۹۵؛ KNORR و همکاران، ۱۹۹۸) گزارش شده است. آماده سازی ژامبون خام، در یک زمان کوتاه توسط این تکنولوژی بدون فروپاشی بافت های حیوانی انجام می شود. مطالعات تازه و گسترده ای روی تجزیه و تحلیل اثر تیمار PEF در منبع مختلف مواد غذایی از منشاء جانوری توسط (Sitzmann و مونک، ۱۹۸۸؛ Hafsteinsson و همکاران، ۲۰۰۰؛ Gudmundsson و Hafsteinsson، ۲۰۰۱) انجام شده است. در گوشت خرگوش و پاهای مرغ، اثرات ضد میکروبی فرایند PEF با ولتاژ پایین از ۲۲۰-۳۸۰ V توسط Mrigadat و همکاران گزارش شده است.

فواید

افزایش درجه حرارت در مواد غذایی در طول فرایند PEF بسیار پایین است که این فرایند در کمتر از یک ثانیه به پایان می رسد. این مسئله احتمالاً موجب کاهش تغییر در ساختار مواد غذایی می شود. PEF انرژی کارآمد و جزو فناوری های سبز محسوب می گردد که در نتیجه آن فرایند مواد غذایی از هر گونه حرارت قابل توجهی جلوگیری می شود، در نتیجه غیر فعال سازی میکروارگانیسم ها با کمترین افت کیفیت تغذیه ای و حسی خواهد بود (باربوسا-Canovas و همکاران، ۱۹۹۹؛ Jeyamkondan و همکاران، ۱۹۹۹).

محدودیت

فن آوری پالس میدان الکتریکی جهت ضد عفونی مایعات رضایت بخش می باشد. معمولاً PEF در قبل از بسته بندی مواد غذایی به کار برده می شود. از این رو دقت در جلوگیری از آلودگی ثانویه لازم است. این مستلزم استفاده از بسته بندی آسپتیک را می باشد. ضمناً این فراوری برای مواد جامد مثل

گوشت زیاد موثر نخواهد بود . از طرفی تخریب الکتروود در طول فرایند PEF و ورود آن به مواد غذایی مایع یکی دیگر از محدودیت های آن می باشد (Morren و همکاران، ۲۰۰۳). هزینه سرمایه گذاری تجهیزات PEF در مقیاس تجاری خیلی بالا می باشد .

فصل هفتم

مقایسه روش های
غیر حرارتی نگهداری
مواد غذایی

روش های غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی

روند رو به رشد جمعیت جهان تامین غذا را به عنوان یکی از مهمترین مسائل روز دنیا مطرح کرده است در این راستا علوم غذایی و فناوریهای مرتبط با آنها جایگاه ویژه ای یافته و تاثیرشان در رفع معضل غذا امری انکار ناپذیر تلقی می شود. روشهای نگهداری مواد غذایی ضمن حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری غذا، تولید، عرضه و تجارت آن را تسهیل نموده و بنابراین از اهمیت بسزایی برخوردارند. به منظور حذف (و یا به حداقل رساندن) عوامل کاهش دهنده کیفیت مواد غذایی که از فرایندهای حرارتی ناشی می شوند، استفاده از روشهای غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی در حال گسترش است. مواد غذایی را می توان با روشهای غیر حرارتی نظیر استفاده از فشار هیدروستاتیک بالا، میدان مغناطیسی نوسان کننده، میدانهای الکتریکی پالسی با شدت جریان زیاد، پالسهای نوری شدید، تشعشع، مواد شیمیایی، مواد بیوشیمیایی و فناوری تلفیقی فراوری نمود.

استفاده از انرژی حرارتی جهت کنترل عوامل فساد و ایجاد قابلیت مصرف به صورت منفرد و یا در تلفیق با عوامل دیگر نقش مهمی در فراوری مواد غذایی دارد. البته این روش نظیر روشهای دیگر علاوه بر مزایای زیاد آن دارای محدودیتهایی نظیر کاهش ارزش غذایی و یا تغییر نامطلوب ماهیت برخی از اجزای غذا نیز می باشد. این مسئله همراه با عوامل دیگر نظیر کاهش هزینه های فراوری، بالا بردن ارزش غذایی و ... همواره متخصصین را به سوی کشف و ابداع روشهای نوین فراوری و نیز بهبود روشهای موجود سوق میدهد. پژوهشهای بسیار زیادی در مورد روشهای غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی به منظور امکان استفاده از آنها به عنوان یک روش جایگزین و یا مکمل روشهای مرسوم انجام شده است. به طور معمول اکثر مواد غذایی به کمک حرارت با قرار گرفتن در دامنه حرارتی ۱۰۰ - ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت چند ثانیه تا

چند دقیقه فراوری می شوند. در طول زمان فرایند حرارتی مقدار زیادی انرژی ناخواسته در ماده غذایی منتقل می شود. این انرژی ممکن است واکنشهای ناخواسته ای در ماده غذایی به وجود آورد و سبب ایجاد تغییرات مطلوب یا تشکیل ترکیبات جانبی شود. به عنوان مثال شیری که به روش حرارتی فرایند شده ممکن است دارای طعم پختگی باشد که به دنبال آن ویتامینها، مواد مغذی ضروری و مواد مولد طعم از بین می روند. این حقیقت که علاوه بر عمر انباری، کیفیت غذا نیز از نظر مصرف کننده اهمیت دارد، سبب پیدایش روشهای غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی شده است. به منظور حذف (یا به حداقل رساندن) عوامل کاهش دهنده کیفیت مواد غذایی که از فرایندهای حرارتی ناشی می شوند، استفاده از روشهای غیر حرارتی نگهداری مواد غذایی در حال گسترش است.

دمای ماده غذایی در طول فرایند غیر حرارتی کمتر از دماهایی است که به طور متداول در فرایند حرارتی استفاده می شوند. بنابراین کاهش کیفیتی که در نتیجه استفاده از دماهای بالا به وجود می آید، در فرایندهای غیر حرارتی به حداقل می رسد. انتظار میرود که ویتامینها، مواد مغذی ضروری در حین فرایندهای غیر حرارتی بدون تغییر باقی مانده یا حداقل تغییرات را متحمل شوند. علاوه بر این فرایندهای غیر حرارتی در مقایسه با فرایندهای حرارتی به انرژی کمتری نیاز دارند. هایت در سال ۱۸۹۹ تاثیر فشار بالا بر میکرو اورگانیزمهای موجود در شیر انواع، سبزیها و میوه ها را مورد بررسی قرار داد. او دریافت که از فشار ۶۸۰۰ اتمسفر به مدت ۱۰ دقیقه بر روی آب انگور، فرایند تخمیر را متوقف می سازد. در این پژوهش عمر انباری هلوها و گلابی هایی که به مدت ۳۰ دقیقه در معرض فشار ۴۱۰۰ اتمسفر قرار گرفته بودند، ۵ سال برآورد شده است. البته، تلاشهایی که برای نگهداری گوجه فرنگی، نخود سبز و چغندر با استفاده از فشار بالا صورت گرفت موفقیت آمیز نبوده اند. جشل (۱) در سال ۱۹۳۵ فرایندی را برای پاستوریزاسیون شیر با استفاده از الکتریسیته توصیف نمود. او دریافت که مزه شیر پاستوریزه شده با الکتریسیته بهتر از مزه شیری است که با روشهای حرارتی پاستوریزه می شود. علاوه بر این حرارت حاصل از الکتریسته، میکرواورگانیزمها را غیر فعال می کند. کیمبال (۶) اثرات میدان مغناطیسی بر رشد و تکثیر باکتریها و مخمر

ها را مطالعه نمود. جوانه زنی مخمرها تحت اثر میدانهای مغناطیسی غیر یکنواخت متوقف می شود. استفاده از مواد شیمیایی نظیر نمک، شکر و سرکه قدیمی ترین روش شناخته شده برای نگهداری مواد غذایی می باشد. اشعه دهی و فناوری تلفیقی نیز مدتها است که شناخته شده اند. استفاده از پالسهای شدید نوری روش جدیدی در غیر فعال سازی میکروارگانیسمها است.

دمای ماده غذایی در طول فرآیند غیر حرارتی کمتر از دماهایی است که به طور متداول در فرآیند حرارتی استفاده می شوند. بنابراین کاهش کیفیتی که در نتیجه استفاده از دماهای بالا به وجود می آید، در فرآیندهای غیر حرارتی به حداقل می رسد. انتظار می رود که ویتامینها، مواد مغذی ضروری و مواد مولد طعم در حین فرآیندهای غیر حرارتی بدون تغییر باقی مانده یا حداقل تغییرات را متحمل شوند. علاوه بر این فرآیندهای غیر حرارتی در مقایسه با فرآیندهای حرارتی به انرژی کمتری نیاز دارند.

مواد غذایی را می توان با روشهای غیر حرارتی نظیر استفاده از :

فشار هیدرواستاتیک بالا، میدان های الکتریکی پالسی، پالس های نوری شدید، تشعشع، مواد شیمیایی، مواد بیوشیمیایی فراوری نمود .

فراوری مواد غذایی با استفاده از فشار هیدرواستاتیک بالا (HPP) High Pressure Processing ((
فناوری فشار بالا، به علت غیر فعال کردن میکروارگانیسم ها و همچنین تولید محصولاتی با کیفیت بالا اهمیت خاصی در صنایع غذایی پیدا کرده است. در ابتدا فناوری فشار بالا در تولید انواع سرامیک، استیل و آلیاژهای خاصی مورد استفاده قرار می گرفت. در دهه گذشته، فناوری استفاده از آن در صنایع غذایی نیز گسترش یافت.

تولید فشار بالا:

در صنایع فلزی و سرامیک از مخازن تحت فشاری که تحمل فشارهای بالا را دارند استفاده می شود. البته، در صنایع غذایی تجهیزاتی مورد نیازند که تحمل فشارهای بسیار بالاتر یعنی تا حدود ۴۰۰۰ اتمسفر را داشته باشند.

فشار بالا را می توان به روشهای ذیل تولید نمود:

- ۱- تراکم مستقیم با فشردن ماده ناقل فشار در پیستونی که قطر قسمت انتهایی آن کم می باشد. انتهای قطر پیستون توسط یک پمپ کم فشار به حرکت در می آید. در این روش تراکم بسیار سریع صورت می گیرد، اما محدودیتهای ارتباط دینامیکی فشار بالا بین پیستون و سطح داخلی مخزن کاربرد این روش را در سیستمهای نیمه صنعتی و آزمایشگاهی با مشکل مواجه می کند.
 - ۲- در تراکم غیر مستقیم از یک تشدید کننده فشار بالا برای انتقال ماده ناقل فشار از یک مخزن به مخزن بسته تحت فشار بالا استفاده می شود تا اینکه فشار به مقدار دلخواه برسد. در اکثر سیستمهای صنعتی فشاردهی ایزواستاتیک، از روش تراکم غیر مستقیم استفاده می شود.
- با حرارت دادن ماده ناقل فشار درجه حرارت آن افزایش یافته، منبسط شده و فشار زیادی تولید می شود. بنابراین، حرارت دادن ماده ناقل فشار زمانی انجام می شود که همزمان از فشار بالا و درجه حرارت زیاد استفاده گردد. در این روش کنترل دقیق درجه حرارت در تمام حجم داخلی مخزن تحت فشار ضروری است.

