

## بررسی اثر فرایند اولتراسوند بر غیر فعال سازی مخمر ساکارومیسیس سرویزیه در آب انگور قرمز با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

مریم نفر<sup>۱</sup>، زهرا امام جمعه<sup>۲\*</sup>، مهناز هاشمی روان<sup>۳</sup>

۱. کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد واحد پیشوا ورامین

۲. استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده مهندسی و فناوری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد واحد پیشوا ورامین

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱۷ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۸/۲۱)

### چکیده

روش سطح پاسخ به منظور تعیین نقاط بهینه فرایند فراصوت، برای دستیابی به بیشینه میزان انهدام مخمرها و میزان آنتوسیانین کل پس از فراوری با اولتراسوند آب انگور قرمز استفاده شد. درجه حرارت در سه سطح (۲۵، ۳۷/۵، ۵۰)°C، مدت زمان فرایند (به دست آمده در ۲۰، ۳۰، ۴۰ دقیقه)، فرکانس (۰، ۶۷/۵، ۱۳۵ کیلوهرتز) فاکتورهایی بودند که تأثیر آنها بر متغیرهای وابسته طی فرایند فراصوت ارزیابی شد. آزمایش‌ها بر اساس طرح مرکب مرکزی با در نظر گرفتن سه سطح شامل نقاط مرکزی و محوری برای هر یک از فاکتورهای یادشده، انجام گرفت. در آزمایش‌ها از محلول حاوی مخمر ۰/۵ مک‌فارلند (OD=۰/۱۳) مقدار ۲ میلی‌لیتر به هر ۱۰۰ میلی‌لیتر آب انگور اضافه شد. نتایج حاکی از این بود که تأثیرات خطی و درجه دوم هر سه متغیر مستقل دما، زمان، و فرکانس بر کاهش میزان فعالیت مخمرها و تغییر میزان آنتوسیانین معنی‌دار بودند ( $p < 0/05$ ). برای هر پاسخ با استفاده از تجزیه رگرسیون خطی چندگانه مدل‌های چند جمله‌ای درجه دوم به دست آمد. تجزیه واریانس (ANOVA) به منظور ارزیابی صحت و دقت مدل‌ها اجرا شد. مناسب‌ترین شرایط فرایند در دمای ۳۷/۲۵°C، زمان ۲۰ دقیقه، فرکانس ۳۵ کیلوهرتز مشخص شد.

**کلیدواژگان:** آب انگور قرمز، بهینه‌سازی، غیرفعال‌سازی ساکارومیسیس سرویزیه، فرایند فراصوت.

### مقدمه

درخت انگور گیاهی است از خانواده *Vitaceae* که اسم علمی گونه آن *Vitis Vinifera* است (Anonymous, 1991). انگور میوه‌ای است حاوی ویتامین‌های آ، ب، و ث که مقادیری منیزیم، کلسیم، فسفر، پتاسیم، و آلومین نیز دارد (Dolati & Baneh, 2009). آب انگور دارای تعداد زیادی فلاوونوئید و آنتوسیانین است که مهم‌ترین آنتوسیانین‌های آب انگور سیانیدین، مالویدین، دلفینیدین، پئونیدین، پتونیدین، و پلارگونیدین هستند (Carreno et al., 1997; Kennedy et al., 2001). فرایند فراصوت فرایندی غیرحرارتی است و جایگزین بالقوه‌ای برای روش‌های حرارتی سنتی مانند پاستوریزاسیون برای به دست آوردن ایمنی میکروبی در آب میوه‌ها شناخته می‌شوند (Salleh-Mack, & Roberts, 2007). از امواج فراصوت با شدت پایین به عنوان روش تجزیه‌ای برای تهیه

اطلاعات ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی استفاده می‌شود. در این حالت توان به کاررفته به حدی پایین است که پس از قطع امواج فراصوت هیچگونه تغییری در خواص فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی رخ نمی‌دهد. در نتیجه به این روش تکنیک غیر مخرب می‌گویند و از آن در اندازه‌گیری ضخامت، تشخیص جرم خارجی، اندازه ذرات، و مانند آنها استفاده می‌شود. همچنین از فراصوت به عنوان ابزاری برای کمک به انواع روش‌های فرایند مواد غذایی نظیر هموژنیزه کردن، استریل کردن، استخراج، حرارت دادن، امولسیفیه کردن، مهار فعالیت آنزیم‌ها و میکروب‌ها، متلاشی کردن سلول‌ها، و تشدید واکنش‌های اکسیداسیون استفاده می‌شود (Shamaei et al., 2013).

در سال‌های اخیر تحقیقات متعددی در زمینه بررسی اثر فرایند فراصوت بر غیر فعال سازی میکروارگانیسم‌های گوناگون مانند *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* و *Bacillus subtilis* در مواد غذایی متفاوت انجام شده است (Guerrero et al., 001; Manas et al., 2000).

