

تأثیر مرحله افزایش دما بر بُعد فرکتال آب لیموترش در فراوری حرارتی به روش مرسوم و امواج مادون قرمز

سارا آقاچانزاده سورکی^{۱*}، امان محمد ضیائی فر^۲، مهدی کاشانی نژاد^۳

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

* نویسنده مسئول (saraaghajanzadeh@yahoo.com)

۲- دانشیار، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان

۳- استاد، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی، گرگان

چکیده

حالت ابری و کدورت در آب لیموترش و سایر مرکبات به عنوان یک خصوصیت مطلوب به شمار می‌رود. پکتین موجود در عصاره مهم‌ترین عامل ایجاد کدورت در این دسته از محصولات است. آنزیم پکتین‌متیل‌استراز (PME) با تجزیه پکتین، موجب از بین رفتن کدورت آبمیوه می‌شود. استفاده از فرایند حرارتی مرسوم‌ترین روش جهت غیرفعال‌سازی PME است. مرحله افزایش دمای محصول (CUT)، اولین مرحله فرایند حرارتی، نقش قابل‌ملاحظه‌ای در غیرفعال‌سازی این آنزیم دارد. هدف از این تحقیق بررسی غیرفعال‌سازی PME، تغییرات میزان کدورت و بُعد فرکتال (FD) طی فراوری آب لیموترش با استفاده از گرمادهی مرسوم (حمام آب گرم) و امواج مادون‌قرمز (IR) در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش دمای نمونه طی هر دو روش به کار برده شده، میزان غیرفعال‌سازی PME و در نتیجه میزان کدورت آبمیوه افزایش یافت. از این رو، ذرات ابری به صورت معلق در نمونه باقی ماندند و میزان تجمع آنها برای تشکیل ساختارهای فرکتالی کاهش یافت که نتیجه آن توزیع یکنواخت‌تر ذرات ابری و کاهش میزان FD بود. به دلیل کوتاه‌تر بودن CUT در گرمادهی با استفاده از امواج IR، میزان فعالیت باقی‌مانده PME و FD بیشتر از روش گرمادهی مرسوم بود.

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۸/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۲۶

واژه‌های کلیدی

آب لیموترش

آنزیم پکتین‌متیل‌استراز

امواج مادون‌قرمز

بُعد فرکتال

مرحله افزایش دمای محصول

مقدمه

رسیده، قابلیت خوراکی دارد (Ziena, 2000). لیموترش به دلیل محتوای بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نقش مؤثری در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و اکسایش فعال ایفا می‌کند، بنابراین در کاهش خطر ابتلا به انواع سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی و عروقی مفید است (Di Majo et al., 2005; Colle et al., 2010). علاوه بر ارزش تغذیه‌ای، داشتن ظاهری مطلوب از عوامل مهم در فروش محصولات غذایی است که دلیل آن وجود

لیموترش^۱ میوه‌ای متعلق به خانواده مرکبات است که به دلیل داشتن طعمی مطلوب به عنوان طعم‌دهنده در تهیه محصولات غذایی مختلف به کار برده می‌شود. در زمان رسیدگی کامل، رنگ سبز لیمو به زرد تغییر می‌یابد؛ اما این میوه در هر دو مرحله رشد، نارس و

¹ Citrus aurantifolia

در آب مرکبات برخلاف سایر محصولات، کدورت و حالت ابری به‌عنوان یک ویژگی مطلوب در نظر گرفته می‌شود که در کیفیت، طعم، رنگ و احساس دهانی این دسته از محصولات و بازار پسندی آنها نقش بسزایی دارد (Tiwari et al., 2009; Galant et al., 2014). پکتین موجود در آبمیوه نقش زیادی در بروز کدورت و حالت ابری محصول دارد (Kimball, 1991). بسیاری از گروه‌های کربوکسیل موجود در ساختار پکتین با متانول استریفه شده و گروه‌های متوکسیل را تشکیل می‌دهند. این گروه‌های متوکسیل مانع از انجام بسیاری از واکنش‌ها از قبیل پلیمره شدن^۶ یا ژلاتینه شدن^۷ می‌شوند. پکتین متیل‌استراز^۸ (PME) (E.C.3.1.1.11) که تحت عناوین پکتیناز^۹، پکتین‌استراز^{۱۰} و پکتین-متوکسیلاز^{۱۱} نیز شناخته می‌شود به‌طور طبیعی در گیاهان عالی مانند مرکبات وجود دارد. این آنزیم با شکستن گروه‌های استری، متیل گالاکتورونیک اسید را به تدریج تجزیه کرده و موجب کاهش درجه استریفه آن می‌شود که حاصل واکنش پکتین دمتیله شده با یون‌های کلسیم، تولید پکتات کلسیم نامحلول است (Aghajanzadeh et al., 2016; Iftikhar et al., 2014). بنابراین علاوه بر نقش این آنزیم در فرایند تکامل فیزیولوژیکی گیاه مانند انبساط سلول‌ها در زمان رشد و رسیدگی میوه‌ها و سبزیجات، می‌توان به تأثیر آن بر برخی خواص محصول مانند حالت ابری، رنگ، ویسکوزیته و پایداری آب مرکبات نیز اشاره نمود (Kimball, 1991; Aghajanzadeh et al., 2016).

کنترل فعالیت میکروبی و آنزیمی فراورده‌های حاصل از مرکبات به‌منظور حفظ و یا افزایش کیفیت، ایمنی و مدت زمان ماندگاری محصول انجام می‌گیرد که یکی از مرسوم‌ترین روش‌های مورد استفاده برای این منظور فراوری حرارتی است. باتوجه به مقاومت حرارتی بالاتر آنزیم پکتین‌متیل‌استراز نسبت به میکروارگانسیم‌های عامل فساد، این آنزیم به‌عنوان شاخص سالم‌سازی فراورده‌های حاصل از مرکبات در

