

طراحی پروب فراصوت و بررسی اثر امواج فراصوت بر باکتری /شرشیاکلی آب آلبالو

بهرام حسین زاده سامانی^۱ - محمد هادی خوش تقاضا^{۲*} - سعید مینایی^۲ - زهره حمیدی اصفهانی^۳ - مریم توکلی دخر آبادی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۱۴

چکیده

برای کاهش اثرات منفی روش حرارتی متداول پاستوریزاسیون بر روی مواد غذایی می‌توان از روش‌های غیر حرارتی استفاده نمود. هدف در این پژوهش بررسی روش غیر حرارتی فراصوت و عوامل تأثیرگذار آن بر باکتری /شرشیاکلی آب آلبالو می‌باشد. برای این منظور متغیرهای مستقل توان فراصوت (۲۰۰ تا ۶۰۰ وات)، زمان موج‌دهی (۵ تا ۱۵ دقیقه)، قطر پروب (۲۰ تا ۴۰ میلی‌متر) و عمق نفوذ پروب در ظرف حاوی آب آلبالو (۰ تا ۴۰ میلی‌متر) انتخاب گردید. در ابتدا طراحی پروب‌ها با قطره‌های مورد نظر توسط روابط موجود و نرم افزارهای CAD-CAM انجام پذیرفت. پس از انجام آزمایشات، تحلیل داده‌ها به روش سطح پاسخ نشان داد که مدل درجه دوم با ضریب تبیین ۰/۹۶، میزان خطای استاندارد ۱۵۴۵/۷۳ و ضریب تغییرات ۱۴٪ بهترین مدل برای برآورد تعداد باکتری /شرشیاکلی در تیمارهای مختلف بوده است. همچنین نتایج نشان دادند که با افزایش توان و زمان امواج‌دهی اثر کشندگی امواج فراصوت افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش قطر و عمق نفوذ پروب ابتدا اثر کشندگی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. در انتها متغیرهای مورد آزمایش با روش سطح پاسخ بهینه شده و مقادیر به‌دست آمده برای توان فراصوت، زمان اعمال امواج، قطر پروب و عمق نفوذ پروب به ترتیب برابر ۶۰۰ وات، ۱۵ دقیقه، ۳۵/۳۱ میلی‌متر و ۲۰/۸۳ میلی‌متر به‌دست آمدند. به‌ازای مقادیر ذکر شده، میزان کاهش /شرشیاکلی برآورد شده برابر ۱/۹۷ دوره لگاریتمی بوده است.

واژه‌های کلیدی: پاستوریزاسیون، پروب، توان، سطح پاسخ، کاویتاسیون، موج فراصوت

مقدمه

سلسیوس، موفقیت زیادی را در سترون‌سازی مواد غذایی داشته‌اند. اصولاً فشار هیدرواستاتیک بالا موجب آسیب رساندن به غشاء باکتری‌ها و غیرفعال کردن آنزیم‌ها می‌شود (Chen and Tseng, 1996). میدان الکتریکی دارای پتانسیل غیرفعال‌سازی ریزسازواره‌ها می‌باشد. در این فرآیند، اثرات مخرب روی خواص حسی و ارزش تغذیه‌ای به مراتب کمتر از روش حرارتی است. پژوهشگران نیز اثر میدان الکتریکی را روی غیرفعال کردن باکتری‌ها، کپک و مخمر گزارش کرده‌اند (Evrendilek et al., 2008).

در روش اعمال امواج فراصوت، عمل کاویتاسیون روی داده که موجب مرگ و از بین رفتن ریزسازواره‌ها و آنزیم‌ها می‌شود. هنگامی که توان بالای امواج فراصوت در محیط پخش می‌شود میکروحباب‌هایی با فشار نوسانی ایجاد می‌شوند که ترکیدن آنها موجب افزایش دما و فشار محیطی می‌شود. این فرآیند با ایجاد نیروی برشی و تغییر سریع فشار تولید شده اثر مخربی را بر دیواره‌ی میکروب‌ها اعمال می‌کند. این عامل اگر با افزایش دما ترکیب شود اثر مضاعفی را در برخواهد داشت (Kuldiloke, 2002). بنابراین امواج فراصوت مقاومت ریزسازواره‌ها را با آسیب فیزیکی وارده به آنها نسبت به دما کاهش می‌دهد و مشابه این تغییر را نیز در غیرفعال کردن آنزیم‌ها دارند (Valero et al., 2007).