شدند. مخمر ساکارومیسس سرویزیه (PTCC) (ATCC9763) 5052 از مرکز منطقه‌ای کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران تهیه شد. محیط کشت (Sabouraud Dextrose Agar) ۴٪ و محیط کشت Yeast Malt Broth از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

## روش‌ها

### آماده‌سازی آب انگور قرمز

انگور قرمز پس از خریداری تا زمان فرایند در یخچال با دمای  $1 \pm 3^\circ\text{C}$  قرار گرفت. یک ساعت قبل از فرایند از یخچال خارج شد و در معرض دمای محیط قرار گرفت. به منظور جداسازی مواد خارجی مثل گرد و خاک به خوبی شسته شد. میوه‌ها براساس درجه رسیدگی و شدت رنگ دسته‌بندی شدند و انگورهای نرسیده و آسیب‌دیده جدا شدند. حدود ۱۵ کیلوگرم انگور یخ‌زده در ۱۲ ساعت در دمای  $4^\circ\text{C}$  خرد شدند. آب انگور به مدت ۴ ساعت در یخچال ماند تا تارتارات درانت‌های ظرف ته‌نشین و از آب انگور جدا شد.

خردکردن انگورها، استخراج آب میوه، و تصفیه در یک اتاق سرد در  $1 \pm 3^\circ\text{C}$  انجام داده شد. آب میوه تولیدی بی‌درنگ در  $25^\circ\text{C}$  یخ زده شد. نمونه‌های آب میوه یخ‌زده در طی یک ماه پس از تهیه آب میوه فرایند شدند (Tiwari et al., 2010).

### تهیه سوسپانسیون میکروبی یا تهیه تعلیق مخمر ساکارومیسس سرویزیه

پس از بازکردن آمپول حاوی سوسپانسیون استاندارد لیوفیلیزه ساکارومیسس سرویزیه، روی محیط کشت مالت اکسترکت آگار کشت داده شد و بعد از گرمخانه‌گذاری به محیط کشت مایع منتقل شد. به این ترتیب که لویی پر از هر سویه میکروبی رشدیافته روی آگار تحت شرایط استریل با ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع مالت اکسترکت آگار برای تهیه سوسپانسیون میکروبی تلقیح گردید و به مدت ۴۸ ساعت در دمای  $25^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. سپس با محیط کشت مایع رقیق شد تا کدورت در طول موج ۶۲۵ نانومتر برابر با جذب محلول استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند گردد و به‌عنوان رقت پایه میکروبی در نظر گرفته شود. محیط کشت مایع حاوی سلول‌های رشدیافته به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور/دقیقه سانتریفیوژ شدند و مجدداً توده سلولی حاصل در آب انگور قرمز استریل به‌صورت سوسپانسیون درآمد. مقدار ۲ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب انگور قرمز

در این تحقیقات مشخص شد که اثر غیر فعال‌سازی فرایند فراصوت به عوامل گوناگونی همچون نوع میکروارگانیسم، دما، زمان و شدت فرایند، حجم، و ترکیب ماده غذایی بستگی دارد (Piyasena et al., 2003). در تحقیقات انجام‌شده هدف محققان بررسی کارایی فرایند فراصوت بر غیر فعال‌سازی میکروارگانیسم و توضیح اثر هر یک از عوامل فرایند بر زنده‌مانی بوده است و کمتر به بهینه‌سازی شرایط فرایند پرداخته شده است. بیشتر تحقیقات انجام‌شده بر اثر فرایند بر میکروارگانیسم متمرکز و کمتر بر تأثیر آن بر خصوصیات کیفی مواد غذایی پرداخته شده است.

روش سطح پاسخ (RSM)<sup>۱</sup> ابزاری مهم برای بهبود فرایند و محصول به شمار می‌رود. RSM در واقع مجموعه‌ای از طرح‌های آزمایشی و روش‌های بهینه‌سازی به‌منظور کمک به آزمایشگر برای تعیین رابطه‌ای بین پاسخ و متغیرهای مستقل است. RSM برای ترسیم سطح پاسخ بر محدوده مشخص‌شده، بهینه‌سازی پاسخ، یا برای انتخاب شرایط فرایند برای دستیابی به مشخصات هدف یا نیازمندی‌های مصرف‌کننده به کار می‌رود (Kargozari et al., 2011). روش سطح پاسخ برای بهینه‌سازی فرایندهای گوناگون مانند خشک‌کردن، استخراج، فرمولاسیون، امولسیون‌سازی، و مانند آنها در صنایع غذایی به کار رفته است (Shamaei et al., 2013).

هدف این مطالعه بررسی اثر فرایند فراصوت بر خصوصیات کیفی و غیر فعال‌سازی ساکارومیسس سرویزیه در آب انگور قرمز مجلسی و قدرت فراصوت برای به حداقل رساندن تغییرات در خصوصیات تغذیه‌ای و ارگانولپتیک مشخص‌شده است.