ارتباط میان رنگ و ترکیبات مختلف شیمیایی موجود در محصول می‌باشد. بُعد فرکتالی یا فرکتال^۱ (FD) یک روش کارآمد در بررسی و مطالعه تغییرات رنگ و ساختار محصولات غذایی است (Quevedo et al., 2002; Quevedo et al., 2009a; Quevedo et al., 2009b; Quevedo et al., 2009c; Valous et al., 2009). این عبارت نخستین بار توسط یک ریاضیدان لهستانی به نام مندلیبرات^۲ (۱۹۷۷) برای نمایش اشکال فاقد بُعد یا خود متشابه^۳ به‌کاربرده شد (Lopes & Betrouni, 2009). به‌طور کلی جسمی خود متشابه خوانده می‌شود که قسمت‌هایی از آن با یک مقیاس معلوم، نمونه‌ای از کل جسم باشد. FD نشان‌گر میزان ناهمواری و پیچیدگی‌های جسم است به گونه‌ای که هر چه ساختار جسم ناهمگن‌تر و ناهموارتر باشد، میزان FD افزایش می‌یابد (Quevedo et al., 2002). در مطالعات مختلف باتوجه به ارتباط میان تغییرات فیزیکی و ساختاری بر میزان این مؤلفه، اثر شرایط فرایند روی FD محصولات مختلف غذایی بررسی شده است. برای مثال مطالعه FD ژامبون برش داده شده، نشان داده است که بافت این محصول تحت تأثیر فرمولاسیون و شرایط فراوری است (Valous et al., 2009). همچنین در بررسی تغییرات شدت رنگ قرمز گوشت طی اکسیداسیون به‌عنوان شاخص تغییر رنگ در ارتباط با محتوای مت‌میوگلوبین^۴ و تیوباریوتیک اسید^۵ (TBARS) به‌کاربرده شد (Quevedo et al., 2013). FD به‌عنوان شاخصی جهت توصیف واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی پوره آووکادو و برش‌های گلابی، سیب، موز و آووکادو استفاده شده است (Quevedo et al., 2009a; Quevedo et al., 2009b; Quevedo et al., 2009c; Quevedo et al., 2008; Quevedo et al., 2011). همچنین تشکیل ساختارهای فرکتالی ناشی از تجمع ذرات کلئیدی در درک و بررسی ساختار، تجمع و پایداری ذرات مؤثر بر حالت ابری آب سیب مورد مطالعه قرار گرفته است (Benitez et al., 2010; Beveridge, 1998).

⁶ Polymerization

⁷ Gelatinization

⁸ Pectin Methyl-esterase

⁹ Pectinase

¹⁰ Pectin Esterase

¹¹ Pectin Methoxylase

¹ Fractal Dimension

² Mandelbrot

³ Self- similar

⁴ Metmyoglobin

⁵ Thiobarbituric Acid

روش‌های مرسوم حرارتی دارای مزایایی از جمله نفوذ مستقیم حرارت، بازده بالای انرژی، سادگی تجهیزات، کوتاه‌تر بودن زمان فرایند، گرمادهی یکنواخت، حفظ بیش‌تر ترکیبات مغذی و خواص فیزیکی محصول می‌باشد (Rastogi, 2012). استفاده از IR در صنعت غذا جهت خشک کردن (Mongpraneet *et al.*, 2002; Nimmol *et al.*, 2007; Ozkoc *et al.*; 2009; پخت (Turabi *et al.*, 2008; Braeckman *et al.*, 2009 برشته کردن (Kim *et al.*, 2006; Uysal *et al.*, 2009) رفع انجماد (Hong *et al.*, 2009; Seyhun *et al.*, 2009) و آنزیم‌بری (Zhu & Pan, 2009) و غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها (Krishnamurthy *et al.*, 2008; Rastogi, 2012) مورد مطالعه قرار گرفته است.

علی‌رغم مزایای ذکر شده، تنها مطالعات محدودی پیرامون فراوری حرارتی آبمیوه‌ها با استفاده از امواج IR انجام گرفته است. از طرفی تاکنون بررسی روی تغییرات بُعد فرکتال آبمیوه‌ها طی فراوری حرارتی انجام نشده است. با توجه به اهمیت CUT محصول، هدف از این تحقیق بررسی و مقایسه میزان غیرفعال‌سازی آنزیم پکتین‌متیل‌استراز، میزان کدورت و اثر آنها بر تغییرات بُعد فرکتال طی CUT در فراوری حرارتی آب لیموترش به روش مرسوم و با استفاده از امواج IR می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی آب لیموترش

لیموترش‌های تازه با وزن $30/47 \pm 2/06$ گرم در مرحله رسیدگی کامل (زرد رنگ) از بازار محلی شهرستان گرگان (استان گلستان) خریداری و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از شست‌وشو و نصف کردن میوه‌ها، عمل عصاره‌گیری با آبمیوه‌گیری دستی انجام شد. به منظور جداسازی ذرات معلق پالپ و اجزای بافت، عصاره میوه از صافی با مش ۱۷۰ عبور داده و بلافاصله نمونه‌ها گرمادهی شدند.

نظر گرفته می‌شود (Yildiz & Baysal, 2006; Polydera *et al.*, 2004). محققان بیان کردند پایداری حالت ابری و حفظ کدورت آب پرتقال با میزان فعالیت PME در ارتباط است (Lacroix *et al.*, 2005; Tiwari *et al.*, 2009). به طوری که میزان فعالیت باقی‌مانده آنزیم پکتین‌متیل‌استراز را در پایداری آبمیوه از نظر تجاری مؤثر دانستند (Rothschild *et al.*, 1975; Holland *et al.*, 1976).

به طور کلی غیرفعال‌سازی آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها در مرحله افزایش دمای محصول^۱ (CUT) و گرمادهی در دمای ثابت^۲ رخ می‌دهد به طوری که Ball (۱۹۲۳) میزان اثر مرحله CUT را ۴۲٪ تخمین زد. اما در بررسی انجام شده توسط Tajchakavit و Ramaswamy (۱۹۹۷) میزان تأثیر این مرحله در غیرفعال‌سازی PME طی فراوری حرارتی آب پرتقال در دماهای ۷۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد بین ۴۶٪ تا ۵۸٪ گزارش شد. همچنین میزان اثر این مرحله در غیرفعال‌سازی PME موجود در آب نارنج طی فراوری حرارتی در دماهای ۶۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد بین ۴۵/۹۷٪ تا ۶۱/۳۰٪ محاسبه شد (Aghajanzadeh *et al.*, 2016). از این جهت در نظر گرفتن میزان اثر مرحله CUT در فرایندهای حرارتی موجب جلوگیری از اتلاف انرژی، افت ارزش غذایی و کیفی ناشی از گرمادهی بیش از حد محصول و در نتیجه افزایش بازارپسندی آن می‌گردد. اما طولانی بودن زمان فراوری حرارتی به روش مرسوم می‌تواند اثرات نامطلوبی بر ارزش غذایی همچنین بر خواص ظاهری، بافتی و ارگانولپتیکی محصول داشته باشد (Fachin *et al.*, 2002; Ling *et al.*, 2015). از این رو، روش‌های مختلف فراوری مواد غذایی از جمله استفاده از امواج مادون‌قرمز^۳ (IR)، جهت کاهش و یا حذف محدودیت‌های روش‌های معمول تیمار حرارتی معرفی و مورد استفاده قرار گرفتند. امواج IR که بخشی از طیف امواج الکترومغناطیس را شامل می‌شوند، دارای طول موجی بین ۰/۷۸ تا ۱۰۰۰ میکرومتر می‌باشند (Rastogi, 2012). استفاده از این امواج نسبت به