شرح فرآیند طرز کار مخزن فشار بالا

در این سیستم ابتدا ماده غذایی در یک ظرف استریل پر می شود و پس از محکم شدن درب آن در مخزن فشار قرار می گیرد تا فشار مورد نظر اعمال گردد. لفافی که برای بسته بندی مواد غذایی فرآوری شده در فشار بالا توصیه می شود کوپلیمیر اتیلن وینیل الکل و پلی وینیل الکل می باشد.

از آنجا که فشار اعمال شده یکنواخت است، بسته بندی تغییر شکل پیدا نمی کند. پس از آنکه مخزن از مواد غذایی بسته بندی شده پر شد و درب آن مسدود گردید ماده ناقل به داخل آن تزریق می شود. در اغلب سیستمهای متداول ماده ناقل فشار آب می باشد که به منظور ایجاد حالت لغزندگی و ضد خوردگی آن را با مقدار کمی روغن مخلوط می کنند.

اساس استفاده از فشارهای بالا در فرآوری مواد غذایی متراکم نمودن آب اطراف آنها می باشد. در دمای اتاق حجم آب در فشار ۱۰۰۰ اتمسفر تا ۴٪، در فشار ۲۰۰۰ اتمسفر تا ۷٪، در فشار ۴۰۰۰ اتمسفر تا ۱۱٫۵٪ و در فشار ۶۰۰۰ اتمسفر تا ۱۵٪ کاهش می یابد. از آنجا که متراکم کردن مایعات تغییرات حجمی کمی در آنها ایجاد می کند، خطرات ناشی از مخازن فشار بالایی که در آنها از آب استفاده می شود کمتر از مخازنی است که در آنها از گاز متراکم استفاده می گردد. در این روش ماده غذایی به مدت مشخصی

تحت فشار بالا قرار می گیرد. زمان نگهداری ماده غذایی در مخزن تحت فشار به نوع ماده غذایی و درجه حرارت فرآیند بستگی دارد. در پایان زمان فرآوری، فشار داخل مخزن حذف می شود تا مواد فرآوری شده خارج گردند. سپس بخش دیگری از ماده غذایی در مخزن فشار قرار می گیرد و این چرخه تکرار می گردد.

به لحاظ مهندسی، معایب استفاده از فشار بالا در صنایع غذایی به طور عمده مربوط به ساخت مخازن تحت فشار جهت فرآوری مقادیر زیاد مواد غذایی و نیز تحمل فشار بالا می باشند. تمیز کردن دستگاه باید ساده و کار کردن با آن بدون خطر باشد. همچنین، دستگاه باید مجهز به سیستمهای کنترلی دقیق باشد.

اثرات بیولوژیکی فشار بالا

مطالعه اثر فشار بر موجودات زنده، بیولوژی فشار (باربیولوژی) نامیده می شود. همچنین به فشارهای بالاتر از فشار اتمسفر فشار بالا گفته می شود. فشار بالا تغییرات زیادی در سیستمهای بیولوژیکی، غشای سلولی و دیواره سلولی میکروارگانیسمها به وجود می آورد. به طور کلی باکتریهای گرم منفی نسبت به باکتریهای گرم مثبت در فشارهای پایین تری غیر فعال می شوند.

اثر فشار بالا بر میکروارگانیسمها

الف) تغییرات مرفولوژیکی

اکثر باکتریها می توانند تا فشارهای ۳۰۰-۲۰۰ اتمسفر رشد کنند. میکروارگانیسمهایی که قادرند در فشارهای بالاتر از ۵۰۰-۴۰۰ اتمسفر رشد کنند "باروفیل"، میکروارگانیسمهایی که در فشار بالاتر از ۴۰۰-۳۰۰ اتمسفر قادر به رشد نبوده و یا رشد کمی دارند "باروفوب" نامیده می شوند.

توقف حرکت

اکثر باکتریهای اگر به مدت طولانی در معرض فشار ۴۰۰-۲۰۰ اتمسفر قرار گیرند، قابلیت حرکت خود را از دست می دهند *Escherichia coli*، *Vibrio* و *Pseudomonas* در فشار ۱۰۰ اتمسفر فلاژلهای خود را حفظ می کنند، اما در فشار ۴۰۰ اتمسفر آنها را از دست می دهند. از بین رفتن تحرک در بعضی از باکتریها برگشت پذیر است.

ب) غیر فعال شدن میکروارگانیسمها و اسپورها

در فرآیند HPP غیر فعال کردن میکروارگانیسمهای رویشی بدون تخریب عطر، طعم، بافت، رنگ و ترکیبات مغذی صورت می گیرد و فشار به تمام قسمتهای فرآورده غذایی به طور یکسان منتقل می شود. اگر فشار به کار برده شده به اندازه کافی باشد، تمام سلولهای رویشی میکروارگانیسم و اسپورها غیر فعال می شوند. اثرات شیمیایی و میکروبیولوژیکی HPP به فاکتورهای وابسته است، مهمترین آنها مربوط به دما و زمان است. باکتریها در مقابل فشار مقاومتی متفاوتی از خود نشان می دهند. معمولاً باکتریهای گرم منفی مقاومت کمتری نسبت به باکتریهای گرم مثبت در برابر فشار دارند *Staphylococcus aureus*. مقاومت بسیار زیادی نسبت به فشار بالا دارد، همچنین "اسپورهای کلستریدیوم" مقاومت زیادی به فشار دارند. ترکیب روش HPP با حرارت ملایم، به عنوان مثال فشار 500-700 atm و دمای 90-110 °C اسپورهای *Cl. botulinum* را غیر فعال می کند، همچنین HPP در غیر فعال کردن میکروارگانیسم در pH اسیدی موثرتر است. کپک و مخمرهای مولد فساد، در کمتر از چند دقیقه تحت فشار 400 atm غیر فعال می شود، هر چند این فرآیند برای کاهش مایکوتوکسین هایی مثل پاتولین کافی نیست.

اسپورها در فشار بالا جوانه زده و به سلول رویشی تبدیل می شوند و در مرحله بعد سلولهای رویشی غیر فعال می گردند. در درجه حرارتهای پایین، فشار کم باعث جوانه زنی و حساس شدن به حرارت می شود، اما اسپورهای جوانه زده در حد ناچیزی غیر فعال خواهند شد.

پدیده غیر فعال شدن اسپورها در فشارهای زیاد به شدت تحت تاثیر درجه حرارت و به میزان کمتری تحت تاثیر pH، فعالیت آبی و قدرت یونی قرار دارد. درجه حرارت بهینه برای آغاز جوانه زنی اسپورها در فشارهای مختلف متفاوت است. اسپورها در حدود pH خنثی بیشتر و در pH های اسیدی و قلیایی، به میزان کمتری غیر فعال می شوند. شرایط بهینه جوانه زنی اسپورها در اثر فشار در حدود pH خنثی است. حلالهای غیر یونی با فعالیت آبی کم اثر کمی بر میزان غیر فعال شدن اسپورها به وسیله فشار دارند در حالیکه حضور حلالهای یونی نظیر نمک طعام سرعت غیر فعال شدن را کاهش می دهد. اکثر اسپورها در غیاب یونها غیر آلی در اثر فشار جوانه نمی زنند. یونها ممکن است بر تجزیه آنزیمی پپتیدوگلیکان در حین جوانه زنی اثر بگذارند. اثر یونهای هیدروژن، پتاسیم، منگنز، کلسیم، منیزیم، سدیم بر جوانه زنی تحت فشار به ترتیب کاهش میابد. همچنین، حضور یونها سبب افزایش حساسیت حرارتی اسپورها در محلولهای بافر نسبت به محلولهای آب مقطر در همان فشار و دما می شود.

عوامل موثر بر غیر فعال شدن میکروارگانیسمها در فشار بالا

غیر فعال شدن میکروارگانیسمها در فشار بالا به pH، ترکیب، فشار اسمزی و درجه حرارت محیط بستگی دارد. فشار بالا pH محیط را تغییر می دهد که عامل تشدید کننده غیرفعال شدن میکروارگانیسمها می شود. حساسیت باکتریها به فشار بالا در محلول نمکهای معدنی و محیطهای مغذی بیشتر می شود. با افزایش فشار حساسیت باکتریهای باروفیل به فشار اسمزی بالا زیاد می شود.

فشار بالا در درجه حرارت متوسط اثر سینرژیستی دارد. افزایش فشار غیرفعال شدن میکروارگانیسمها در دمای بالا به تاخیر می اندازد. در دمای ۶,۹ درجه سانتیگراد سرعت غیرفعال شدن سلولهای E.coli در فشار ۴۰۰ اتمسفر کمتر از فشار ۱ اتمسفر است. اسپورها هنگامی که در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در فشارهای ۱۰۰۰-۶۰۰ اتمسفر قرار می گیرند طی چند دقیقه یا چند ساعت غیرفعال می شوند، اما در درجه حرارت پایین تر و تحت همان فشار به مدت چندین ماه زنده می مانند.

فشار بالا همچنین سبب فعال یا غیر فعال شدن آنزیمها میشود. فعالیت سوکسینات دهیدروژنازها، فورمات و ملات در E.coli، با افزایش فشار کاهش میابد.

استفاده و تاثیر مشخص و بارز این روش در غیرفعال کردن میکروارگانیسمهای پاتوژن آنزیمها در آبمیوه ها، خصوصاً آب سیب و پرتقال می باشد. اثرگذاری این تیمار روی فعالیت پلی فنل اکسیداز در آب سیب و پکتین استراز در آب پرتقال مشخص می باشد. فعالیت پکتین استراز باقیمانده در آب پرتقال در شرایط فشار ۴۵۰ اتمسفر، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و در زمان ۳۰ دقیقه حدود ۷٪ اندازه گیری شده که در مقایسه با ۱۲٪ در شرایط فشار ۴۵۰ اتمسفر، دمای ۴۰ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه نتیجه مطلوب و مناسبی است. همچنین فعالیت پلی فنل اکسیداز در آب سیب پس از تیمار در فشار ۴۵۰ اتمسفر، دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و زمان ۶۰ دقیقه حدود ۹٪ محاسبه شده است.

ایزوآنزیمهای مقاوم به فشار عامل فعالیتهای پس از فرآیند فشار هستند. غیر فعال کردن آنزیمها در این روش برگشت ناپذیر است و آنزیمها در دوره نگهداری نمی توانند دوباره فعال شوند. HPP به عنوان تکنولوژی سودمندی برای غیرفعال کردن آنزیمها در آبمیوه ها ثبت گردیده، فشار بالاتر از ۴۰۰ اتمسفر با حرارت ملایم کمتر از ۵۰ درجه سانتیگراد همراه شده و در نتیجه غیرفعال کردن آنزیمها تسریع یابد. تاثیر HPP در سرعت و میزان دناتوراسیون برگشت ناپذیر آنزیمها به ترکیب و ساختار آنزیم، pH، فشار و دما بستگی دارد.