## مواد و روش‌ها

### مواد مصرفی

در این مطالعه از انگور قرمز *Vitis Vinifera* استفاده شد و به‌منظور همگن‌شدن نمونه‌ها از بازار محلی تهیه گردید و تا زمان مصرف در یخچال در دمای  $1 \pm 3^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید سپس انگور قرمز با دستگاه آمیوه‌گیری مدل آووکادو از شرکت پارس‌خزر ایران آگیری شد. اتانول (۹۶ درصد)، هیدروکسید سدیم (NaOH)، نمک کلرید سدیم، اسیدکلریدریک (HCL)، استات سدیم، DPPH، متانول (۱۰۰ درصد)، متابی‌سولفیت پتاسیم همگی از شرکت مرک آلمان تهیه

مدل‌های سطح پاسخ در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نبود. از طرفی  $R^2$  و  $R^2$  تنظیم‌شده و ضریب پراکندگی (CV) به‌منظور بررسی شایستگی مدل محاسبه شدند. در جدول ۱ ملاحظه می‌شود که مقادیر  $R^2$  و  $R^2$  تنظیم‌شده (adj) برای مدل‌ها تغییر زیادی داشت و نشان می‌داد که مدل دربرگیرنده جملات غیر معنی‌دار بود. ضریب پراکندگی (CV) که اشاره به پراکندگی نسبی نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل‌های SOP دارد، ۰/۰۰۰ درصد بوده است. ضرایب معادله رگرسیونی مدل‌های پیشنهادشده برای هر پاسخ در جدول ۱ آمده‌اند. برای تصویرکردن تأثیر توأم فاکتورها بر پاسخ، نمودارهای سطح پاسخ و کرانه‌ای برای هر کدام از مدل‌ها، برازش‌شده براساس دو متغیر و ثابت‌نگه‌داشتن یک متغیر دیگر در حد مرکزی ارائه شدند.

جدول ۱. جدول ANOVA نماینده جمله‌های خطی، درجه دوم، و اثر متقابل هر متغیر و ضرایب (Coef.) مدل پیش‌بینی‌کننده

درجه آزادی	آنتوسیانین کل		تعداد میکروارگانیزم		منبع تغییر
	Coef	p-value	Coef	p-value	
مدل	۰/۷۲	۰/۷۲	۳۶۵/۵۹	۰/۰۱	۲۲۸/۴۵
$X_1$	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	-۱۱۲۸/۴۲	-۱۲/۰	۲۶/۴۵
$X_2$	۰/۹۴	۰/۹۴	۳/۲۹	۰/۲۱	-۴/۱۶
$X_3$	۰/۲۸	۰/۲۸	۶۱/۷۲	۰/۰۲	-۱۰/۱۴
$X_1^2$	۰/۳۷	۰/۳۷	-۸۰/۲۲	۰/۹۳	۰/۵۵
$X_2^2$	۰/۹۷	۰/۹۷	۰/۰۲	۰/۲۸	۰/۰۴
$X_3^2$	۰/۳۳	۰/۳۳	-۰/۸۹	۰/۰۳	۰/۱۵
$X_1X_2$	۰/۰۱	۰/۰۱	۱۲/۱۱	۰/۰۶	۰/۶۰
$X_1X_3$	۰/۰۱	۰/۰۱	۱۴/۷۲	۰/۷۳	۰/۱۲
$X_2X_3$	۰/۲۶	۰/۲۶	-۰/۴۸	۰/۲۶	۰/۰۳۰
عدم برازش	۰/۳۷	۰/۳۷	۰/۸۸	۰/۰۰	۵
$R^2$	۰/۷۶	۰/۷۶			۰/۰۰۷۴
Adj $R^2$	۰/۴۱	۰/۴۱			۰/۴۴۰۸
CV					۰/۰۰۰

فرکانس فراصوت ( $X_1$ )، دما ( $X_2$ )، و زمان ( $X_3$ )،  $X_1X_2$ ،  $X_1X_3$  بر همکنش؛ و  $X_2X_3$  رگرسیون درجه دوم

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد اثر دما و فرکانس و اثر زمان و فرکانس بر غیرفعالسازی ساکارومیسیس سرویزیه معنی‌دار است و با افزایش هر دو، میزان فعالیت مخمرهای آب انگور قرمز افزایش می‌یابد. بنابراین با کاربرد کاهش دما و زمان، میزان فعالیت مخمرهای آب انگور قرمز کاهش می‌یابد. بیشترین میزان غیرفعالسازی یا کمترین میزان

تلقیح گردید. سپس این سوسپانسیون سلولی برای سازگارشدن با محیط جدید به مدت ۱۵-۳۰ دقیقه قبل از آزمایش‌های غیر فعال‌سازی نگه داشته می‌شود (Wordon, et al., 2010).

### سنجش آنتوسیانین کل

اندازه‌گیری آنتوسیانین با روش اختلاف pH در دو pH متفاوت، ۱ و ۴/۵، در دو طول موج ۵۱۰ و ۷۰۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر سنجیده شد (Orak, 2007; Tiwari et al., 2010).