^۱ Come Up Time

^۲ Holding Time

^۳ Infrared Radiation

فرایند حرارتی

فراوری حرارتی در حمام آب گرم

در این بررسی ۳۰ میلی‌لیتر آب لیموترش به یک بشر با ظرفیت ۱۰۰ میلی‌لیتر انتقال داده و در حمام آب گرم (WNB-22, Memmert, Germany, 1800 W) در دماهای ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد گرمادهی شد. با قرار دادن ترموکوپل از نوع T با ضخامت یک میلی‌متر در نقطه سرد ظرف حاوی آبمیوه (در حدود یک سوم انتهایی) پروفایل دما-زمان نمونه تعیین گردید. دمای نمونه در هر ثانیه توسط سیستم ثبت کننده داده‌های دمایی^۱ (TC-08, Pichotechnology) (Co, UK) به رایانه انتقال داده و ثبت شد.

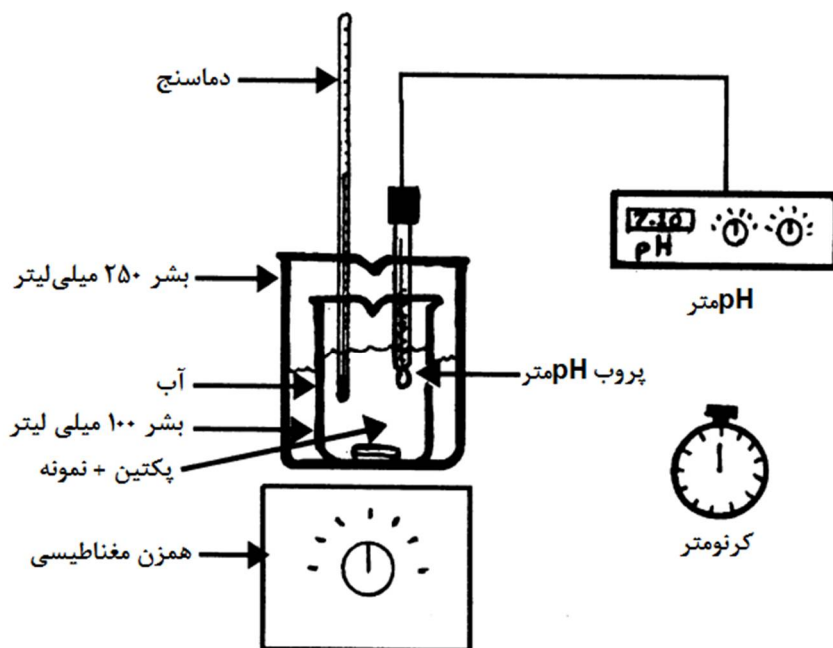
فراوری حرارتی با استفاده از امواج مادون‌قرمز

در این بررسی از سیستم مجهز به لامپ IR (توان ۱۵۰۰ وات و ولتاژ ۲۳۰ ولت) استفاده شد. تنظیم و ثابت نگاه داشتن دمای نمونه (± 1 درجه سانتی‌گراد) با استفاده از دستگاه کنترل کننده دما^۲ انجام شد. این دستگاه مجهز به ترموکوپل از نوع T می‌باشد که جهت تنظیم دما، این ترموکوپل در ظرف حاوی نمونه قرار داده می‌شود. جریان برق ورودی به لامپ توسط اتصال آن به کنترل کننده دما تنظیم می‌شود. بدین صورت که

با رسیدن دمای نمونه به دمای موردنظر، دستگاه کنترل کننده دما جریان برق ورودی به لامپ را قطع می‌کند و در صورت کاهش دما به کمتر از دمای موردنظر، دستگاه جریان برق ورودی را مجدداً وصل می‌کند. فاصله میان سطح لامپ و سطح نمونه در بشر در تمامی آزمایش‌ها ثابت و در حداقل فاصله ممکن (معادل ۸/۵ سانتی‌متر) تنظیم شد. به دلیل عمق نفوذ محدود این امواج، نمونه هر ۱۵ ثانیه جهت گرمادهی یکنواخت هم‌زده می‌شود. سایر شرایط آزمایش از قبیل دمای فرایند، حجم نمونه و خصوصیات ظرف، همانند فراوری حرارتی در حمام آب گرم بود.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز

در این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز^۳ (PEU) از روش کیمبال استفاده شد (Kimball, 1991). طبق این روش ۲۰ میلی‌لیتر محلول نمکی پکتین (محلول یک لیتری حاوی ۱۰ گرم پکتین و ۱۵/۳ گرم نمک سدیم کلرید) به ۵ میلی‌لیتر آبمیوه موجود در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتری اضافه شد. باتوجه به اثر دما در تعیین فعالیت این آنزیم طی آزمون بشر حاوی نمونه، داخل یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی آب قرار داده شد (شکل ۱).



شکل ۱- تجهیزات مورد نیاز جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز.

¹ Data Logger

² Thermocontroller

³ Pectin-Esterase-Unit

لگاریتم اندازه جعبه‌ها (Log (r)) و بر اساس رابطه (۲) محاسبه می‌شود.

رابطه (۲)

$$FD = -\lim_{r \rightarrow 0} \frac{\log(N(r))}{\log(r)}$$

جهت مطالعه میزان تغییرات FD نمونه طی فرایند حرارتی، بُعد فرکتال نرمال شده^۳ با استفاده از رابطه (۳) محاسبه شد (Kerdpi boon & Devahastin, 2007):

رابطه (۳)

$$\frac{\Delta FD}{FD_0} = \frac{FD - FD_0}{FD_0}$$

که در این رابطه، FD_0 و FD به ترتیب نشان‌گر بُعد فرکتال آب لیموترش تازه و فراوری شده در دمای مورد نظر است.

تجزیه و تحلیل آماری

در این بررسی اثر فرایند در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار بررسی شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Microsoft Office Excel 2010 و جهت آنالیز نتایج به دست آمده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۱ استفاده شد. میانگین‌ها به روش دانکن در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) مقایسه و به صورت Mean \pm SD ارائه شدند.