برای کاهش اثرات منفی روش حرارتی پاستوریزاسیون (از دست دادن ویتامین‌ها، قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، منقلب شدن پروتئین و از دست دادن طعم ماده غذایی)، می‌توان از روش‌های دیگری استفاده نمود که توانایی از بین بردن ریزسازواره‌ها^۵ را دارا باشند. در این راستا می‌توان به روش‌های غیرحرارتی اشاره نمود که شامل روش‌های پاستوریزه کردن توسط فشار هیدرواستاتیک بالا، میدان الکتریکی و امواج فراصوت می‌باشد (Mertens and Knorr, 1992; Arnsson et al., 2001; Alvarez-Lo'pez et al., 2003). فشارهای هیدرواستاتیک بالا نیز تأثیر زیادی در از بین بردن ریزسازواره و آنزیم‌ها نشان داده به‌طوری که در سال‌های اخیر، ترکیب فشارهای بالا از ۷۰۰ تا ۱۰۰۰ مگاپاسکال و دماهای بین ۷۰ تا ۹۰ درجه

۱- دانشجوی دکتری مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

۲- دانشیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشگاه تربیت مدرس

*- نویسنده مسئول: (Email: khoshtag@modares.ac.ir)

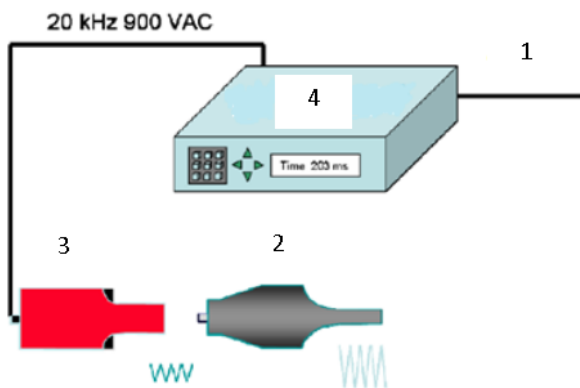
۳- دانشیار گروه مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس

مصرف فرآورده‌های آلوده منجر به مرگ انسان نیز می‌گردند (Uljas and Ingham., 1999). به همین دلایل در تحقیق حاضر/اشرشیاکلی به‌عنوان مورد مطالعاتی در نظر گرفته شد. هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر امواج فراصوت و برخی پارامترها مانند زمان موج‌دهی، قطر پروب و عمق نفوذ پروب بر کاهش تعداد باکتری/اشرشیاکلی در آب آلبالو می‌باشد که بتوان در انتها شرایط بهینه‌ای را برای اثرگذاری بیشتر امواج فراصوت بر باکتری نام برده گزارش داد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از یک دستگاه مولد فراصوت مدل AMMM، ۱۰۰۰ وات با بسامد 20 ± 0.5 کیلوهرتز ساخت کشور سوئیس استفاده شده است (شکل ۱). در این سامانه منبع تغذیه، ولتاژ تحریک پیزوالکتریک‌های موجود در مبدل را تولید می‌کند و در مبدل تغییرات ولتاژ به یک ارتعاش مکانیکی تبدیل می‌شود. در انتها هورن یا پروب ارتعاش ایجاد شده را به محیط انتقال می‌دهد. در این تحقیق هدف بررسی اثرات قطر پروب فراصوت، قطر رآکتور و ارتفاع رآکتور (ارتفاع آب‌میوه درون رآکتور) بر میزان اثرگذاری امواج فراصوت بر روی اشرشیاکلی درون آب آلبالو می‌باشد. بدین منظور ابتدا مقداری آلبالو از بازار محلی (بازار میوه و تره‌بار، پیکانشهر، تهران) تهیه گردید و پس از شستشو، خشک کردن و هسته‌گیری، با آمیوه‌گیری برقی به‌منظور جداسازی ذرات معلق پالپ و اجزای بافت، عصاره استخراج شده به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتیفریوژ گردید. برای بالا بردن دقت جداسازی و همچنین جداسازی کامل ذرات معلق باقیمانده بخش شفاف، عصاره به کمک پمپ خلاء (مدل GM-033II، ساخت کشور چین) از کاغذ صافی واتمن عبور داده شد (Mehmandoust et al., 2011). سپس نمونه‌ها در راکتوری به قطر ۸۰ میلی‌متر و تا ارتفاع ۵۰ میلی‌متر ریخته شدند.