### طرح آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق، از نرم‌افزار Minitab ۱۶ برای اعمال RSM روی داده‌ها استفاده شد. متغیرهای مستقل که در RSM استفاده شدند عبارت بودند از: زمان فراصوت (۲۰، ۳۰، ۴۰ دقیقه)، درجه حرارت ( $25^{\circ}\text{C}$ ،  $37/5^{\circ}\text{C}$ ،  $50^{\circ}\text{C}$ )، شدت فرکانس (۰،  $67/5$ ،  $135$  کیلوهرتز). با توجه به تغییر فرکانس فراصوت، برای ثابت‌ماندن توان واقعی، توان اسمی دستگاه با توجه به رابطه ارائه‌شده (Jambak et al., 2008) (۱۰۰ درصد برای  $135$  کیلوهرتز و ۸۸ درصد برای  $67/5$  کیلوهرتز) تنظیم شد. همچنین متغیرهای وابسته عبارت‌اند از: اندازه‌گیری آنتوسیانین و غیرفعالسازی ساکارومیسیس سرویزیه. طرح آماری مشخص‌شده با انتخاب طرح مرکب مرکزی، تعداد فاکتور سه به‌صورت تصادفی، با دو بلوک و یک تکرار، آلفا=یک و تعداد RUN = ۲۰ ریخته شد. با توجه به داده‌های نرم‌افزار، طرح فاکتوریل کامل  $2^3$  اتخاذ شد.