نتایج و بحث

تغییرات دمای نمونه طی مرحله افزایش دما آب لیموترش در گروه محصولات غذایی با اسیدیته^۴ بالا^۴ ($pH < 2.17$) طبقه‌بندی می‌شود، از این رو از گرمادهی در دمای زیر ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جهت سالم‌سازی و افزایش مدت زمان ماندگاری آن استفاده می‌گردد. شکل (۲- الف و ب) به ترتیب نشان‌دهنده روند افزایش دمای محصول طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج IR است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود طی مرحله CUT، دمای نمونه از دمای اولیه (۲۵ درجه سانتی‌گراد) به دمای فرایند (۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد) می‌رسد. طی فراوری حرارتی در

همچنین دمای نمونه با استفاده از یک گرم‌کن مغناطیسی^۱ به صورت یکنواخت روی ۳۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم و حفظ گردید. پس از رساندن pH محلول با استفاده از سود ۲ نرمال به حدود ۷، با کمک سود رقیق‌تر (۰/۰۵ نرمال) pH محلول روی ۷/۷ تنظیم شد. پس از آن ۰/۱ میلی‌لیتر سود ۰/۰۵ نرمال به صورت یکباره به نمونه اضافه شد. با جای‌گذاری زمان برگشت pH به میزان ۷/۷ در رابطه (۱)، میزان فعالیت این آنزیم بر حسب (unit/ml) محاسبه می‌شود.

رابطه (۱)

$$PEU = \frac{(\text{حجم سود}) \times (\text{نرمالیه سود})}{(\text{زمان بازگشت بر حسب دقیقه}) \times (\text{حجم نمونه})}$$

اندازه‌گیری اندیس ابری شدن

جهت اندازه‌گیری اندیس ابری شدن آب لیموترش، ۵ میلی‌لیتر آبمیوه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) شد. سپس جذب محلول فوقانی نمونه^۵ سانتریفیوژ شده در طیف‌سنج (T-80, UV/VIS Double Beam Spectrophotometer) در طول موج ۶۶۰ نانومتر خوانده شد (Versteeg *et al.*, 1980).

محاسبه بُعد فرکتال

اندازه‌گیری و مطالعه FD با استفاده از روش شمارش جعبه^۲ و با کمک نرم‌افزار Image J (نسخه ۱/۴۷) انجام گرفت (Russell *et al.*, 1980). برای این منظور ۱۵ میلی‌لیتر آبمیوه به یک پلیت (ارتفاع ۱ سانتی‌متر و قطر ۶ سانتی‌متر) انتقال یافت و تصویر آن به کمک اسکنر (HP Scanjet G2710)، پوشانیده شده با یک پارچه کاملاً سیاه و ضخیم به منظور جلوگیری از ورود هرگونه نور از محیط خارج، اسکن شد. تصاویر با وضوح ۶۰۰ dpi و با فرمت JPEG ذخیره شدند. روش شمارش جعبه مرسوم‌ترین روش در اندازه‌گیری FD است که با رسم منحنی لگاریتم تعداد جعبه‌های مورد نیاز جهت پوشش‌دهی تصویر مورد نظر (Log (N(r))) در برابر

³ Normalized Fractal Dimensions

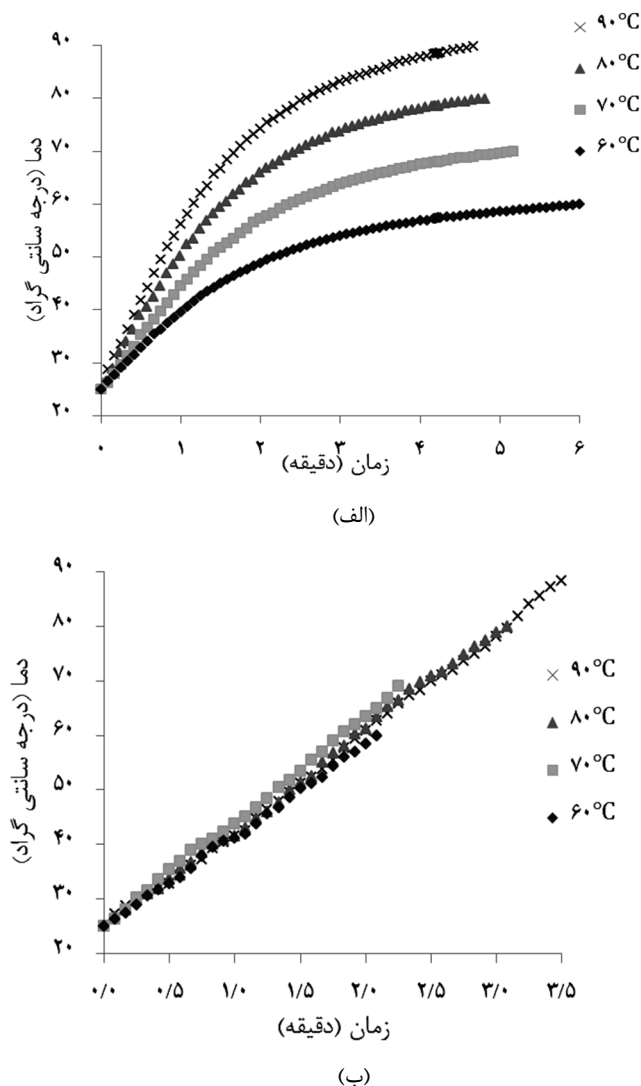
⁴ High Acid Food Products

¹ Magnet Stirrer

² Box Counting Method

استفاده از IR بسیار بالاتر است. به همین علت در تمامی دماهای مورد بررسی، مدت زمان این مرحله در گرمادهی با استفاده از امواج IR کمتر از روش دیگر می‌باشد.

حمام آب گرم برخلاف استفاده از امواج IR، CUT با افزایش دمای فرایند کاهش می‌یابد. باتوجه به شیب منحنی دما-زمان هر دو روش به کار برده شده، می‌توان بیان نمود که نرخ تغییرات دمایی در گرمادهی با



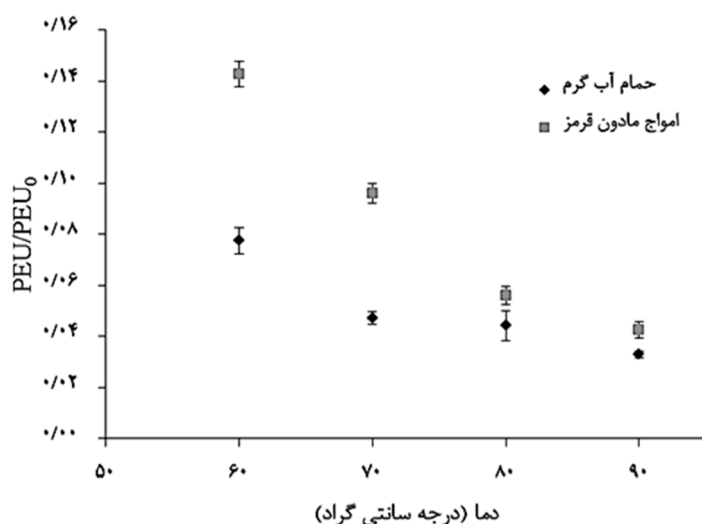
شکل ۲- تغییرات دمای آب لیموترش طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم (الف) و با استفاده از امواج مادون قرمز (ب) در مرحله افزایش دمای محصول.