استفاده از فشار بالا در فرآوری مواد غذایی

از فرآوری در فشار بالا می توان برای افزایش زمان نگهداری مواد غذایی، انجماد زدایی مواد غذایی منجمد و نگهداری مواد غذایی بدون استفاده از انجماد استفاده نمود. با استفاده از فشارهای مناسب ، میکروارگانیسمها ، اسپورها و آنزیمهای نامطلوب غیرفعال شده و در نتیجه زمان نگهداری مواد غذایی افزایش می یابد.

اثر فرآیند HPP بر مواد غذایی مختلف:

میوه ها:

HPP می تواند رنگ طبیعی و شفافیت ، خصوصیات بافت و طعم طبیعی میوه ها را برای مدت طولانی حفظ کند. استفاده صحیح و دقیق این روش امکان فرآوری بسیاری از فراورده های میوه ای تازه را فراهم می کند، مانند قطعه های میوه در آبمیوه ، ژل میوه ای. آب گریپ فروتی که با این روش تهیه شود، فاقد طعم تلخ لیمونین خواهد بود که در فرآوری متداول حرارتی وجود دارد. اگر میوه هایی نظیر هلو و گلابی به مدت ۳۰ دقیقه در فشار ۴۱۰۰ اتمسفر فرآوری شوند، حالت استریل خود را تا ۵ سال حفظ خواهند نمود. طعم آب مرکباتی که بدون پاستوریزه شدن تحت تیمار فشار قرار گرفته اند همانند میوه تازه بوده و ویتامین C آنها حفظ می شود و تا ۱۷ ماه قابلیت نگهداری دارند .

فراورده های گوشتی:

اگر چه HPP در غیرفعال کردن باکتریهای مسمومیت زا مانند *Listeria* ، *Salmonella* و *E.coli* اثر قابل ملاحظه ای دارد، تاکنون صنعت گوشت در زمینه کاربرد HPP وسعت چندانی نیافته است. استفاده از HPP هزینه بالایی دارد ، همچنین HPP روی خواص حسی گوشت اثرگذار است و اغلب باعث تسریع دناتوراسیون پروتئینهای گوشت می شود. با این وجود استفاده از HPP در غذاهای آماده گوشتی مثل همبرگر و سالامی موفقیت آمیز بوده است.

فراورده های لبنی:

فرآیند HPP، علاوه بر هزینه زیادی که دارد، در مورد تأمین سلامت فرآورده لبنی قابل رقابت با فرآیند حرارتی نیست. HPP بیشتر در فرآوری پنیر، اصلاح حالت کف کنندگی، امولسیفیه کردن و اصلاح خصوصیات ژله ای شدن پروتئینهای شیر استفاده می شود.

در انتها برای ارزیابی فناوری فشار بالا می توان گفت؛ مزیت عمده این روش غیر فعال شدن آنزیمها بدون تخریب مواد مغذی و تغییر طعم و بافت مواد غذایی می باشد، همچنین همراه با برخی اثرات مطلوب می باشد. و از محدودیت های آن، مشکل فنی نصب لوله های مقاوم به فشار بسیار بالا، نیاز به سرمایه گذاری بالا و عدم کفایت این روش برای غیر فعال کردن برخی اسپورها می باشد.

میدانهای الکتریکی پالسی قوی (Pulsed electric fields (PEF))

از میدان الکتریکی با پالسهای کوتاه و مقیاس زمانی بین میکروثانیه و میلی ثانیه جهت سالم سازی مواد غذایی مایع استفاده می شود. در این روش ماده غذایی ممکن است تحت شرایط محیطی و یا دماهای پایین (سرد شده) فرآوری گردد. جهت به حداقل رسیدن فرآیند حرارتی در روش استفاده از میدانهای الکتریکی پالسی، ماده غذایی در زمانی کوتاه و با صرف انرژی کم فرآوری می گردد.

سیستمهای فرآوری در میدانهای الکتریکی پالسی قوی

سیستم فرآوری در میدانهای الکتریکی پالسی قوی از اجزای مختلفی تشکیل شده اند که عبارتند از: منبع انرژی، خازن ذخیره سازی، کلید، محفظه واکنش، پروب ولتاژ، پروب جریان برق، پروب درجه حرارت و نیز تجهیزات بسته بندی اسپتیک. جهت شارژ نمودن خازن از یک منبع انرژی استفاده می شود. وظیفه کلید نیز تخلیه انرژی ذخیره شده در خازن به ماده غذایی موجود در محفظه واکنش است. سیستم کلید ممکن است ایجاد جرقه و اشتعال جیوه، جرقه گاز، و یا آهنربا باشد. در این روش ممکن است ماده غذایی در یک محفظه ثابت قرار گیرد و یا از طریق یک سیستم مداوم به داخل محفظه پمپ گردد. محفظه های ثابت برای مطالعه اولیه در سطح آزمایشگاهی مناسب هستند، ولی در مقیاس پایلوت و یا تولید صنعتی استفاده از منبع مداوم توصیه می شود. قدرت میدان الکتریکی، ولتاژ و شدت جریان نیز به کمک سیستم نمایش نوسانات اندازه گیری می شوند. در مرحله بعد ماده غذایی فرآیند شده در ظروف کوچک و یا به میزان انبوه در ظروف بزرگتر به روش اسپتیک بسته بندی می گردد. جهت افزایش زمان نگهداری توصیه می شود ماده غذایی فرآیند شده در درجه حرارتهای سرد نگهداری شود.

در فرآوری مواد غذایی به کمک میدانهای مغناطیسی ممکن است حرارت نیز تولید شود. معمولاً در داخل سیستم وسیله ای جهت خنک کردن محفظه واکنش تعبیه شده است. یکی از اجزای مهم و پیچیده این سیستم، محفظه واکنش است. تا به حال انواع مختلفی از محفظه های ثابت و مداوم طراحی شده اند. در مطالعات اولیه این نوع سیستمها از محفظه های واکنش ثابت استفاده می شده است، ولی بعدها محفظه های مداوم و متحدالمحور طراحی شده و گسترش پیدا کردند. ترتیب قرار گرفتن الکتروود نیز در نابودی میکروارگانیسمها مؤثر است.

از محفظه هایی با ظرفیت بالاتر می توان در مقیاس صنعتی استفاده نمود. اجتناب از تجزیه دی الکتریک مواد غذایی در این سیستم امری مهم می باشد. آن دسته از مواد غذایی که نسبت به تجزیه دی الکتریک حساس هستند جهت فرآوری در سیستم میدان الکتریکی مناسب نمی باشند. خطر تجزیه دی الکتریک یکی از عوامل محدودکننده کاربرد میدانهای الکتریکی پالسی بخصوص برای مواد غذایی مایع است. همچنین، این سیستم جهت فرآوری مواد غذایی حاوی کف (به دلیل حساسیت حبابهای هوا به تجزیه دی الکتریک) مناسب نمی باشد.

این روش در افزایش زمان نگهداری و کیفیت محصولات مایع مانند آب پرتقال، شیر پس چرخ، آب سیب، تخم مرغ مایع و همچنین سس پنیر و سالسا مؤثر عمل می کند.

اثرات بیولوژیکی و کاربردهای میدانهای الکتریکی پالسی در نگهداری مواد غذایی

شیری که با استفاده از میدانهای الکتریکی پاستوریزه می شود، معایب شیری که به روش حرارتی پاستوریزه شده است را ندارد. Getchell در سال ۱۹۳۵ نوعی فرآیند پاستوریزاسیون الکتریکی با ظرفیت ۱۰۰ گالن در ساعت برای شیر معرفی نمود که یک روش ساده، انعطاف پذیر، مقرون به صرفه، سریع و قابل اطمینان می باشد. در این روش با عبور جریان الکتریکی از داخل شیر حرارت لازم برای غیرفعال شدن میکروارگانیسمها ایجاد میگردد. البته استفاده از PEF جهت پاستوریزاسیون شیر به دو دلیل کمتر مورد توجه قرار گرفته است:

(الف) ناتوانی در طراحی تجهیزاتی که بتوان به کمک آنها دمای شیر را کنترل کرد؛

(ب) عدم کفایت ظرفیت سیستم جهت فرآوری حجم زیادی از شیر.

اگرچه روشهای پاستوریزاسیون حرارتی و الکتریکی میکروارگانیسمها را غیر فعال می کنند، اما کیفیت

شیری که به روش حرارتی پاستوریزه شده است در مقایسه با روش الکتریکی (از نظر حفظ تازگی طبیعی) پایین تر می باشد.

باکتریهای گرم مثبت و سلولهای رویشی در مقابل PEF نسبت به باکتریهای گرم منفی مقاومت بیشتری دارند، و مخمرها نسبت به باکتریها حساسترند. سلولهای رویشی بیشتر از اسپورها در معرض PEF قرار می گیرند. همانند روش HPP، قابلیت عملکرد PEF در ترکیب با روشهای دیگر افزایش می یابد. روشهای کمکی مانند افزودن ترکیبات آنتی میکروب مثل نیسین، ارگانیک اسید، کاهش pH و حرارت ملایم. تمام این عوامل اثر سینرژیستی روی قابلیت PEF دارند. اگر چه باکتریهای رویشی در میدانهای الکتریکی غیر فعال می شوند، اما اسپورهای *Basillus.cereus* و *Basillus.polymyxa* حتی در میدانهای الکتریکی با شدت 30 kv/cm مقاوم هستند. البته، اسپورها پس از رویش به میدانهای الکتریکی حساس خواهند شد. پالسهای الکتریکی بر جوانه زنی اسپورها اثری ندارند و لذا آنها را غیرفعال نمی کنند. اگر بتوان جوانه زنی اسپورها را با سایر روشها تحریک کرد، سلولهای رویشی حاصل با پالسهای الکتریکی غیرفعال خواهند شد. سیمپسون و همکارانش گزارش کرده اند که با ترکیبی از لیزوزیم و پالسهای الکتریکی تعداد اسپورهای *Basillus.subtilis* تقریباً ۵ سیکل لگاریتمی کاهش می یابد. لیزوزیم احتمالاً پوشش اسپورها را حل کرده و سبب حساسیت سلول به میدان الکتریکی می شود. بنابراین، با ترکیبی از میدان الکتریکی و سایر روشها می توان اسپورها را نیز غیرفعال کرد. استفاده از روش ترکیبی در غیرفعال نمودن میکروارگانیسمها در آب میوه ها به ویژه در آب سیب مورد بررسی قرار گرفته است. به این ترتیب اثر ضد میکروبی PEF در آب سیب هنگامی که بابرخی از ادویه ها و روغنهای اساسی آنها همراه شده، بسیار مؤثر گزارش شده است.