### نتایج و بحث

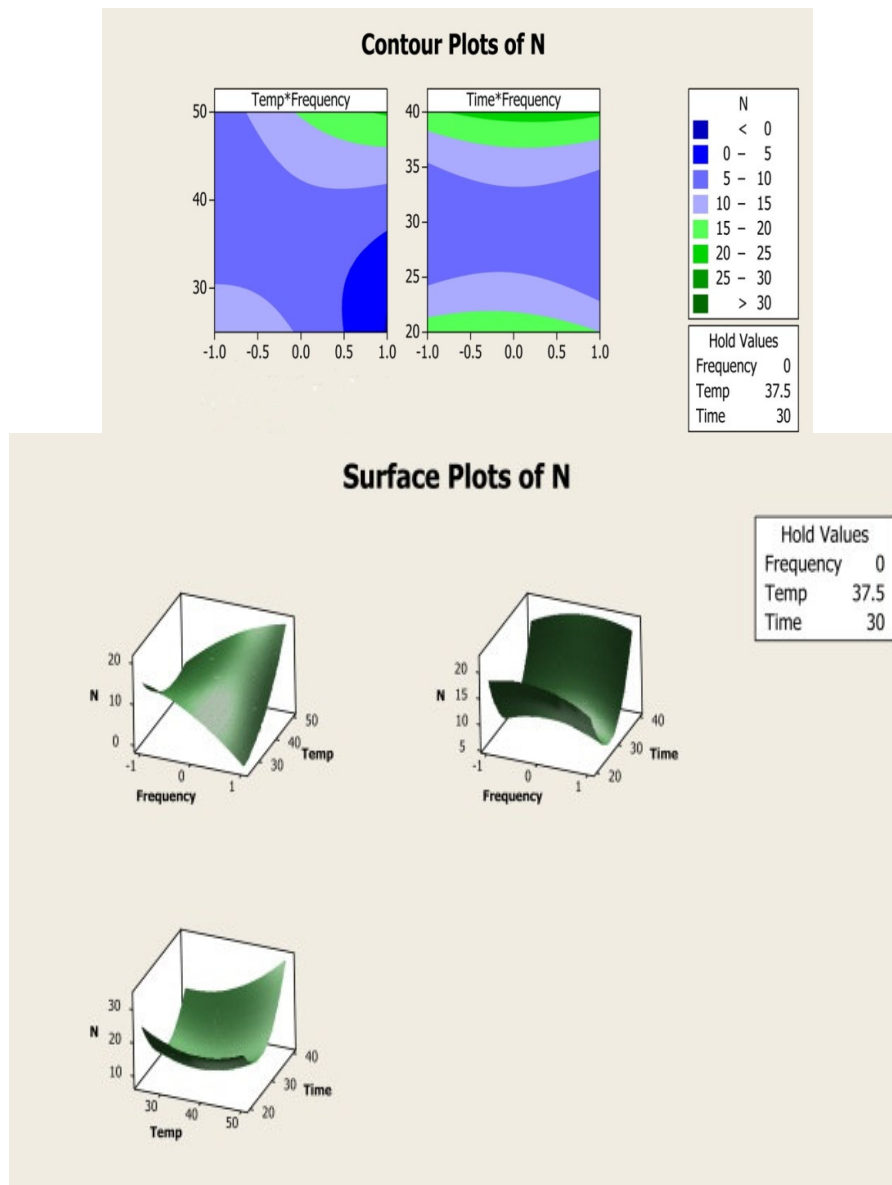
#### برازش مدل‌ها و نمودارهای کرانه‌ای

تجزیه و آریانس برای تعیین معنی‌دار بودن تأثیر متغیرهای فرایند بر پاسخ‌ها انجام شد. جدول ۱ نشان می‌دهد که تمامی اعداد مشخص‌شده در جدول ۱ تأثیر معنی‌داری بر میزان غیرفعالسازی ساکارومیسیس سرویزیه، آنتوسیانین داشته‌اند ( $p < 0/05$ ). جدول ۱ تجزیه و آریانس برای برازش مدل‌های چندجمله‌ای درجه دوم با داده‌های تجربی را نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که کلیه مدل‌های رگرسیون در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار هستند. مقدار معنی‌داری تمامی عوامل اصلی، رگرسیون‌های خطی، درجه دوم، و تأثیرات متقابل محاسبه‌شده برای هر پاسخ را نیز می‌توان در جدول ۱ مشاهده کرد. عواملی که معنی‌دار نیستند ( $p > 0/05$ )، بدون ایجاد اختلالی در سلسله‌مراتب مدل، از مدل‌ها حذف شدند. تجزیه و آریانس همچنین نشان داد که مقادیر عدم برازش برای تمامی

نتیجه گرفتند که غیر فعال‌سازی مکانیسم تکیه بر تأثیرات شیمیایی دارد. کاهش مهم در D-value (۲۲/۳ دقیقه) برای ساکارومیسیس سرویزیه در ۴۵°C و ۷۳۹ دقیقه در سیستم مدل وقتی که فراصوت با تیمار حرارت ترکیب می‌شود، مشاهده شد (Lopez-Malo et al., 1999).

زنده‌مانی مخمر ساکارومیسیس سرویزیه (N) در دمای ۳۰°C - ۴۰ و فرکانس ۱۳۵ و زمان ۲۵-۳۵ دقیقه مشاهده گردید. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده می‌شود، اثر متقابل فرکانس در مقابل دما معنی‌دار است.

Koda et al. (2009) اثر فرایند فراصوت را بر غیر فعال‌سازی میکروبی ایکلای و سالمونلا موتازنز مطالعه کردند و



شکل ۱. نمودارهای سطح پاسخ و کرانه‌ای اثر عوامل گوناگون فرایندی (دما، زمان، و فرکانس فراصوت) بر زنده‌مانی ساکارومیسیس سرویزیه (N)

همان‌طور که بررسی شکل ۲ نشان می‌دهد اثر دما و فرکانس و اثر زمان و فرکانس بر میزان آنتوسیانین کل آب انگور قرمز اثر معنی‌دار دارد. با افزایش هر دو عامل میزان تخریب آنتوسیانین کل آب انگور قرمز افزایش می‌یابد. بنابراین با کاهش دما و زمان، میزان تخریب آنتوسیانین کل آب انگور قرمز کاهش

رابطه کلی میزان زنده‌مانی مخمر ساکارومیسیس سرویزیه (N) و فرکانس فراصوت ( $X_1$ )، دما ( $X_2$ )، و زمان ( $X_3$ ) به صورت رابطه ۱ است:

(رابطه ۱)