دماهای بالای ۴۰ درجه سانتی گراد، شکستن پیوندهای هیدروژنی، باز شدن ساختار چهارم پروتئینی و تجزیه آمینواسیدهای ساختاری آنزیم رخ می‌دهد (Tanaka & Hoshino, 2003; Jabbar *et al.*, 2014; Tomberg, 2005). نتایج این بررسی نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم با افزایش دمای فرایند طی فراوری آب لیموترش در حمام آب گرم و نیز با استفاده از امواج IR کاهش یافت (شکل ۳). نوع روش و همچنین دمای

غیرفعال سازی آنزیم پکتین متیل استراز میزان فعالیت آنزیم پکتین متیل استراز آب لیموترش تازه ۰/۰۱۳ واحد (PEU) بود. میزان فعالیت PME نقش مهمی در پایداری آب مرکبات ایفا می‌کند (Rothschild *et al.*, 1975; Holland *et al.*, 1976). به دلیل داشتن ساختار پروتئینی، تمامی آنزیم‌ها به تغییرات دمایی حساس می‌باشند به طوری که در

سانتی‌گراد، اختلاف کمی میان میزان فعالیت باقی‌مانده آنزیم در دو روش گرمادهی مشاهده شد. احتمالاً دلیل این امر را می‌توان به تخریب بخش اعظم ساختار آنزیم با گرمادهی در دمای حدود ۷۰ درجه سانتی‌گراد نسبت داد چرا که پس از این دما گرمادهی بیشتر، تأثیر چشم‌گیری در تغییر میزان فعالیت آنزیم ایجاد نکرده است. در سایر بررسی‌های انجام شده طی فراوری حرارتی آب مرکبات در حمام آب گرم نیز افزایش میزان تخریب این آنزیم با افزایش دما گزارش شده است. طی فراوری حرارتی آب پرتقال در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد، فعالیت PME به میزان ۸۴٪ کاهش یافت (Iftikhar *et al.*, 2014). در مطالعه‌ای دیگر گزارش شده است که میزان فعالیت این آنزیم پس از فراوری حرارتی آب پرتقال در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حدود ۳۲٪ کاهش یافت (Tajchakavit & Ramaswamy, 1997). همچنین تخریب کامل (۱۰۰٪) این آنزیم طی گرمادهی آب پرتقال در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (Cinquanta *et al.*, 2010).

فراوری بر تغییر میزان فعالیت آنزیم اثر قابل‌ملاحظه‌ای ($P < 0.05$) داشته است. میزان فعالیت باقی‌مانده این آنزیم در مرحله CUT طی فرایند حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از IR در جدول (۱) نشان داده شده است. بر اساس نتایج گزارش شده، زمانی آرمیوه از نظر تجاری دارای پایداری است که میزان فعالیت باقی‌مانده آنزیم پکتین‌متیل‌استراز برابر و یا کوچک‌تر از (Unit/ml) 10^{-4} باشد (Holland *et al.*, 1976; Rothschild *et al.*, 1975). بنابراین در این بررسی، آب لیموترش در انتهای مرحله CUT در حمام آب گرم در دماهای ۶۰ تا ۹۰ درجه سانتی‌گراد و طی گرمادهی با استفاده از IR در دماهای بالای ۶۰ درجه سانتی‌گراد از نظر تجاری به پایداری موردنظر رسیده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود میزان فعالیت این آنزیم طی فراوری حرارتی با استفاده از امواج IR در تمامی دماها، بیشتر از روش دیگر بوده است که دلیل این امر کوتاه‌تر بودن زمان مرحله CUT و در نتیجه تخریب کمتر این آنزیم می‌باشد. اما با افزایش دما به بیش از ۷۰ درجه



شکل ۳- غیرفعال‌سازی حرارتی آنزیم پکتین‌متیل‌استراز آب لیموترش طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج مادون‌قرمز در مرحله افزایش دمای محصول.

جدول ۱- میزان فعالیت باقی‌مانده آنزیم پکتین‌متیل‌استراز موجود در آب لیموترش پس از مرحله افزایش دمای نمونه طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج مادون‌قرمز.

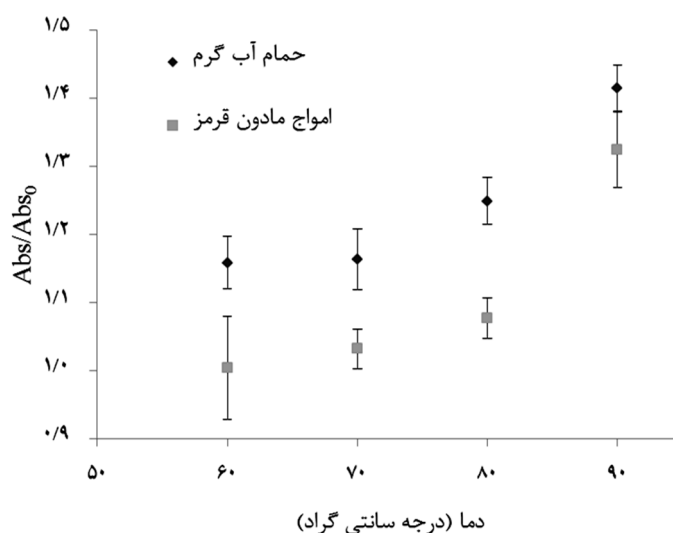
میزان فعالیت باقی‌مانده آنزیم		دما
گرما دهی با استفاده از امواج مادون‌قرمز	گرما دهی در حمام آب گرم	(درجه سانتی‌گراد)
$1/8 \times 10^{-4} a$	$10^{-4} c$	۶۰
$1/2 \times 10^{-4} b$	$6/09 \times 10^{-5} de$	۷۰
$7/2 \times 10^{-5} d$	$5/71 \times 10^{-5} def$	۸۰
$5/5 \times 10^{-5} ef$	$4/24 \times 10^{-5} f$	۹۰

*ارقام با حروف متفاوت نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵٪ می‌باشند.

میزان اندازه‌گیری شده در نمونه‌های حرارت‌دیده در حمام آب گرم بود؛ دلیل این امر را می‌توان به غیرفعال‌سازی کمتر PME طی فراوری حرارتی با استفاده از IR (شکل ۳) نسبت داد. در مطالعه انجام شده نیز مشاهده شد که با افزایش میزان غیرفعال‌سازی PME، میزان اندیس ابری شدن آب پرتقال افزایش می‌یابد (Iftikhar *et al.*, 2014). بنابراین می‌توان افزایش پایداری کدورت و اندیس ابری شدن آب مرکبات را علاوه بر کاهش در میزان فعالیت PME، به اثر این آنزیم بر تغییر ساختار پکتین و کاهش اندازه ذرات ابری مرتبط دانست (Tiwari *et al.*, 2009; Lacroix *et al.*, 2005; Igual *et al.*, 2014).

تغییرات اندیس ابری شدن

میزان جذب آب لیموترش تازه در طول موج ۶۶۰ نانومتر که نشان‌گر میزان کدورت آبمیوه است برابر ۰/۴۵۳ بود. نتایج بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که میزان کدورت و اندیس ابری نمونه با افزایش دمای فرایند حرارتی، افزایش می‌یابد (شکل ۴). آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین میزان اندیس ابری شدن نشان می‌دهد که سطوح متفاوت دمای فراوری، تأثیر معنی‌داری ($P < 0/05$) در میزان این اندیس داشته است. نتایج نشان داد که در تمامی دماها، میزان اندیس ابری شدن آب لیموترش فراوری شده با استفاده از امواج IR اندکی ($P > 0/05$) کمتر از



شکل ۴- تغییرات اندیس ابری شدن آب لیموترش طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج مادون‌قرمز در مرحله افزایش دمای نمونه.

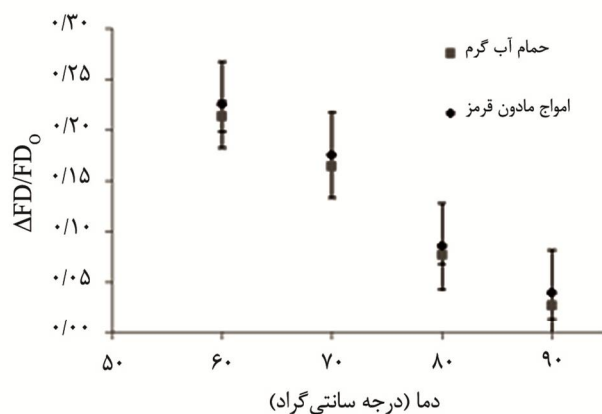
به‌صورت خطی و با ضریب همبستگی بالای ۰/۷۹، کاهش می‌یابد ($P < 0/05$). بر اثر فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز و تشکیل پکتات نامحلول، تجمع و

تغییرات بعد فرکتال

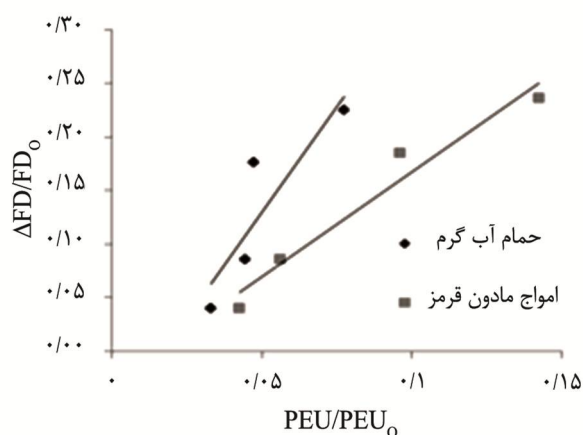
مطابق شکل (۵- الف) FD با افزایش دمای CUT طی هر دو روش فراوری حرارتی آب لیموترش،

شده است (Aghajanzadeh *et al.*, 2016; Tiwari *et al.*, 2009). از طرفی، باتوجه به غیرفعال سازی کمتر این آنزیم طی تیمار حرارتی با استفاده از IR، بر اثر فعالیت PME و افزایش اندازه ذرات عامل کدورت و رسوب آنها، میزان FD محاسبه شده در این روش نسبت به تیمار حرارتی در حمام آب گرم بیشتر بود. در فراورده‌هایی مانند آب سیب، شفافیت و عدم کدورت در رنگ آبمیوه یک ویژگی مطلوب بشمار می‌رود. مطالعه‌ها نشان می‌دهد که این ویژگی با افزودن آنزیم‌های پکتولیتیک^۱ و تجمع سریع ذرات ابری و تشکیل ساختارهای فرکتالی حاصل می‌شود (Benitez *et al.*, 2010).

افزایش اندازه ذرات ابری موجود در آبمیوه رخ می‌دهد (Iftikhar *et al.*, 2014; Igual *et al.*, 2014; Lacroix *et al.*, 2005). بر اثر برخورد و واکنش میان ذرات ابری در آبمیوه حین تجمع و ترسیب، شبکه‌هایی با ساختار خودمتشابهی تشکیل می‌شود (Benitez *et al.*, 2010). بنابراین همان‌گونه که در شکل (۵-ب) نشان داده شده است با افزایش میزان غیرفعال سازی این آنزیم، میزان FD نیز کاهش می‌یابد ($R^2 < 0.79$). به عبارت دیگر با افزایش دمای فرایند، به دلیل جلوگیری از اثر فعالیت PME بر ذرات ابری به‌ویژه پکتین و در نتیجه جلوگیری از تجمع آنها برای تشکیل ساختارهای فرکتالی، توزیع یکنواخت‌تری از ذرات ابری معلق در آبمیوه حاصل



(الف)



(ب)

شکل ۵- (الف) تغییرات بُعد فرکتال (ب) ارتباط بُعد فرکتال و فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز موجود در آب لیموترش طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج مادون قرمز در مرحله افزایش دمای نمونه.