تاثیر دو ادویه میخک و نعناع در ترکیب با روش PEF در غیرفعال سازی میکروارگانیسمها مسلم است. هنگامی که از پودرهای دارچین، زردچوبه، جوز هندی، هل و فلفل قرمز به مقدار 2% w/w در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد استفاده شد، در تعداد میکروارگانیسمها $\log 3-2$ کاهش مشاهده شد. هنگامی که از نعناع به مقدار 1.8% و در دمای ۴۵ درجه سانتیگراد استفاده شد، جمعیت کاهش یافته به $\log 6$ رسید. روغن میخک آنتی میکروب بسیار مؤثری است، هنگامی که غلظت روغن میخک در آب سیب ۰.۲% است، در دمای اتاق کاهش بار میکروبی به $\log 5.3$ می رسد. غیرفعال شدن میکروارگانیسمها هنگامی که از ادویه و حرارت با هم استفاده شود بیشتر است. اما بیشترین تاثیر هنگامی مشاهده شد که روغن میخک

و عصاره نعناع با (40 pulses of 90 kv/cm) PEF استفاده شدند. مکانیسم غیرفعال شدن میکروارگانیسمها رادر روش PEF مربوط به تخریب الکتریک غشاهای بیولوژیکی می دانند .

اثر میدانهای الکتریکی پالسی بر آنزیمها

فعالیت آنزیمهای لیپاز و آمیلاز در میدان الکتریکی با شدت 30 kv/cm متوقف نمی شود. سلولهای E.coli که در اثر میدان الکتریکی غیرفعال شده اند توانایی ساخت بتا گالاکتوزیداز را از دست می دهند. البته، فعالیت بتاگالاکتوزیداز در سلولهای "اشرشیا کلی" که با بنزن گرم خانه گذاری شده اند ، تحت تاثیر میدان الکتریکی قرار نمی گیرد. هیچ کاهش قابل توجهی در فعالیت NADH دهیدروژناز، سوکسینیک دهیدروژناز و هگزوکیناز پس از اعمال میدان الکتریکی مشاهده نمی شود.

میکروارگانیسمهای سایکروتروف می توانند مشکلات کیفی در شیرهای یخچالی ایجاد کنند. سودوموناس یک باکتری سایکروتروف است که پروتئاز تولید می کند. پروتئازها به کازئین و پروتئینهای آب پنیر حمله کرده و شیر نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد را تلخ و منعقد می کنند Vega. و همکارانش غیرفعال شدن یک پروتئاز به دست آمده از "سودوموناس فلورسنس" را مطالعه کردند. پروتئاز پس از ۲۰ پالس با شدت ۰٫۲۵ HZ و در میدان الکتریکی با شدت 18kv/cm در یک سیستم مدل حاوی Tryptic soy broth عصاره مخمر تا ۸۰ % غیرفعال می شود. البته، سرعت غیرفعال شدن پس از ۹۸ پالس با شدت پالس 2 Hz و شدت میدان الکتریکی ۱۴ kv/cm در شیر پس چرخ ۶۰% بوده است. شدت میدان بالا (25kv/cm) و شدت پالس پایین (۰٫۶ kw/cm) حساسیت پروتئینهای شیر پس چرخ به پروتئولیز را افزایش می دهند. آنزیم فسفاتاز قلیایی به عنوان شاخص کفایت حرارتی پاستوریزاسیون کاربرد دارد. فعالیت فسفاتاز قلیایی با استفاده از ۷۰ پالس با شدت میدان الکتریکی ۱۸٫۸ kw/cm به میزان ۶۰% در شیر خام و شیر ۲% چربی و به میزان ۶۵% در شیر بدون چربی کاهش می یابد. اگرچه فسفاتاز قلیایی طبیعی نسبت به هضم تریپسین مقاوم است اما تیمار با میدان الکتریکی فسفاتاز قلیایی را برای تریپسین قابل هضم می سازد.

میدانهای مغناطیسی:

میدان مغناطیسی عبارتست از منطقه ای که در آن جسم مغناطیسی می تواند ذرات اطراف خود را مغناطیس نماید. معمولاً میدانهای مغناطیسی با ذخیره سازی جریان الکتریکی در سیم پیچهای الکتریکی ایجاد می شوند. جهت غیر فعال سازی میکرواورگانیزمها جریان مغناطیسی با دانسیته ۱۰-۵ تسلا (T) لازم است.

میدانهای مغناطیسی و میکرواورگانیزمها:

با مشاهده جریان پروتوپلاسمی سلول در اوایل قرن بیستم، اثر میدانهای مغناطیسی ثابت و یا متناوب بر موجودات زنده آشکار گشت. میدانهای مغناطیسی با فرکانسهای بسیار کم نظیر میدان مغناطیسی کره زمین به حرکت میکرواورگانیزمها جهت می دهند برای مثال برخی از باکتریهای آبی به نام باکتریهای مغناطیسی در طول خطوط میدان مغناطیسی حرکت می کنند. لذا، تحت تاثیر میدان مغناطیسی کره زمین قرار می گیرند. چنانچه پارامسیا در يك میدان مغناطیسی متناوب با شدت ۰,۱۲۶ تسلا قرار داده شود کاهش قابل ملاحظه ای در سرعت شنواری آن ایجاد می گردد. حرکت این موجود به دلیل نوسان در تغییر جهت حرکت و نیز حرکت دایره ای پیچیده می باشد. کاهش سرعت شنواری پارامسیایی که تحت اثر میدانهای مغناطیسی قرار گرفته به دلیل جهت یابی مولکولهای غیر ایزوتروپیک دیامغناطیسم غشای سلول در میدان مغناطیسی به کار رفته می باشد.

یوشیمورا اثرات عمومی میدانهای مغناطیسی را بر رشد و تکثیر میکرواورگانیزمها در سه گروه تقسیم نمود: (الف) اثرات ممانعت کننده، (ب) اثرات تحریک کننده، (ج) اثرات غیر قابل مشاهده (۸)

میدانهای مغناطیسی سبب انتقال رادیکالهای آزاد نظیر $OH\cdot$, $(C_6H_5)_3C\cdot$, $O\cdot$ به نقاطی می شوند که در آنها شدت میدان مغناطیسی قویتر است. نتیجه این امر قطع فعالیت متابولیکی نظیر عدم جوانه زدن سلولهای مخمر است.

میدانهای مغناطیسی و بافتها و غشاهای:

غشاهای بیولوژیکی به دلیل ساختمان طبیعی غیر ایزوتروپیک وقتی در يك میدان مغناطیسی قرار می گیرند شدیداً جهت گیری می نمایند. بسته به ویژگیهای غیر ایزوتروپی مولکولهای بیولوژیکی نظیر پروتئینهای

متصل به غشاهای سلولی به صورت موازی و یا عمود بر میدان مغناطیسی جهت می گیرند. به دلیل وجود رزونانس در پیوند پپتیدی مولکولهای پروتئینی این مولکولها غیر ایزوتروپ و دیامغناطیس می باشند و نظیر پیوندهای دوگانه بین اتمهای کربن در جهت موازی با میدان مغناطیسی خارجی جهت گیری می نمایند (۱۱) .

تغییر در جهت جریان یونها در غشای پلاسمای می تواند منجر به تغییر در سرعت تقسیم سلولی شود. برای افزایش و یا کاهش جریان یونها در غشا میدانهای مغناطیسی متناوب با شدت تقریباً ۱۰۰ تسلا لازم می باشند (۱۵) . بر اساس نظریه دایل و همکارانش غشای پلاسمایی میکرواورگانیسما یکی از بخشهای بسیار مهمی است که تحت تاثیر میدانهای مغناطیسی قرار می گیرد.

تغییر در فعالیت آنزیمهای غشایی و اتصال یون کلسیم (Ca^{++}) به گروههای متصل به فسفولیپید سبب تغییر در سیالیت غشا می گردد. اندازه گیری میزان سیالیت غشا نشان داده است که میزان سیالیت غشایی در نمونه های تحت اثر میدان مغناطیسی کمتر از نمونه های شاهد می باشد.

میدانهای مغناطیسی و واکنشهای آنزیمی:

میدانهای مغناطیسی اثر قابل ملاحظه ای بر سرعت واکنشهای کاتالیزوری آنزیمی ندارند. فعالیت کربوکسی دیسموتاز در بافر تریس با pH معادل ۸ پس از قرار گرفتن در میدان مغناطیسی با شدت ۲ pH تسلا و دمای ۴ درجه سانتیگراد کاهش می یابد. در یک آزمایش یک نوع آنزیم به عنوان نمونه شاهد و نمونه آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت نمونه آزمایشی بر خلاف شاهد در معرض میدان مغناطیسی قرار داده شد. بر اساس نتایج این پژوهش با فعال بودن سیستم مغناطیسی افزایش قابل ملاحظه ای در فعالیت آنزیم به وجود آمده ، ولی پس از غیر فعال شدن میدان مغناطیسی بلافاصله فعالیت آنزیم کاهش می یابد. اثر فعال سازی میدان مغناطیسی به دلیل افزایش پیوند هیدروژنی و لذا شکل مارپیچی زنجیره پلی پپتیدی آنزیم می باشد. تقویت مارپیچ و پیوند هیدروژنی سبب پایداری پروتئین در مقابل دناتوراسیون و لذا کاهش حساسیت نسبت به عوامل غیر فعال کننده می شود (۷) .

میدانهای مغناطیسی در نگهداری مواد غذایی:

برخی از روشهای نگهداری مواد غذایی سبب تغییر طبیعت ماده غذایی و یا بروز خصوصیات نامطلوب در آن می گردند. برای مثال، فرایند حرارتی در شیر طعم پخته ایجاد می کند. برخی از فرآورده های غذایی نظیر پنیر و آجودان از طریق تخمیر میکروبی تولید می گردند. تخمیر زیاد سبب فساد ماده غذایی می شود، لذا باید پس از انجام عمل تخمیر میکرواورگانیزمها را غیر فعال نمود. استفاده از میدانهای مغناطیسی متناوب برای این منظور بسیار مفید خواهد بود.

اصول نگهداری مواد غذایی به روش میدان مغناطیسی شامل بسته بندی ماده غذایی در يك محافظ پلاستیکی و قراردادن آن در میدان مغناطیسی متناوب با مشخصات ۱-۱۰۰ پالس، فرکانس ۵۰۰ - ۵ کیلو هرتز و درجه حرارت ۵۰-۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ میکروثانیه تا ۱۰ میلی ثانیه می باشد. زمان فرایند برابر است با حاصل ضرب تعداد پالسها در زمان هر پالس. در طول هر پالس ده نوسان اتفاق می افتد که تاثیر جزئی بر ماده غذایی خواهد داشت. در میدانهای مغناطیسی از ظروف فلزی نمی توان استفاده کرد. در این روش ماده غذایی قبل از فرایند به کمک میدان مغناطیسی متناوب نیاز به آماده سازی خاصی ندارد. فرکانسهای بیش از ۵۰۰ کیلو هرتز اثر کمتری بر غیر فعال سازی میکرواورگانیزمها دارند و سبب افزایش دمای ماده غذایی می شوند. میدان مغناطیسی در آب اثر باکتری کشی قابل توجهی دارند قابلیت استفاده از میدانهای مغناطیسی جهت آلودگی زدایی و بازیافت آب در مسافرتها فضایی توسط چیزو و همکارانش مورد بررسی قرار گرفت (۸).