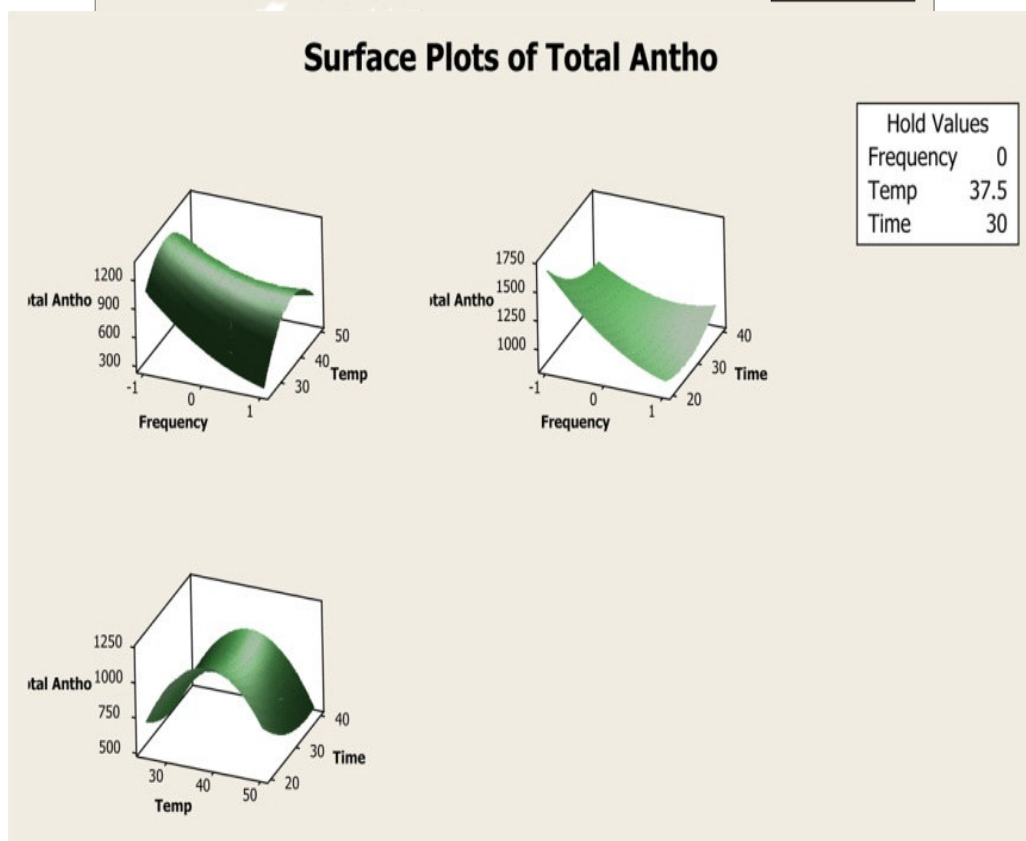
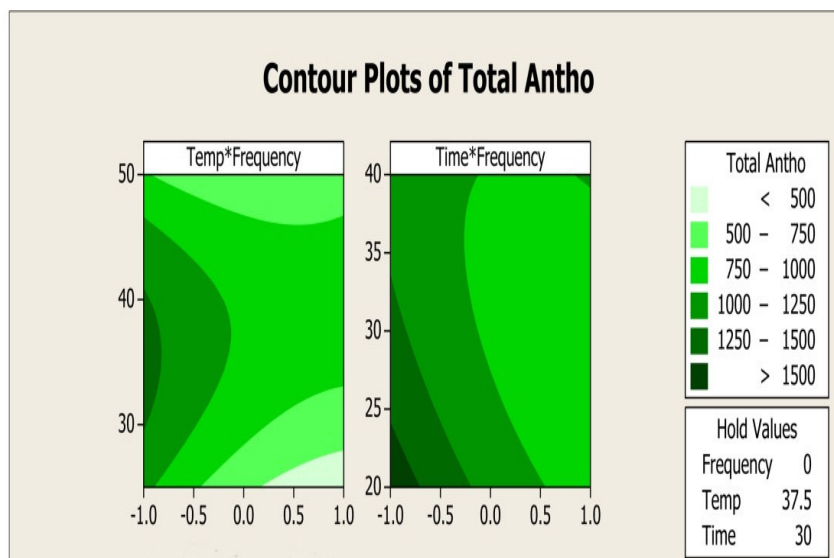
$$N = 228.453 - 10.14X_3 + 0.151X_3^2 + 0.600X_1X_2$$

ابتدا میزان آنتوسیانین کل افزایش و سپس کاهش می‌یابد. بنابراین با کاهش دما و زمان و کاربرد فرکانس پایین، میزان آنتوسیانین کل آب انگور قرمز بهتر حفظ می‌شود. این شکل نشان می‌دهد که سطح دامنه موج بالاتر و تیمار طولانی‌مدت تأثیرات ناخوشایندی روی محتوای آنتوسیانین آب انگور دارند که این نتایج کاملاً مطابق با نتایج ارائه‌شده محققان قبلی است (Tiwari et al., 2010).

می‌یابد. بیشترین غلظت آنتوسیانین در دماهای کمتر از  $30^{\circ}\text{C}$  مشاهده گردید.

همان‌طور که از مطالعه شکل ۲ می‌توان نتیجه گرفت، با افزایش دما و زمان، میزان آنتوسیانین کل آب انگور قرمز روند کاهشی دارد. بنابراین در دمای پایین، تأثیر زمان بیشتر است و در زمان پایین، تأثیر دما بیشتر است.

سپس در فرکانس‌های کمتر با افزایش زمان، تأثیر بیشتری بر میزان آنتوسیانین کل دارد و در فرکانس‌های بیشتر



شکل ۲. نمودارهای سطح پاسخ و کرانه‌ای اثر عوامل گوناگون فرایندی (دما، زمان، و فرکانس فراصوت) بر آنتوسیانین کل آب انگور قرمز

(Harrington, 1965)، دو تیمار دربرگیرنده معیارهای بهینه به دست آمد. بهینه‌سازی متغیرهای وابسته با استفاده از جدول ۱ انجام شد و نقاط بهینه به دست آمدند. همان گونه که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، میزان مطلوبیت به دست آمده در شکل برابر با ۸۷ درصد است. شرایط بهینه فرایند شامل دمای  $37/25^{\circ}\text{C}$ ، زمان ۲۰ دقیقه، و فرکانس ۳۵ کیلوهرتز مشخص بود.

در نمونه‌های تولیدشده در شرایط بهینه، متغیرهای وابسته آنتوسیانین کل (Total An) و میزان غیرفعال‌سازی ساکارومیسیس سرویزیه (N) بررسی شد (جدول ۲). با بررسی آنها مشخص گردید که مقادیر به دست آمده طی آزمایش‌های تجربی به مقادیر پیش‌بینی شده مدل بسیار نزدیک است.