شکل ۱- طرح شماتیک دستگاه فراصوت: ۱- ولتاژ ورودی، ۲- پروب، ۳- مبدل، ۴- منبع تغذیه

Fig.1. Schematic of ultrasonic set up: 1-Input voltage, 2-Probe, 3- Transducer, 4- Power supply

پژوهشگران اثر فراصوت و گرمای ملایم را بر ریزسازواره‌های فعال و غیر فعال آب پرتقال در زمان پرتودهی و همچنین پس از پرتودهی بررسی کردند. در این تحقیق امواج با بسامد ۵۰۰ کیلوهرتز و توان ۲۴۰ وات در مدت ۱۵ دقیقه روی آب پرتقال اعمال شد و آن را در طی ۱۴ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سلسیوس مورد مطالعه قرار دادند. در این پژوهش مشخص گردید که حضور پالپ‌های آب میوه موجب افزایش مقاومت میکروپها در مقابل امواج فراصوت گردید. در ضمن آنها استفاده از ترکیب فراصوت با روش‌های حرارتی را در جهت کاهش فعالیت میکروبی و افزایش زمان انبارداری پیشنهاد کردند (Valero et al., 2007).

توانایی فرآیند ترکیبی فراصوت، حرارت و فشار در غیر فعال کردن آنزیم پکتین استراز^۱ (PE) عامل از بین بردن حالت ابری مواد معلق در آب لیمو و عصاره‌ی سایر میوه‌ها بررسی شده است (Kuldiloke and Eshtiaghi, 2008). اصولاً وجود ابر، ظاهری تازه به محصول می‌دهد و بر مشتری پسندی آن می‌افزاید. در این پژوهش از ترکیب تیمار گرمایی (دماهای زیر 100°C) فشاری (۱۰۰-۳۰۰ کیلو پاسگال) به همراه امواج فراصوتی (۲۴ کیلوهرتز و ۴۰۰ وات) تحت عنوان مانوترموسونیکشن^۲ به‌منظور کارآمد کردن اثر گرما در غیرفعال کردن آنزیم استفاده شد. این روش روی عصاره‌ی لیمو، توت‌فرنگی و گوجه‌فرنگی آزمایش شد. نتایج این تحقیق نشان داد که غیرفعال شدن آنزیم با استفاده از امواج فراصوتی به مدت زمان اعمال موج، دما، فشار، pH ماده، و دامنه‌ی امواج فراصوت بستگی دارد. همچنین نتیجه گرفته شد که غیرفعال‌سازی آنزیم برگشت ناپذیر است و در طول زمان انبارداری فعال نمی‌شود (Kuldiloke and Eshtiaghi, 2008).

در پژوهش دیگر اثر امواج فراصوت روی آب میوه‌های پرتقال و سیب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد امواج فراصوت به‌تنهایی قادر به کاهش ۵ سیکل لگاریتمی جمعیت اشرشیاکلی در شدت‌های بالای فراصوت و مدت زمان ۱۵ دقیقه بوده است (Patil et al., 2009). همچنین پژوهشگران با مطالعه اثر امواج فراصوت بر آب لیمو دریافتند که امواج فراصوت به‌کار رفته با فرکانس ۲۵ کیلوهرتز بعد از گذشت ۶۰ دقیقه توانسته شمارش کل ریززنده‌ها و کپک و مخمر را به‌ترتیب به میزان $1/9$ و $0/5$ سیکل لگاریتمی کاهش دهد (Bhat et al., 2011). اما باید توجه داشت که نگرانی اصلی در مورد آب میوه‌های فرآوری نشده، آلوده شدن آن‌ها به ریززنده‌هایی از قبیل باکتری‌های مقاوم به اسید، قارچ‌ها (مخمرها و کپک‌ها) و باکتری‌های بیماری‌زا به‌ویژه اشرشیاکلی و لیستریا می‌باشد. این ریززنده‌ها قادرند در شرایط اسیدی زنده بمانند، به‌طوری که پس از