نگهداری مواد غذایی با بکارگیری میدان مغناطیسی بدون ضرر و قابل توصیه می باشد. پخت به کمک امواج مایکروویو نیز نوعی استفاده از میدانهای مغناطیسی است. در فرایند پخت توسط مایکروویو، میدان مغناطیسی بکار گرفته شده يك اثر حرارتی القا می نماید و از طریق آن میکرواورگانیزمهای ماده غذایی تخریب می گردند.

پالسه‌هاي نوري:

فناوري استفاده از پالسه‌هاي کوتاه نوري روش جالب و مناسبی براي ضد عفوني کردن ظروف بسته بندي و فرآورده هاي غذايي بسته بندي شده در فيلمهاي شفاف مي باشد. از اين روش مي توان جهت از بين بردن ميكرو ارگانيسمهاي روي سطح ظرف بسته بندي در سيستم اسپتيك استفاده نمود. مواد غذايي كه در اين ظروف بسته بندي مي شوند ممكن است شامل مواد غذايي مایع، مواد غذايي جامد نظیر گوشت و ماهي و نیز فرآورده هاي آردی پخته شده باشند. حرارت توليدشده در اين روش كم است و نابودي ميكروارگانيسمها بر اساس مكانيسم فتوشيميايي و فتوحرارتي صورت مي گيرد. اگرچه تا كنون مطالعات دقيقی صورت نگرفته است، ولي به نظر ميرسد كه پالسه‌هاي نوري اثر نامطلوبي بر ارزش غذايي مواد فرآوردي شونده ندارند. توصيه مي شود مطالعات بيشتري پيرامون اثرات جانبي پالسه‌هاي نوري بر مواد غذايي انجام شود. همچنين، مقايسه راندمان انرژي در اين روش با روش حرارتي و يا ساير روشهاي نگهداري غير حرارتي مي تواند بسيار مفيد و جالب توجه باشد.

فناوري تركيبی در نگهداري مواد غذايي:

اغلب فناوريهاي نگهداري مواد غذايي بر اساس ايجاد تاخير و يا ممانعت از رشد ميكروارگانيسمها طرح ريزي شده اند. اين هدف با كنترل عواملی كه بيشتريين تاثير را بر رشد و بقاي ميكروارگانيسمها دارند نظير فعاليت آبي، پتانسيل اكسیداسيون و احيا وجود سوبسترا، pH، وجود و يا عدم وجود اكسيژن، غلظت مواد محلول عمده و نگهدارنده ها تامين مي شود. غالبا استفاده از عوامل بازدارنده در تركيب با عوامل فوق مي تواند از طريق کاهش استفاده از هر يك از آنها موثر واقع شود. تقاضاي كنوني مصرف كنندگان براي مواد غذايي كه فراوري كمترى را متحمل شده اند و داراي افزودنيهاي كمترى هستند توليد كنندگان مواد غذايي را به سمت انتخاب فناوريهاي ملايمتر نگهداري سوق داده است. تاكنون حدود پنجاه فناوري مختلف تركيبی براي نگهداري مواد غذايي شناسايي شده اند (۵).

اشعه دهی: (Irradiation)

اشعه دهی مواد غذایی نوعی فرآیند «سرد» برای نگهداری غذا محسوب می شود که در طول ۴۵ سال گذشته به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است. این روش ضمن اینکه نتایج سودمندی به همراه دارد، ترکیبات سمی و یا رادیواکتیو در ماده غذایی ایجاد نمی کند. از جمله مزایای این روش می توان به افزایش زمان نگهداری محصولات ریشه ای، ضدعفونی کردن ادویه ها، میوه ها و غلات، کاهش میکروارگانیسمهای عامل فساد، تاخیر در رسیدن میوه ها، بهبود خصوصیات حسی مواد غذایی و تخریب یا کاهش میکروارگانیسمهای بیماریزای غیرقابل اجتناب به ویژه عوامل آلوده کننده مواد غذایی خام با منشا حیوانی اشاره نمود.

بر اساس اتفاق نظر اعضای سازمان غذا و کشاورزی و مجمع کدکس غذایی سازمان بهداشت جهانی در سال ۱۹۸۳، اشعه دهی مواد غذایی به عنوان نوعی فناوری سالم و مؤثر جهت نگهداری غذا پذیرفته شد و برای آن استاندارد عمومی کدکس با کد مخصوصی تدوین گردید. اگر چه استفاده از این فرآیند در دنیا در حال گسترش است، اما عکس العمل منفی کشورهای مختلف مانع از استفاده وسیع آن می شود. روند تجاری شدن فرآیند اشعه دهی به کندی پیش می رود، چرا که اغلب دولتها جهت تایید سلامت مواد غذایی اشعه داده شده به اطلاعات جامعی نیاز دارند. همچنین، برخی از تولیدکنندگان پذیرش آن را به شرط پذیرفته شدن از جانب افکار عمومی می دانند.

اشعه دهی مواد غذایی نوعی روش فیزیکی برای فرآوری محسوب می شود که شامل قرار دادن ماده غذایی بسته بندی شده در برابر اشعه های گاما، اشعه X و الکترون می باشد. اشعه گاما از کبالت ۶۰ یا سزیم ۱۳۷ تهیه می شود. سیستم پرتو الکترونی آسان تر از بقیه روشهای اشعه دهی است. اشعه گاما و X چون در مواد غذایی جامد بیشتر نفوذ می کنند، می توانند در محصولات پالت چینی شده در جعبه های استاندارد استفاده شوند، در حالی که پرتو الکترونی فقط برای جعبه و بسته بندی های ویژه ای مناسبند. میزان تغییرات فیزیکی و شیمیایی ایجاد شده به هنگام قرار گرفتن مواد غذایی در برابر اشعه پرنرژی از طریق انرژی جذب شده اندازه گیری می شود. در فرآیند اشعه دهی به این انرژی دوز جذب شده یا به اختصار دوز گفته می شود که بر حسب واحد کیلو گری (K Gy) اندازه گیری می گردد. یک گری معادل انرژی جذب شده به میزان یک ژول در هر کیلوگرم است. بر اساس دوز پرتوهای یونیزه در فرآیند اشعه دهی، این فرآیند به سه روش انجام می شود.

الف: Radicidation (دوز پرتوهای یونیزه در فرآیند رادیسیداسیون مواد غذایی به اندازه ای است که دیگر نمی توان با استفاده از روش های متداول میکروبیولوژیکی تعداد باکتری های بیماریزا و غیراسپورزای زنده را در مواد غذایی فرآوری شده تعیین کرد. همچنین، می توان از فرآیند رادیسیداسیون جهت غیرفعال کردن انگلها استفاده نمود. دوز اشعه مورد استفاده در این فرآیند نسبتا پایین (در حدود 0.1-8 KGy بوده و برای از بین بردن میکروارگانیسمهای بیماریزا وسایر میکروارگانیسمها (به جز ویروسها) به کار می رود. رادیسیداسیون خصوصا به این علت که میکروارگانیسمهای بیماریزای خاصی را از بین می برد پاستوریزاسیون با اشعه تلقی می شود.

ب: Radurization (دوز پرتوهای یونیزه مورد استفاده در این روش در حدی است که کیفیت غذا را از طریق کاهش قابل توجه تعداد میکروارگانیسمهای زنده عامل فساد افزایش می دهد. این فرآیند با استفاده از دوز حدود 0.4-10 KGy انجام می گیرد و به کمک آن زمان نگهداری محصول افزایش می یابد. رادوریزاسیون هم نوعی پاستوریزاسیون اشعه ای محسوب می شود.

ج: Radapertization (در این روش دوز پرتو یونیزه به مقداری است که تعداد ویا فعالیت میکروارگانیسمهای زنده (به جز ویروسها) تا حد بسیار کمی کاهش می یابد، به طوری که نمی توان با آزمونهای متداول میکروبیولوژیکی تعداد این میکروارگانیسمهای زنده را تشخیص داد. تیمار راداپرتیزاسیون باید به نحوی باشد که بدون توجه به زمان و شرایط نگهداری غذا هیچگونه سم یا فساد با منشا میکروبی در آن رؤیت نشود، مگر اینکه آلودگی ثانویه اتفاق افتاده باشد. دوز اشعه مورد استفاده در این روش حدود 10-50 KGy است که در حد سترون سازی کامل می باشد.

کاربرد اشعه دهی در مواد غذایی مختلف:

میوه ها و سبزیجات:

اشعه دهی فرآیند معتبری برای ممانعت از جوانه زنی محصولاتی نظیر پیاز و سبزیجات می باشد. برای تاخیر در پیری و فرسودگی سبزیجات دوز مجاز 1 KGy، تاخیر در پیری و کاهش فساد میوه ها 2 KGy می باشد. همچنین، استفاده 2 KGy در میوه هایی مانند توت فرنگی باعث جلوگیری از فساد کپکی و باکتریایی می شود. **گیاهان دارویی و ادویه ها:**

برای کنترل میکروارگانیسمهای پاتوژن در گیاهان دارویی و ادویه ها میزان اشعه 10 KGy لازم است. **فرآورده های گوشتی:**

دوز اشعه حداقل 10 KGy ، اثر مفیدی در نابود کردن پاتوژنهایی مانند Salmonella و Campylobacter E.coli و listeria . monosytogenes دارد. اگرچه این میزان برای نابودی "کلوستریدیوم بوتولینوم" و برخی گونه های دیگر کافی نیست. تحقیقات نشان می دهد اشعه دهی روش مناسبی برای حذف ویروسهای موجود در فرآورده های گوشتی نیست.

غلات:

دوز مجاز اشعه برای جلوگیری از جوانه زنی غلات 1 KGy اعلام شده است. مزیت استفاده از اشعه دهی در غلات، استفاده در مقادیر بالا به جای فومیگاسیون و جایگزینی اوزون با متیل بروماید می باشد. **مزایا و محدودیتها:**

اشعه دهی مواد غذایی، همانند سایر روشهای نگهداری مزایا و محدودیتهایی دارد، که البته مزایا و مضرات آن کمتر از حدی است که طرفداران و منتقدان آن بیان می کنند. پژوهشهای تکمیلی روی این روش انجام شده و طبق آن فرآوری مواد غذایی با استفاده اشعه یونیزه مزایای زیر را دارد:

- کیفیت مواد غذایی را تا مدت زمانهای مختلف ثابت نگاه می دارد.
- هیچ باقیمانده سمی در مواد غذایی نمی گذارد.
- ارزش تغذیه ای مواد غذایی حفظ می شود.
- رسیدگی، پیری و جوانه زنی میوه ها و سبزیهای تازه را کنترل می کند.
- کیفیت حسی مواد غذایی به خصوص نسبت به سایر روشها به نحو بهتری حفظ می گردد.
- برای غذاهای بسته بندی شده و منجمد هم کاربرد دارد.
- مواد غذایی را عاری از وجود باکتریهای بیماریزا، مخمرها، کپکها و حشرات می کند.