جدول ۲. مقایسه نقطه بهینه محاسباتی و تجربی

آنتوسیانین تعداد مخمر ساکارومیسیس	
کل	سرویزیه
نقطه بهینه تجربی	۱۴۶۹/۵
نقطه بهینه محاسباتی	۱۳۷۹/۵۸

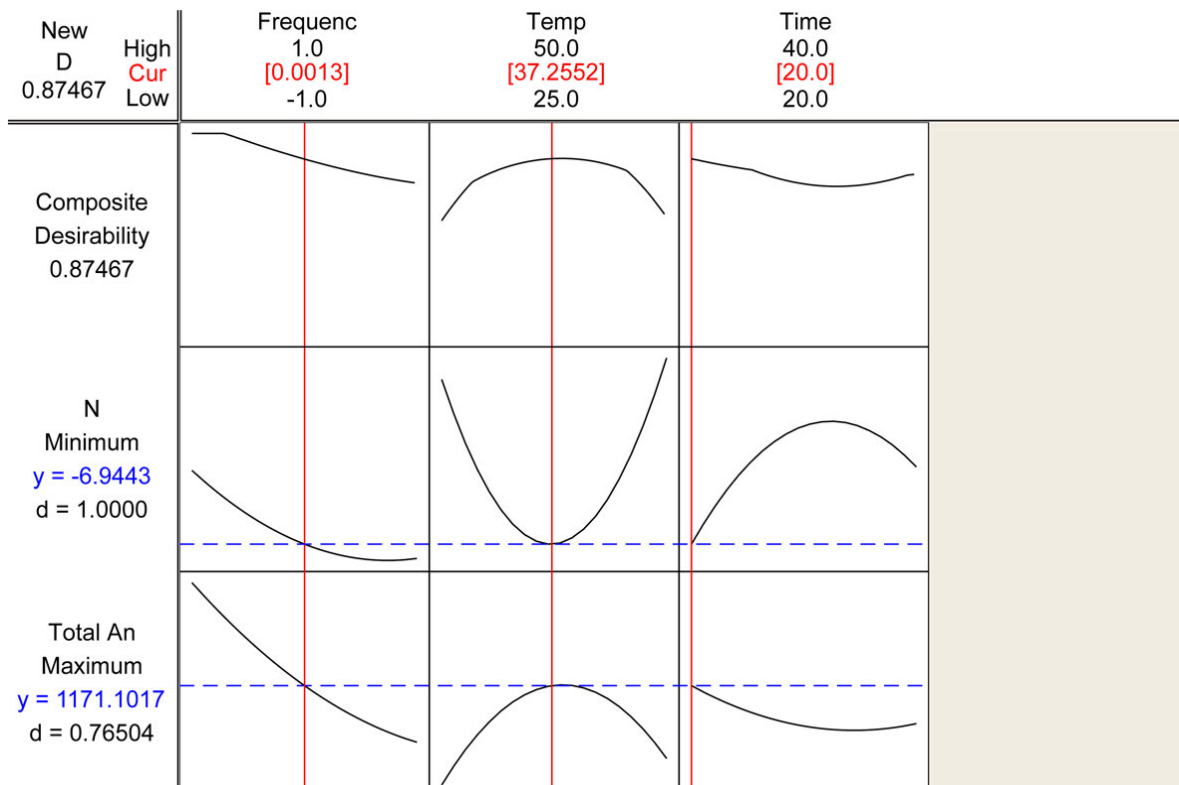
رابطه کلی میزان آنتوسیانین کل (Total An) و فرکانس فراصوت ( $X_1$ )، دما ( $X_2$ )، و زمان ( $X_3$ ) به صورت رابطه ۲ است:

(رابطه ۲)

$$TotalAn = 365.59 - 1128.42X_1 + 12.11X_1X_2 + 14.72X_1X_3$$

### بهینه‌سازی

شرایط بهینه فرایند فراصوت آب انگور قرمز برای دست‌یابی به کمترین میزان فعالیت مخمرها و بیشترین میزان آنتوسیانین کل تعیین شد. در این مطالعه مدل‌های چندجمله‌ای درجه دوم به دست آمده برای هر پاسخ استفاده شدند تا شرایط بهینه خاص، تعیین شود. این مدل‌های رگرسیونی فقط در حوزه انتخاب شده اعتبار دارند. بنابراین ناحیه عملیاتی با در نظر گرفتن تعدادی از محدودیت‌های اقتصادی، صنعتی، و کیفیتی محصول تعیین شد. در این تحقیق، دما، زمان فرایند، و فرکانس به ترتیب در محدوده  $25-37/5^{\circ}\text{C}$ ،  $20-30-40$  دقیقه،  $0-67/5-135$  کیلوهرتز انتخاب شدند. با به کارگیری روش تابع مطلوبیت