¹ Pectolytic Enzymes

نتیجه‌گیری

در این بررسی تغییرات FD تحت تأثیر میزان فعالیت آنزیم پکتین‌متیل‌استراز و کدورت آب لیموترش طی فراوری حرارتی در حمام آب گرم و با استفاده از امواج IR در مرحله CUT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مرحله CUT اثر قابل‌ملاحظه‌ای بر غیرفعال‌سازی PME دارد بنابراین در نظر گرفتن این مرحله در محاسبه زمان موردنیاز جهت سالم‌سازی محصولات غذایی امری حائز اهمیت است. اما به دلیل کوتاه‌تر بودن زمان این مرحله در گرمادهی با لامپ IR، میزان تخریب آنزیم در این روش کمتر از روش گرمادهی مرسوم می‌باشد. اما میزان کدورت آب لیموترش فراوری شده به روش IR اختلاف قابل‌ملاحظه‌ای با نمونه فراوری شده در حمام آب گرم ندارد. در این بررسی جهت مطالعه اثر فعالیت

این آنزیم بر اندازه ذرات ابری و تجمع آنها از تغییرات FD استفاده شد. نتایج نشان داد که با افزایش دمای فرایند میزان یکنواختی اندازه ذرات ابری افزایش یافت که این به معنی کاهش میزان تجمع ذرات و افزایش میزان کدورت نمونه است. باتوجه‌به اینکه تعیین روند و چگونگی تغییر فعالیت PME و میزان کدورت در آبمیوه نیازمند صرف وقت، هزینه و انجام آزمایشات شیمیایی است، جهت سهولت این امر می‌توان از بررسی FD آبمیوه استفاده نمود. همچنین به دلیل تخریب کمتر PME طی فراوری حرارتی با استفاده از IR، نیاز به انجام تحقیقات بیشتر در معرفی آن به‌عنوان روشی مناسب و کارآمد در حفظ بیشتر ارزش غذایی و همچنین کیفیت آبمیوه‌های مختلف است.

منابع

- 1- Aghajanzadeh, S., Ziiaifan, A.M., Kashaninejad, M., Maghsoudlou, Y., & Esmailzadeh, E. 2016. Thermal inactivation kinetic of pectin methylesterase and cloud stability in sour orange juice. *Journal of Food Engineering*, 185:72-77.
- 2- Ball, C.O. 1923. Thermal process time for canned food, Published by the National research council of the National academy of sciences.
- 3- Benitez, E.I, Lozano, J.E, & Genovese, D.B. 2010. Fractal dimension and mechanism of aggregation of apple juice particles. *Food Science and Technology International*, 16(2):179-186.
- 4- Beveridge, T. 1999. Fractile images and apple juice haze. *Food Research International*, 31:411-414.
- 5- Braeckman, L., Ronsse, F., Hidalgo, P.C., & Pieters, J. 2009. Influence of combined IR-grilling and hot air cooking conditions on moisture and fat content, texture and colour attributes of meat patties. *Journal of Food Engineering*, 93(4):437-443.
- 6- Cinquanta, L., Albanese, D., Cuccurullo, G., & Di Matteo, M. 2010. Effect on orange juice of batch pasteurization in an improved pilot-scale microwave oven. *Journal of Food Science*, 75(1):E46-E50.
- 7- Colle, I., Lemmens, L., Van Buggenhout, S., Van Loey, A., & Hendrickx, M. 2010. Effect of thermal processing on the degradation, isomerization, and bioaccessibility of lycopene in tomato pulp. *Journal of Food Science*, 75(9):C753-C759.
- 8- Di Majo, D., Giammanco, M., La Guardia, M., Tripoli, E., Giammanco, S., & Finotti, E. 2005. Flavanones in *Citrus fruit*: Structure-antioxidant activity relationships. *Food Research International*, 38(10):1161-1166
- 9- Fachin, D., Van Loey, A.M., Nguyen, B.L., Verlent, I., Indrawati, I., & Hendrickx, M.E. 2002. Comparative study of the inactivation kinetics of pectinmethylesterase in tomato juice and purified form. *Biotechnology progress*, 18(4):739-744.

- 10-Galant, A.L., Widmer, W.W., Luzio, G.A., & Cameron, R.G. 2014. Characterization of molecular structural changes in pectin during juice cloud destabilization in frozen concentrated orange juice. *Food Hydrocolloids*, 41:10-18.
- 11-Holland, R.R., Reeder, S.K., & Pritchett, D.E. 1976. Cloud stability test for pasteurized citrus juices. *Journal of Food Science*, 41(4):812-815.
- 12-Hong, G.-P., Shim, K.-B., Choi, M.-J., & Min, S.-G. 2009. Effects of air blast thawing combined with infrared radiation on physical properties of pork. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 29(3):302-309.
- 13-Iftikhar, T., Wagner, M.E., & Rizvi, S.S.H. 2014. Enhanced inactivation of pectin methyl esterase in orange juice using modified supercritical carbon dioxide treatment. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(3):804-810.
- 14-Igual, M., Contreas, C., Camacho, M.M., & Martinez- Navarrete, N. 2014. Effect of thermal treatment and storage conditions on the physical and sensory properties of grapefruit juice. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1):191-203.
- 15-Jabbar, S., Abid, M., Hu, B., Muhammad Hashim, M., Saeeduddin, M., Lei, S., Wu, T., & Zeng, X. 2014. Influence of sonication and high hydrostatic pressure on the quality of carrot juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(11):2449-2457.
- 16-Kerdpi boon, S., & Devahastin, S. 2007. Fractal characterization of some physical properties of a food product under various drying conditions. *Drying Technology*, 25(1):135-146.
- 17-Kim, S.-Y., Jeong, S.M., Jo, S.C., & Lee, S.C. 2006. Application of far-infrared irradiation in the manufacturing process of green tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26):9943-9947.
- 18-Kimball, D.A. 1999. *Citrus processing. A complete guide*. P. 257-264. Aspen Publishers, Inc., aithersburg, Maryland.
- 19-Krishnamurthy, K., Jun, S., Irudayaraj, J., & Demirci, A. 2008. Efficacy of infrared heat treatment for inactivation of staphylococcus aureus in milk. *Journal of Food Process Engineering*, 31(6):798-816.
- 20-Lacroix, N., Fliss, I., & Makhlof, J. 2005. Inactivation of pectin methylesterase and stabilization of opalescence in orange juice by dynamic high pressure. *Food Research International*, 38(5):569-576.
- 21-Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E., & Wang, S. 2015. Kinetics of Food quality changes during thermal processing: a review. *Food Bioprocess Technology*, 8(2):343-358.
- 22-Lopes, R., & Betrouni, N. 2009. Fractal and multifractal analysis: a review. *Medical Image Analysis*, 13(4):634-649.
- 23-Mongpraneet, S., Abe, T., & Tsurusaki, T. 2002. Accelerated drying of welsh onion by far infrared radiation under vacuum conditions. *Journal of Food Engineering*, 55(2):147-156.
- 24-Nimmol, C., Devahastin, S., Swasdisevi, T., & Soponronnarit, S. 2007. Drying of banana slices using combined low-pressure superheated steam and far-infrared radiation. *Journal of Food Engineering*, 81(3):624-633.
- 25-Ozkoc, S.O., Sumnu, G., Sahin, S., & Turabi, E. 2009. Investigation of physicochemical properties of breads baked in microwave and infrared-microwave combination ovens during storage. *European Food Research and Technology*, 228(6):883-893.
- 26-Polydera, A.C., Galanou, E., Stoforos, N.G., & Taoukis, P.S. 2004. Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, 62(3):291-298.
- 27-Quevedo, R., Carlos, L.G., Aguilera, J.M., & Cadoche, L. 2002. Description of food surfaces and microstructural changes using fractal image texture analysis. *Journal of Food Engineering*, 53(4):361-371.