محدودیت های این روش نیز چنین بیان شده:

*عیب آشکار این روش در مقایسه با فرآوری حرارتی عدم قابلیت آن در جلوگیری از فعالیت آنزیمی می باشد. البته اگر دوز مناسب اشعه همراه با سایر روشهای نگهداری (نظیر بلانچینگ) به کار رود، می توان محصولاتی با عمر نگهداری با عمر نگهداری چندین سال در خارج از یخچال تولید کرد .

*ممکن است برخی از میکروارگانیسمها در برابر اشعه دهی مقاوم باشند. که در این صورت تلفیق با روشهای دیگر نگهداری توصیه می شود. مقاومت میکروارگانیسمهای مختلف به اشعه دهی معمولاً به ترتیب زیر است:

ویروسها > مخمرها = اسپورها > کپکها = گرم مثبت ها > گرم منفی ها

استفاده از ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی در نگهداری مواد غذایی

افزودنیها بنا به دلایل مختلفی در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرند. این دلایل عبارتند از: افزایش زمان ماندگاری، ایجاد رنگ، ایجاد طعم، بهبود بافت و یا ارزش تغذیه ای ماده غذایی. بر اساس تعریف وزارت دارو و غذای امریکا از نگهدارنده های شیمیایی، نگهدارنده شیمیایی عبارت است از: « هر نوع ماده شیمیایی که وقتی به ماده غذایی افزوده شود سبب افزایش طول عمر و یا به تعویق انداختن زمان فساد آن می گردد. البته، این مواد شامل نمک طعام، شکر، سرکه ها، ادویه ها و روغنهای حاصل از آنها و نیز موادی که ماده غذایی به طور مستقیم در معرض آنها قرار داده می شود نظیر ترکیبات دودی حاصل از چوب و یا مواد شیمیایی آفت کش و حشره کش نمی شود»

الف) ترکیبات شیمیایی با خواص ضد میکروبی

۱- اسیدهای آلی: یکی از بهترین روشهای ممانعت از فعالیت میکروارگانیسمهای مشکل ساز در دمای اتاق کاهش pH است. این کار توسط افزودن اسیدهای آلی مثل:

***اسید بنزوئیک:** یکی از قدیمیترین مواد شیمیایی مورد استفاده در مواد غذایی، دارویی و آرایشی اسید بنزوئیک است. نمک سدیم اسید بنزوئیک به صورت طبیعی در آلوئ خشک، دارچین، تمشک، سیب، توت فرنگی و ماست وجود دارد. برخی از مواد غذایی که به کمک اسید بنزوئیک و بنزوات سدیم قابل نگهداری هستند عبارتند از: آبمیوه ها، شربت سیب، نوشیدنیهای کربناته و غیر کربناته، محصولات آردی پخته شده، سسهای سالاد، مارگارین، کچاپ گوجه فرنگی، سالاد میوه، ساورکرات، مربا و ژله. اسد بنزوئیک و بنزوات سدیم به عنوان قارچ کش نیز عمل می کنند و جهت جلوگیری از بیماریهای پس از برداشت میوه ها و سبزیها به کار می روند. اسید بنزوئیک و بنزوات سدیم جزو لیست GRAS1 بوده و بهترین افزودنی جهت نگهداری مواد غذایی با pH کمتر از ۴٫۵ می باشند. در غذاهای اسیدی بنزوات به عنوان ترکیب ممانعت کننده از رشد کپک و مخمر عمل می نماید.

***اسید سوربیک:** اسید سوربیک نیز یک ترکیب طبیعی در مواد غذایی است که نمکهای پتاسیم، سدیم و کلسیم آن برای نگهداری مواد غذایی استفاده می شود. حداکثر مصرف مجاز سوربات در مواد غذایی ۰٫۲٪ است. بیشترین اثر اسید سوربیک در pH زیر ۶ ظاهر می شود. بیشتر بر کپک و مخمر مؤثرند.

باکتریهای حساس به سوربات عبارتند از St.aureus، Salmonella، Coliform ها، باکتریهای سایکروتروف عامل فساد و Vibrio.parahaemolyticus وجود سوربات تخریب حرارتی اسپورها را تسهیل می کند. فعالیت آنزیمهایی نظیر سوکسینات، دهیدروژناز، فوماراز و آسپارتاز به کمک سوربات متوقف می شود. در فرآورده های لبنی مخصوصا پنیر، کیک و کلوچه، سبزیهای تخمیری، میوه های خشک شده و مربا و ژله، نوشیدنیها، مایونز و فرآورده های گوشت و ماهی نظیر ماهی شور شده و دودی و سوسیسهای خشک کاربرد دارد. همچنین، به عنوان ماده ضد بوتولیسم در فرآورده های گوشتی به کار می روند. با توجه به خطرزا بودن نیتريت و نیتروزآمینها برای سلامت مصرف کننده، می توان با استفاده توام از سوربات و نیتريت غلظت نیتريت مصرفی را در فرآورده های گوشتی کاهش داد.

***اسید پروپیونیک:** نمکهای اسید پروپیونیک طعم پنیری در محصول بوجود می آورند. پروپیوناتها در pH بالای ۵٫۵ اثر می کنند. به طور طبیعی در پنیر و دستگاه گوارش نشخوارکنندگان وجود دارد. اثر ممانعت کنندگی روی کپکها دارند.

***اسید استیک:** جزو لیست GRAS بوده و به عنوان ماده اسیدی کننده و طعم دهنده در میوه ها و سبزیهای کنسرو شده، مایونز، سسهای سالاد و سوسیسها کاربرد دارد. اثر ممانعت کنندگی اسیداستیک روی باکتریها به مراتب شدیدتر از کپکها و مخمرهاست. این اسید از رشد کپکهای Aspergillus و Rhizopus در نان جلوگیری می کند.

***اسید سیتریک:** مهمترین اسید آلی مورد استفاده در صنایع غذایی است. از اسید سیتریک به عنوان نمونه استاندارد در بررسی اثر سایر اسیدها بر مواد غذایی استفاده می شود. این اسید یک پیش ساز دی استیل محسوب می شود، لذا از آن جهت بهبود طعم فرآورده های لبنی کشت داده شده استفاده می شود. در مواد غذایی نظیر بستنی، شربت، سسهای سالاد، میوه های نگهداری شده، مربا و ژله استفاده می شود.

***اسید لاکتیک:** نوعی افزودنی GRAS است که در ساخت شیرینیها، افزودنیهای لبنی و فرآورده های گوشتی، آبجو، شراب، نوشیدنیها، فرآورده های پخته شده غلات و لاکتیلتهای کلسیم و پتاسیم که جهت بهبود خواص خمیر در صنایع غلات کاربرد دارند استفاده می شود.

***اسید مالیک:** افزودنی GRAS است که در فرآورده های غذایی شامل نوشیدنیهای بدون کالری، آب نباتهای سخت، گوجه فرنگی کنسرو شده استفاده می شود.

***اسید فوماریک:** طعم اسیدی قوی ایجاد می کند و همراه با برخی از مواد طعم دهنده دیگر جهت تشدید پس مزه آنها به کار می رود. اسید فوماریک به طور طبیعی در برنج، نیشکر، شراب، برگ گیاهان، قارچها و ژلاتین یافت می شود. از اسید فوماریک در نوشیدنیهای میوه ای، دسرهای ژلاتینی،

پرکننده های مغز کلوجه، نان چاودار و خمیرهای سرد شده در بیسکویت استفاده می شود .
تنها اسید معدنی که در صنایع غذایی کاربرد وسیعی دارد اسید فسفریک است. این اسید در مقایسه با سایر اسیدهای خوراکی pH پایینتری ایجاد می کند. از این اسید جهت اسیدی کردن مواد غذایی، ایجاد حالت بافر، ایجاد طعم اسیدی استفاده می گردد. در تولید نوشابه های گازدار نظیر نوشابه های کولا و آبجوی تهیه شده از ریشه های گیاهی استفاده می شود. همچنین، در تولید پنیر جهت تنظیم pH و در مربا و ژله هم کاربرد دارد .

۲- سولفیتها و دی اکسید گوگرد: باکتریها در مقابل مقدار ناچیز دی اکسید گوگرد (25-50 ppm) حساس هستند، در واقع باکتریها از کپک و مخمر حساسترند. استفاده رایج SO₂ در صنایع شراب سازی برای جلوگیری از رشد باکتریهای استیک و کپک و مخمر و در میوه های خشک شده برای جلوگیری از رشد باکتریها و قهوه ای شدن است. در بسیاری از کشورها به عنوان آنتی اکسیدان در گوشت های عمل آوری شده و به عنوان رنگبر در عصاره آلبالو استفاده می شود. دی اکسید گوگرد تا چندی پیش (که نتایج پژوهشها مشخص ساختند مقادیر نسبتا کم سولفیت سبب بروز مشکلات تنفسی می گردد) جزو لیست GRAS بوده است .

۳- نیتريت و نیتراتها: نیتريت و نیترات برای تثبیت رنگ قرمز گوشت و ممانعت از رشد Cl.botulinum در گوشت های بسته بندی شده استفاده می شوند. نیتراتها خود نسبتا غیر سمی هستند، اما می توانند توسط باکتریها در بزاق دهان به نیتريت تبدیل بشوند. نیتريتها در معده می توانند با پروتئین های غذا واکنش دهند و به ترکیبات N-nitroso تبدیل شوند. این ترکیبات اغلب در گوشت پخته که حاوی نیتريت و نیترات هستند به ویژه وقتی حرارت بالا داده می شوند، رویت می شود . چون نیتروز آمین موجب سرطان زایی می شود، میزان مصرف نیتريت و نیترات از پیش تعیین شده است. یکی از معایب استفاده از نیتريت پایداری حرارتی کم و عمر انباری کوتاه آن می باشد .

۴- نگهدارنده های طبیعی غذا :

از مواردی که موجب نگرانی مصرف کننده می شود استفاده از نگهدارنده ها و افزودنیهای شیمیایی و آنتی اکسیدانهای سنتتیک در مواد غذایی می باشد. نگهدارنده های طبیعی که به طور طبیعی در غذا موجودند، با روشهای مختلفی باعث افزایش عمر نگهداری محصول می شوند. برخی خاصیت آنتی میکروبی دارند و از فساد مواد غذایی و فعالیت باکتریهای پاتوژن جلوگیری می کنند. برخی ضد قارچ هستند و از فعالیت کپک و مخمر جلوگیری می کنند و بعضی هم به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند .

الف) آنزیمهای آنتی میکروب :

*لاکتوپراکسیداز: لاکتوپراکسیداز فراوانترین پراکسیداز موجود در شیر می باشد. مقدار آن در شیر بین 10-30 $\mu\text{g/ml}$ متغیر است. میکروارگانیسمهایی که فعالیتشان تحت تاثیر لاکتوپراکسیداز متوقف می شود عبارتند از: باکتریهای گرم منفی شامل Coliform ، Salmonella و Shiglla و باکتریهای گرم مثبت شامل Stereptococcus و Lactobacillus ویروسها، قارچها و انگلها می باشند. باکتریهای گرم منفی حساستر از گرم مثبت است. از آنزیم لاکتوپراکسیداز در نگهداری شیر، غذای کودک و تخم مرغ کامل مایع استفاده می شود. با بکار گیری لاکتوپراکسیداز زمان ماندگاری شیر پاستوریزه ۲۰ روز افزایش می یابد.

*لیزوزیم: لیزوزیم نوعی آنزیم تجزیه کننده است که به طور طبیعی در شیر، سفیده تخم مرغ و انجیر وجود دارد. لیزوزیم اثر ضد میکروبی خود را روی میکروارگانیسمها از طریق تجزیه لایه پپتیدوگلیکان دیواره سلولی آنها می گذارد. از آنجا که باکتریهای گرم مثبت پپتیدوگلیکان بیشتری دارند، نسبت به این آنزیم حساسترند. استفاده از لیزوزیم در اروپا، آسیا و ایالات متحده به عنوان افزودنی غذایی مجاز می باشد. در اروپا از لیزوزیم برای جلوگیری از تورم و تولید گاز توسط Clostridium در پنیرهای سخت استفاده می گردد. ژاپنها نیز از لیزوزیم برای نگهداری خرچنگ، میگو و سایر فرآورده های دریایی، ساشی، ساکی، انواع نودلها، سالاد سیب زمینی و کاستارد استفاده می نمایند.

ب) باکتریوسینها :

باتریوسینها، ماکرومولکولهای حاوی پروتئین هستند که می توانند فعالیت باکتریهای حساس را مهار کنند. کلی سینها باکتریهای E.coli و دیپلوکوکسین و نیسین باکتریوسینهای Lactococcus می باشند. باکتریوسینها میتوانند رشد باکتریهای گرم مثبت، باکتریهای اسپورزا و باکتریهای بیماریزای غذایی نظیر *listeria . monosytogenes* را مهار کنند.

نیسین توسط *Str.lactis* تولید می شود و تنها باکتریوسین مجاز در ایالات متحده است. نیسین در فرآورده های تخمیری شیر اسپورهای گرم مثبت را با افزایش حساسیت آنها به حرارت از بین می برد، همچنین مانع رشد اسپورهای *Cl.botulinum* در *cheese spread* و رشد *Listeria* در *soft cheese* و *cottage cheese* می شود، و از اسپورزایی باکتریهای مولد فساد در کنسرو سبزیجات جلوگیری می کند.

ب) مواد افزودنی با خواص چند منظوره

ادویه ها و روغنهای اساسی

هدف اصلی از افزودن ادویه ها به ماده غذایی ایجاد طعم می باشد. برخی از ادویه ها مانع رشد میکروارگانیسمها می شوند. برای مصرف کننده ادویه های طبیعی با منشأ گیاهی مطلوبتر از افزودنیهای

سنتتیک غذایی می باشد. خود ادویه ها نیز مؤثرتر از عصاره هایشان هستند. بطور کلی، حساسیت میکروارگانیسمهای گرم مثبت بیشتر از انواع گرم منفی است. دارچین، میخک و خردل اثر ممانعت کنندگی شدیدی روی فعالیت میکروارگانیسمها دارند، در حالیکه فلفل سیاه، فلفل قرمز و زنجبیل اثر ضعیفی بر انواع میکروارگانیسمها دارند. اثر ضد میکروبی ادویه ها مربوط به روغن اساسی موجود در آنها می شود. روغنهای اساسی عوامل معطری هستند که محلول در الکل بوده و تا حدی نیز در آب محلول می باشند. همچنین، دارای ترکیبی از عوامل استری، آلدئیدی، کتونی و ترپنی می باشند. از بین روغنهای اساسی شناخته شده در گیاهان تنها برخی از آنها اثر ضد میکروبی مفیدی روی فرآوری غذا دارند، که در : فلفل فرنگی شیرین، عصاره زیتون، دارچین، سیر، میخک، خردل، رزماری و آویشن موجود می باشند. روغنهای اساسی برای مصرف کننده به عنوان نگهدارنده طبیعی مورد پذیرش هستند و GRAS می باشند. اگر چه این ادویه ها و روغنهای اساسی آنها به دلیل بو و طعم شدیدشان دارای محدودیت استفاده در مواد غذایی هستند.

دارچین، فلفل فرنگی شیرین و میخک حاوی اوژنول و آلدئید سینامیک می باشند. ترکیب اصلی روغن اساسی در پونه کوهی، آویشن و کلم پیچ کارواکرول و تیمول می باشد. پیاز حاوی دو ترکیب فنولیک (اسید پروتو کاتکونیک و کاتکل) می باشد. گفته می شود پیاز می تواند در سالادهای حاوی سس مایونز مانع از رشد میکروبهای عامل فساد شود. آلیسین ماده ضد میکروبی موجود در سیر می باشد. استفاده از عصاره سیر با غلظت ۵ % در ماده غذایی از رشد *St.aureus* جلوگیری می کند.

امروزه اثر نگهدارندگی ادویه ها و روغنهای اساسی آنها روی مواد غذایی، به عنوان نگهدارنده طبیعی که مصرف کننده را از سلامت ماده غذایی مطمئن می سازد، تحقیقات زیادی انجام می شود. در سالهای اخیر نیاز به بسته بندی هایی از جنس فیلم های خوراکی ایجاد شده که، این فیلم ها ساخته شده از پروتئین گیاهی یا پروتئین حیوانی مثل زئین ذرت، گلوتن گندم، پروتئین سویا و بادام زمینی، تخم پنبه دانه، آلبومین، ژلاتین، کلاژن، کازئین و پروتئین آب پنیر می باشند. استفاده از فیلمهای خوراکی با خاصیت آنتی میکروبی از موارد مورد مطالعه در بحث بسته بندی مواد غذایی است. از خصوصیات آنتی میکروبی ادویه ها در این قبیل فیلم ها استفاده شده و به عنوان عامل ضد میکروب و نگهدارنده در فیلم های خوراکی استفاده می شود.

بسته بندی های آنتی میکروب یک شکلی از بسته بندی فعال است که می تواند عمر نگهداری محصولات را افزایش دهد و برای مصرف کننده ایمنی و سلامت از نظر وجود عوامل میکروبی فراهم کند. این عمل

در مواد غذایی بسته بندی شده به صورت کاهش و جلوگیری از تاخیر رشد میکروارگانیسمهای پاتوژن اتفاق می افتد. به منظور کنترل میکروارگانیسمهای نامطلوب در مواد غذایی:

- ۱- عوامل آنتی میکروب فرار و غیر فرار می توانند به شکل پلیمرها تهیه شوند.
 - ۲- پوشش یا لایه جذبی پلیمر با خاصیت آنتی میکروبی می تواند استفاده شود.
- ترکیبات متعددی برای فعالیت آنتی میکروبی در غذاهای بسته بندی شده در نظر گرفته می شود که شامل: اسیدهای آلی، لیزوزیم، نیسین، ضدقارچهای مثل Benomyl و Imazulin وادویه ها می باشد. ادویه ها غنی از ترکیبات فنولی مثل اسیدفنولیک و فلاونوئید هستند. عموماً روغنهای اساسی دارای ویژگیهای آنتی باکتریایی قوی در مقابل عوامل پاتوژن غذایی هستند که حاوی غلظت بالای ترکیبات فنولیک مثل کارواکرول، اوژنول و تیمول می باشند.

به عنوان مثال ادویه ها در بسته بندی گوشت گاو باعث کاهش رشد E.coli و گونه های Pseudomonas می شود. ادویه هایی مثل آویشن، رزماری، فلفل و خود سیر دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هم می باشند.

پروتئینهای شیر که اساس فیلم های خوراکی قرار داده می شوند، مقاومت مکانیکی زیادی دارند و در مقابل اکسیژن، چربی و آروما به عنوان مانع و عایق عمل می کنند. گرچه به دلیل ماهیت هیدروفیل بودنشان در مقابل رطوبت مقاومت کمی دارند.

نتیجه گیری

به منظور افزایش وسعت غیر فعال سازی، ترکیب روش PEF با دمای بالا (پاستوریزاسیون) HTST، pH پایین، اوزون، اسیدهای آلی مثل اسید استیک و اسید پروپیونیک، L آلانین، نیسین و کارواکرول بررسی شده است و نتایج موفقیت آمیزی به دست آمده است.

از جمله مزایای روش PEF استفاده از دماهای پایین فرآوری، مصرف کم انرژی، حفظ طعم ماده غذایی، حفظ کیفیت غذا به صورت شبه تازه، غیر فعال سازی میکروارگانیسم های عامل فساد و افزایش مدت ماندگاری مواد غذایی می باشد.

با توجه به اثر تخریبی قابل توجه PEF بر باکتری های مختلف بیماریزا و یا عامل فساد در محصولات لبنی و از طرف دیگر حفظ کیفیت ارگانولپتیک و تغذیه ای محصول، این روش می تواند یک جایگزین امید بخش

برای فرآیند پاستوریزاسیون حرارتی فراهم کند. نظر به تنوع زیاد پارامترهای مؤثر بر فرآیند، نیاز به مطالعه بیشتر به منظور روشن شدن تمامی عوامل اثرگذار و نقش هرکدام برای رسیدن به شرایط استاندارد فرآیند می باشد.

انتشارات زیادی امکان استفاده از PEF بعنوان یک روش مؤثر برای غیرفعال کردن میکرو ارگانیسم ها را نشان داده است. با وجود این تولید و شکل هندسی پالسها، قطبیت پالس، عرض پالس و فاصله های زمانی باید با جزئیات بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد، علاوه بر این پروفیل های درجه حرارت مواد غذایی باید بررسی شوند. نتایج تاثیر PEF روی اسپورها و همچنین مکانیسم های ممکن، هنوز مبهم هستند و در معرض حدس و قیاس می باشند. بنابراین داده های سینتیک و سیستماتیک برای تعیین کردن پتانسیل مستقیم و یا غیرمستقیم تاثیر PEF روی اسپورهای باکتریایی مورد نیاز هستند. همچنین داده های کمی در باره سلامت و کیفیت غذا بعد از فرآیند PEF وجود دارد که باید مطالعه شوند. بطور کلی اثرات میدانهای الکتریکی پالسی بر روی فعالیت آنزیمی، میکروبی، شیمیایی، فیزیکی و ویژگیهای تغذیه ای غذاها نیاز دارد که قبل از اینکه محصولات غذایی بطور صحیح توسط PEF فرآوری شده باشند، بخوبی شناخته شوند. بنابراین برای ملاک قراردادن تحقیق آزمایشگاهی در مقیاس صنعتی، مهم است که مسائل زیر مورد توجه قرار داده شوند:

۱ - هماهنگ شدن (Synchronization) میزان جریان مواد غذایی و تعداد و مدت زمان پالس های میدان الکتریکی.