شکل ۳. نمودار بهینه‌سازی و شرایط بهینه به دست آمده

آنتوسیانین، حداقل فعالیت آنتی‌اکسیدانی، و فعالیت مخمر ساکارومیسیس سرویزیه با نمونه تازه آب انگور به کار گرفته شد. نتایج به دست آمده حاکی از این بود که تأثیرات خطی و

### نتیجه‌گیری کلی

روش سطح پاسخ برای تعیین شرایط بهینه فرایند فراصوت (فرکانس، درجه حرارت، زمان) با هدف دست‌یابی به حداکثر

به‌دست‌آمده برای پیش‌بینی مقادیر متغیرهای وابسته نتایج بسیار نزدیکی با مقادیر حاصل از آزمون‌های تجربی به‌دست داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از روش آماری سطح پاسخ برای بهینه‌سازی غیر فعال‌سازی مخمر ساکارومیسس سرویزیه با استفاده از فرایند فراصوت موفقیت‌آمیز بود.

درجه‌دو هر سه متغیر مستقل فرکانس، درجه حرارت، زمان بر میزان غیرفعال‌سازی ساکارومیسس سرویزیه، آنتوسیانین معنی‌دار بودند ( $p < 0.05$ ). برای هر پاسخ با استفاده از آنالیز رگرسیون خطی چندجمله‌ای درجه‌دوم به‌دست آمد. آنالیز واریانس (ANOVA) به‌منظور ارزیابی صحت و دقت مدل‌های به‌دست‌آمده اجرا گردید. نقطه بهینه

## REFERENCES

- Anonymous (1991) Islamic Republic of Iran's standards for grape juice, number 12.
- Carreno, J., Martinez, A., Almela, L., & Fernandez-Lopez, J., (1997) Proposal of index for the objective evaluation of the colour of red table grapes. *Food Research International*, 28, 373-377.
- Dolati Baneh, H (2009) Harvest, packaging and storage of grape, Iranian agricultural ministry publications.
- Guerrero, S., López-Malo, A. & Alzamora, S.M., (2001) Effect of ultrasound on the survival of *Saccharomyces cerevisiae*: influence of temperature, pH and amplitude. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 2, 31–39.
- Harrington, E.C. (1965) The desirability function. *Industrial Quality Control*, 21, 494-498.
- Jambrak, A.R., Mason, T.J., Lelas, V., Herceg, Z., Herceg, I.L., (2008) Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions. *Journal of Food Engineering*, 86, 281–287.
- Kargozari, M., Emam-Djomeh, Z.; Moini, S. (2011) Optimal osmosis dried carrot with use of response surface method. *Iran Biosystem Engineering*, 42, 215-224.
- Kennedy, J., Hayaska, Y., Vidal, S., Waters, E., & Jones, G. (2001) Composition of grapes kinpro anthocyanidins at different stages of berry development, *Agricultural Food chemistry*, 49, 5348-535.
- Koda, S., Miyamoto, M., Toma, M., Matsuoka, T. & Maebayashi, M., (2009) Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* by ultrasound at 500 kHz. *Ultrasonics Sonochemistry* 16, 655–659.
- Lopez-Malo, A., Gurrero, S., & Alzamora, S. (1999) *Saccharomyces cerevisiae* thermal inactivation kinetics combined with ultrasound, *Journal of food protection*, 62, 1215-1217.
- Manas, P., Pagan, R., Raso, J., Sala, F.J., & Condon, S., (2000) Inactivation of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, and *Salmonella Senftenberg* by ultrasonic waves under pressure. *Journal of Food Protection* 63, 451–456.
- Piyasena, P., Mohareb, E., & McKellar, R.C., (2003) Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology* 87, 207–216.
- Orak, H. (2007). Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, poly phenoloxidases activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111, 235-241.
- Salleh-Mack, S., & Roberts, J. (2007) Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Esherchia Coli*, *Ultrasonics Sonochemistry*, 14, 323-329.
- Shamaei, S., Emam-djomeh1, Z. and S. Moini (2013) Modeling and optimization of ultrasound assisted osmotic dehydration of cranberry using response surface methodology, *Journal of agricultural science and technology*, 14, 1523-1534.
- Tiwari, B., Patras, A., Brunton, N., Cullen, P., & Donnel, O. (2010) Effect of ultrasound Processing on anthocyanins and color of red grape juice, *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 598-604.
- Tiwari, B.K., Muthukumarappan, K., O'Donnell, C.P. and Cullen, P.J. (2008) Effects of sonication on the kinetics of orange juice quality parameters, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (7), 2423-2428.
- Ugarte-Romero, E., Feng, H., Martin, S., Cadwallader, K., & Robinson, S. (2006). Inactivation of *Esherchia coli* with power ultrasound in apple cider, *Journal of Food Science*, 71, 102-108.
- Wordon, B., Mortimer, B., & McMaster, L. (2012). Comparative real-time analysis of *Saccharomyces cerevisiae* cell viability, injury and death induced by ultrasound (20kHz) and heat for the application of hurdle technology, *Food Research International*, 47, 134-139.