- 28-Quevedo, R., Mendoza, F., Aguilera, J.M., Chanona, J., & Gutierrez-Lopez, G. 2008. Determination of senescent spotting in banana (*Musa cavendish*) using fractal texture Fourier image. *Journal of Food Engineering*, 84(4):509-515.
- 29-Quevedo, R., Diaz, O., Caqueo, A., Ronceros, B., & Aguilera, J.M. 2009a. Quantification of enzymatic browning kinetics in pear slices using non-homogenous L^* color information from digital images. *LWT-Food Science and Technology*, 42(8):1367-1373.
- 30-Quevedo, R., Diaz, O., Ronceros, B., Pedreschi, F., & Aguilera, J.M. 2009b. Description of the kinetic enzymatic browning in banana (*Musa cavendish*) slices using non-uniform color information from digital images. *Food Research International*, 42(9):1309-1314.
- 31-Quevedo, R., Jaramillo, M., Diaz, O., Pedreschi, F., & Aguilera, J.M. 2009c. Quantification of enzymatic browning in apple slices applying the fractal texture Fourier image. *Journal of Food Engineering*, 95(2):285-290.
- 32-Quevedo, R., Ronceros, B., Garcia, K., Lopez, P., & Pedreschi, F. 2011. Enzymatic browning in sliced and puréed avocado: a fractal kinetic study. *Journal of Food Engineering*, 105(2):210-215.
- 33-Quevedo, R., Valencia, E., Cuevas, G., Ronceros, B., Pedreschi, F., & Bastias, J.M. 2013. Color changes in the surface of fresh cut meat: a fractal kinetic application. *Food Research International*, 54(2):1430-1436.
- 34-Rastogi, N.K. 2012. Recent trends and developments in infrared heating in food processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(9):737-760.
- 35-Rothschild, G., Vliet, C.V., & Karsenty, A. 1975. Pasteurization conditions for juices and comminuted products of Israeli citrus fruits*. *International Journal of Food Science & Technology*, 10(1):29-38.
- 36-Russell, D.A., Hanson, J.D., & Ott, E. 1980. Dimension of strange attractors. *Physical Review Letters*, 45:1175-1178.
- 37-Seyhun, N., Ramaswamy, H., Sumnu, G., Sahin, S., & Ahmed, J. 2009. Comparison and modeling of microwave tempering and infrared assisted microwave tempering of frozen potato puree. *Journal of Food Engineering*, 92(3):339-344.
- 38-Tajchakavit, S., & Ramaswamy, H.S. 1997. Thermal vs. Microwave Inactivation Kinetics of Pectin methylesterase in orange juice under batch mode heating conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 30(1):85-93.
- 39-Tanaka, A., & Hoshino, E. 2003. Similarities between the thermal inactivation kinetics of *Bacillus amyloliquefaciens* α -amylase in an aqueous solution of sodium dodecyl sulphate and the kinetics in the solution of anionic-phospholipid vesicles. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38:175-181.
- 40-Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C.P., & Cullen, P.J. 2009. Inactivation kinetics of pectin methylesterase and cloud retention in sonicated orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 10(2):166-171.
- 41-Tornberg, E. 2005. Effects of heat on meat proteins—implications on structure and quality of meat products. *Meat science*, 70(3):493-508.
- 42-Turabi, E., Sumnu, G., & Sahin, S. 2008. Optimization of baking of rice cakes in infrared–microwave combination oven by response surface methodology. *Food and Bioprocess Technology*, 1(1):64-73.
- 43-Uysal, N., Sumnu, G., & Sahin, S. 2009. Optimization of microwave–infrared roasting of hazelnut. *Journal of Food Engineering*, 90(2):255-261.
- 44-Valous, N.A., Mendoza, F., Sun, D.W., & Allen, P. 2009. Texture appearance characterization of pre-sliced pork ham images using fractal metrics: Fourier analysis dimension and lacunarity. *Food Research International*, 42(3):353-362.

- 45-Versteeg, C., Rombouts, F., Spaansen, C.H., & Pilnik, W. 1980. Thermo stability and orange juice cloud destabilizing properties of multiple pectinesterases from orange. *Journal of Food Science*, 45(4):969-971.
- 46-Yıldız, H., & Baysal, T. 2006. Effects of alternative current heating treatment on *Aspergillus niger*, pectin methylesterase and pectin content in tomato. *Journal of Food Engineering*, 75(3):327-332.
- 47- Zhu, Y., & Pan, Z. 2009. Processing and quality characteristics of apple slices under simultaneous infrared dry-blanching and dehydration with continuous heating. *Journal of Food Engineering*, 90(4):441-452.
- 48- Ziena, H.M.S. 2000. Quality attributes of Bearss Seedless lime (*Citrus latifolia* Tan) juice during storage. *Food Chemistry*, 71(2):167-172.

The Effect of Come-up Time on Fractal Dimension of Lime Juice in Thermal Processing by Conventional and Infra-red Methods

Sara Aghajanzadeh Suraki^{1*}, Aman Mohammad Ziaifar², Mahdi Kashaninejad³

1- Ph.D. student, Department of Food Process Engineering, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

* Corresponding author (saraaghajanzadeh@yahoo.com)

2- Associate Professor, Department of Food Process Engineering, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

3- Professor, Department of Food Process Engineering, University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

Abstract

Juice cloud and turbidity are considered as desirable properties in lime and other citrus juices. The turbidity is influenced by the presence of pectin in citrus juice. Pectin methylesterase (PME) causes cloud loss due to its function in deesterification of the pectin. Thermal processing is commonly used to inactivate this enzyme. As the first stage of the heating process, the come up time (CUT) plays a considerable role in PME inactivation. The aim of this study was to investigate the PME inactivation, turbidity and fractal dimension (FD) changes during lime juice thermal processing using conventional (water bath) and infrared (IR) heating at 60, 70, 80 and 90 °C. The results showed that by rising juice temperature, the PME inactivation and the turbidity increased during both thermal treatment methods. Therefore, the cloud particles remained suspended and less particles aggregation took place to form fractal structures, resulting in a homogeneous distribution of cloud particles and FD reduction. Due to shorter CUT, the samples heated by IR showed higher PME retention and FD in comparison with conventional processing.

Keywords: Come up Time, Fractal Dimension, Infrared Radiation, Lime Juice, Pectin Methylesterase