۲ - قابلیت دسترسی به واحدهای تولید توان و مجموعه خازن برای تخمین سهولت فرآیند.

۳ - به حداقل رساندن گرمای تولید توسط سردکردن غذا و واحد تخلیه الکتریکی.

باوجود این برای طراحی کارخانه های در مقیاس صنعتی، لازم است که آزمایش های مقدماتی در مقیاس کوچک انجام گیرد..

مزیت های روش PEF در فرآوری غذایی:

- نماینده یک جایگزین غیردمایی برای پاستوریزاسیون و استریل سرد
- مطلوب برای افرادی که در مورد استفاده از ماده شیمیایی در غذا حساسند
- تاثیر مضری بر روی اجزای حساس به دما مانند ویتامین ها ندارد

➤ مصرف کم انرژی

➤ غیر فعال سازی میکروارگانیسم های عامل فساد و در نتیجه افزایش ماندگاری

معایب روش PEF:

➤ نیاز به هزینه سرمایه گذاری بالا

➤ در همه فراورده های مایع نتیجه یکسانی ندارد.

➤ تنها قادر به جایگزینی فرایند پاستوریزاسیون بوده و جای استریل را نمیگیرد.

فصل هشتم

منابع

منابع:

۱. نرجس محمدی ، بحیی مقصودلو ، مهدی کاشانی نژاد ، آتنا دهقان ، ۱۳۹۲ ، کاربردهای تکنولوژی میدان های الکتریکی پالسی در صنایع غذایی و بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران ، ۷-۹ آبان ، دانشگاه شیراز
۲. بهرام فتحی آچاچلوئی ، ۱۳۹۲ ، تاثیر میدان های الکتریکی پالسی روی میکروارگانیسم های مواد غذایی به منظور فراوری و تغذیه سالم ، دومین کنگره ملی کشاورزی ارگانیک و مرسوم .
۳. افسانه ضفری، جواد حصاری، بهاره صدرالادبایی و شبنم ایمانی شاه آباد، ۱۳۹۱، دومین سمینار ملی امنیت غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سواد کوه

۴. مسکوکى، عبدالمجيد، و اشتياقى، محمد نقى، ”مقايسه اثر ميدان الكترىكى پالسى و فرايند حرارتى بر انتقال جرم در استخراج قند از چغندر قند“، پژوهش هاي علوم و صنايع غذايى ايران، جلد ۷، شماره ۲، ص. ۱۴۵-۱۵۵، تابستان ۱۳
5. Arvanitoyannis, I. 2006 . Novel Food Processing Technologies. International Journal of Food Science & Technology, 41 , 470-474.
6. Bart roodenburg, 2011, pulsed electric field treatment of packaged food. Ridderprint b. va., netherland, 245pp.
7. Kambiz shamsi and frank sherkat, 2009, application of pulsed electric field in non-thermal processing of milk, Asian journal off food and agro-industry, 2(30), 216-244.
8. Maged and ayman, 2012, pulsed electric fields in food preservation, structure and Function off food engineering, 275-306.
9. Schilling, S., Alber, T., Toepfl, S., et al., “Effects of pulsed electric field treatment of apple mash on juice yield and quality attributes of apple juices, ” Innovative Food Science and Emerging Technologies, 8, pp. 127-134, 2007.
10. Humberto Vega-Mercado, M. Marcela Gongora-Nieto, Gustavo V. Barbosa-Canovas, and Barry G. Swanson, 2007 , *Pulsed Electric Fields in Food Preservation*, 2007 by Taylor & Francis Group, LLC, pp: 1-33
11. Maged E.A. Mohamed and Ayman H. Amer Eissa , Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology, Additional information is available at the end of the chapter <http://dx.doi.org/10.5772/48678>, Chapter 11, pp: 1-32
12. Pereira, R.N., Vicente, A.A., 2010, Environmental impact of novel thermal and non-thermal technologies in food processing, Food Research International 43 (2010) 1936–1943.
13. Profschrift, 2011, Pulsed Electric Fields treatment of packed .
14. <http://www.novelq.org>
15. www.recapt.org
16. Liesbeth, V., Iesel, V. P., Tara, G., Marc, H., Ann, V. L., 2011 , **High pressure and pulsed electric field pasteurisation of orange juice: evaluation of the substantial equivalence to conventional heat pasteurization,**
17. **Kirthy R. M., Penchalaraju M., 2014, Pulsed Electric Field Technology in Food Processing Industry-A Review, International Journal of Science and Research (IJSR), Volume 3 Issue 7, July 2014, page: 1145-1149**
18. Piroška, H. , 2012, Application of pulsed electric field and high hydrostatic pressure technology for the mild preservation of fruit juices , Central Environmental and Food Research Institute Unit of Technology , Budapest
19. Anupam, C., Dipendra, K., Markus, W.R., Milena, C., Lisa, D. , Mansel, W. G., 2014, Change in Color and Volatile Composition of Skim Milk Processed with Pulsed Electric Field and Microfiltration Treatments or Heat Pasteurization , *J.Foods* 2014, 3, 250-268; Page: 250-268 .
20. Bob Y. X., 2008, Effects of Pulsed Electric Fields on Structural Modification and Rheological Properties for Selected Food Proteins , Bob Yongsheng Xiang Department of Bioresource Engineering Macdonald Campus, McGill University Sainte-Anne-de-Bellevue, Québec, Canada , page: 5-16
21. Redondo, L. M., Andrade, J., Santos, J. O., Barros, F. & Pereira, M. T. , 2011, Industrial processing of red and white grapes assisted by Pulsed Electric Fields .
22. Olga A. Cueva , B.S., 2009, PULSED ELECTRIC FIELD INFLUENCES ON ACID TOLERANCE, BILE TOLERANCE, PROTEASE ACTIVITY AND GROWTH CHARACTERISTICS OF *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* LA-K , A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science , pp: 1-62.
23. Ahmed G. , Shesha H. J., Electrode Material Migration During Pulsed Electric Field (PEF) Treatment, *Proc. ESA Annual Meeting on Electrostatics 2011*, 1-9.

24. Dike,U., Hyung-Gyun, Y., Howard, Z., 2010,Behavior of Pulsed Electric Fields Injured *Escherichia coli* O157:H7 Cells in Apple Juice Amended with Pyruvate and Catalase, *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, Volume 2(6): 134-138– 135 .
25. Kambiz Shamsi and Frank Sherkat ,2009,Application of pulsed electric field in non-thermal processing of Milk, *As. J. Food Ag-Ind.* 2009, 2(03), 216-244
26. Maricica S., Liliana M., Daniela B., Petru A.,2013, Non-thermal novel food processing technologies,An overview, *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies* 2013, 19(2), 212-217
27. R.A.H. Timmermans, H.C. Mastwijk, J.J. Knol, M.C.J. Quataert, L. Vervoort, I. Van der Plancken, M.E. Hendrickx, A.M. Matser, ,2011,Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice. Part I: Impact on overall quality attributes *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, INNFOO-00786, pp. 9
28. Maricica S., Gabriela B., Geta C.,2011,Factors that Influence the Electric Field Effects on Fungal Cells ,*Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*,291-302
29. Mathavi, V., Sujatha, G., Bhavani Ramya, S., Karthika Devi, B., 2013, NEW TRENDS IN FOOD PROCESSING , *International Journal of Advances in Engineering & Technology*, Vol. 5, Issue 2, pp. 176-187
30. Adam, M., Maciei, O., Jerzy, M., Tadeusz, T.,Szymon, B.,EFFECT OF PULSED ELECTRIC FIELD (PEF) ON ESCHERICHIA COLI WITHIN THE LIQUID WHOLE EGG , *Bull Vet Inst Pulawy* 48, 371-373, 2004
31. Maciej O., Wiesław K.,2005, PULSED ELECTRIC FIELDS (PEF) AS AN UNCONVENTIONAL METHOD OF FOOD PRESERVATION,, *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2005, Vol. 14/55, SI 1, pp. 31-35
32. Sally R. A., Mohammed F. ,2007, An investigation on pulsed electric fields technology using new treatment chamber design, *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8 (2007) 205– 212
33. Salengke, S., Sastry, S. K. ,Zhang, H. Q., 2012,Pulsed electric field technology: Modeling of electric field and temperature distributions within continuous flow PEF treatment chamber, *International Food Research Journal* 19 (3): 1137-1144 (2012)
34. Wendy K., Ruijin Y., Wei Z., Xiao H. , Mohammed A. A. G.,2014, Optimization of Combined Pulsed Electric Fields and Mild Temperature Processing Conditions for Red Apple Juice Polyphenol Oxidase and Peroxidase Inactivation, *Advance Journal of Food Science and Technology* 6(5): 638-646.
35. Kambiz S.,2008,Effects of Pulsed Electric Field Processing on Microbial, Enzymatic and Physical Attributes of Milk and the Rennet-Induced Milk Gels,A thesis submitted in total fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy School of Applied Sciences College of Science, Engineering and Technology RMIT University.
36. Pramod Kumar Singh, Sunil Kumar, Pavan Kumar and Z.F. Bhat, 2012. Pulsed Light and Pulsed Electric Field-emerging Non Thermal Decontamination of Meat. *American Journal of Food Technology*, 7: 506-516.
37. Barsotti, L. Dumay, E. Mu,T. H. Dolores, M. Diaz ,F. and Cheftel , J. C. 2002. Effects of high voltage electric pulses on proteinbased food constituents and structures. *Trends in Food Science & Technology*.12:136–144.
38. Brennan, J.G. 2006. 7. Pulsed Electric Field Processing, Power Ultrasound and Other Emerging Technologies.*Food Processing Handbook*. Wiely-VCH. 201-213.
39. Fortuny, R. S. Balasa, A. Knorr, D. and Belloso, O. M. 2009. Effects of pulsed electric fields on bioactive compounds in foods: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 20: 544-556.

40. Maged E.A. Mohamed and Ayman H. Amer Eissa. 2012. Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology, Structure and Function of Food Engineering, Prof. Ayman Amer Eissa (Ed.), ISBN: 978-953-51-0695-1, InTech, DOI: 10.5772/48678.
41. Serrano, I. Aguil , I. Aguayo, o. Fortuny, R.S. and Belloso, O.M. 2011. Trends in Food Science and Technology. Pulsed electric fields processing effects on quality and health-related constituents of plantbased foods. Article in Press: 1-10.
42. Toepfl, S. Heinz, V. Knorr ,D. 2005. 4 - Overview of Pulsed Electric Field Processing for Food. Emerging Technologies for Food Processing.69-97.
43. Toepfl, S., 2006, Pulsed Electric Fields (PEF) for Permeabilization of Cell Membranes in Food – and Bioprocessing - Applications, Process and Equipment Design and Cost Analysis., Doctoral Thesis.'