1- Pectin esterase
2- Manothermosonication

$$\begin{cases} a) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = 0 \\ b) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = l \\ c) u(0) = u_{in} \end{cases} \quad (۶)$$

که در آن، l طول پروب و u_{in} دامنه حرکت انتقال داده شده از مبدل به پروب می‌باشد. با توجه به رابطه (۵) و شرایط مرزی بیان شده (رابطه ۶) طول پروب برابر نصف طول موج فراصوت به دست آمد که با توجه به جنس انتخابی به دست می‌آید (تفصیل حل معادله در پیوست آمده است).

در ادامه از روابط $\sigma = E \cdot \varepsilon$ ، $\varepsilon = \frac{\partial u}{\partial x}$ و (۵) و (۶) می‌توان تغییرات تنش را در طول پروب مطابق زیر به دست آورد:

$$\sigma = -E \cdot u_{in} \cdot \frac{\omega}{c} \cdot \sin \frac{\omega \cdot x}{c} \quad (۷)$$

در اینجا σ تنش محوری، E ضریب الاستیسیته و ε کرنش می‌باشد.

برای به دست آوردن تنش محوری بیشینه، باید از رابطه (۸) مشتق گرفت و مساوی صفر قرار داد:

$$\sigma_{max} = \pi \cdot E \cdot \frac{u_{in}}{l} \quad (۸)$$

آزمایش میکروبی

پس از باز نمودن آمپول حاوی سوش استاندارد لیوفیلیزه /شرشیاکلی به (شماره 5052 PTCC و تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران)، باکتری بر روی محیط کشت نوترینت آگار کشت داده شده و بعد از گرم‌خانه‌گذاری به محیط کشت مایع مربوطه منتقل گردید. برای این منظور، یک حلقه پر از سویه‌ی میکروبی رشد یافته بر روی آگار تحت شرایط استریل به ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مایع نوترینت برای تهیه سوسپانسیون میکروبی یا تهیه تعلیق باکتریایی تلقیح گردید و به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید. محیط کشت مایع حاوی سلول‌های رشد یافته به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده تا از محیط کشت جدا شوند و مجدداً توده سلولی حاصله در آب آلبالو استریل به صورت سوسپانسیون درآمد. مقدار ۳ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب آلبالو تلقیح گردید. لازم به ذکر است شمار /شرشیاکلی برابر با ۱۰^۵ عدد در میلی‌لیتر برای نمونه اولیه بوده است. سپس این سوسپانسیون سلولی برای سازگار شدن با محیط جدید به مدت ۳۰-۱۵ دقیقه قبل از مطالعه‌های غیرفعال سازی نگه داشته شد. لازم به ذکر است محیط‌های کشت مورد استفاده برای فعال‌سازی اولیه و تکثیر شامل محیط کشت

لازم به ذکر است ابعاد این راکتور در پیش آزمایشات بهینه شده بودند. همچنین برای بررسی اثر قطر پروب‌های فراصوت بر بازدهی اثر کشندگی ریزسازواره‌ها نیاز به طراحی پروب با قطرهای مختلف بود. بدین منظور با روابط موجود پروب‌هایی با قطر ۲۰، ۳۰ و ۴۰ میلی‌متر از جنس آلومینیوم طراحی و ساخته شد.

طراحی پروب

برای طراحی پروب فراصوت، با توجه به روابط موجود ارتعاشات، می‌توان از رابطه (۱) استفاده نمود (Hosseinzadeh et al., 2013).

$$c^2 \cdot \left[\frac{\partial S}{\partial x} \cdot \frac{\partial u(x,t)}{\partial x} + \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial x^2} \right] = \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial t^2} \quad (۱)$$

رابطه (۱) حالت کلی ارتعاش در پروب را نشان می‌دهد که با در نظر گرفتن شرایط مرزی می‌توان جابه‌جایی طولی در پروب با شکل‌های گوناگون را در هنگام ارتعاش به دست آورد. در این رابطه، c سرعت انتشار موج ($m \cdot s^{-1}$)، S سطح مقطع پروب (m^2)، $u(x,t)$ جابه‌جایی پروب در زمان t و مکان x می‌باشد.

ساده‌ترین نوع پروب، پروب استوانه‌ای است که به دلیل ثابت بودن مساحت ($\frac{\partial S}{\partial x} = 0$) در تمام طول رابطه (۱) به صورت رابطه (۲) ساده می‌شود:

$$c^2 \cdot \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial x^2} = \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial t^2} \quad (۲)$$

برای حل معادله دیفرانسیل جزئی (۲)، از روش تفکیک متغیرها استفاده می‌شود. بنابراین با جایگذاری $u(x,t) = g(x) \cdot h(t)$ معادله (۲) به دو معادله دیفرانسیل معمولی (۳) و (۴) تبدیل می‌شود.

$$\frac{\partial^2 g(x)}{\partial x^2} + \frac{\omega^2}{c^2} \cdot g(x) = 0 \quad (۳)$$

$$\frac{\partial^2 h(t)}{\partial t^2} + \omega^2 \cdot h(t) = 0 \quad (۴)$$

در روابط فوق، ω بسامد زاویه‌ای ارتعاشات می‌باشد. در ادامه با حل معادلات دیفرانسیل (۳) و (۴) رابطه (۵) به دست می‌آید.

$$u(x,t) = \left(A \cos \frac{\omega x}{c} + B \sin \frac{\omega x}{c} \right) (C \cos \omega t + D \sin \omega t) \quad (۵)$$

u میزان جابه‌جایی نقاط پروب در زمان‌های مختلف می‌باشد. حال رابطه (۵) با شرط پایداری (steady state) و شرایط مرزی (۶) حل می‌شود (McCulloch, 2008):

برای محاسبه طول پروب از نتایج مستخرج از رابطه (۵) استفاده می‌شود که برابر با نصف طول موج به‌دست آمد. از آنجا که طول موج به سرعت انتشار صوت در پروب بستگی دارد و سرعت انتشار به جنس آن مربوط می‌شود، در نتیجه در طراحی بعد از انتخاب جنس پروب، طول آن تعیین می‌گردد. با توجه به موارد فوق، برای بررسی صحت نتایج ذکر شده، ابعاد به‌دست آمده برای طراحی پروب با جنس آلومینیوم توسط رایانه نیز حل شد. با توجه به جنس انتخاب شده خواص مورد نیاز برای آنالیز در رایانه توسط نرم افزارهای CAD-CAM به‌صورت زیر در نظر گرفته شد (Bentitez, 2004):

$$C=5140 \text{ m s}^{-1} \text{ و } E=74 \text{ GPa و } \rho=2800 \text{ kg m}^{-3}$$

بسامد ارتعاشی مبدل در محدوده کاری 1 ± 20 کیلو هرتز بوده و قابلیت تغییر در این محدوده را دارا می‌باشد. حال با داشتن بسامد ارتعاشی و سرعت انتشار صوت در آلومینیوم و با استفاده از رابطه (۵) و شرایط مرزی (رابطه ۶) طول پروب استوانه‌ای برابر با $126/6$ میلی‌متر به‌دست آمد. با توجه به اینکه قطر پروب از متغیرهای مستقل آزمایش بوده، پروب‌های طراحی شده باید دارای قطرهای 20 ، 30 و 40 میلی‌متر باشند. آنالیز مودال نشان داد که پروب‌های طراحی شده دارای بسامد طبیعی به‌ترتیب برابر با $19/98$ ، $20/1$ و $19/91$ کیلوهرتز می‌باشند که در محدوده بسامد کاری دستگاه قرار دارد. در محدوده قرار گرفتن بسامد طبیعی پروب در بسامد ارتعاشی اعمال شده به پروب نشان‌دهنده صحیح بودن طراحی است و پروب طراحی شده قابلیت کار در محیط مورد نظر را دارا می‌باشد. همچنین لازم به ذکر است که بسامد اعمالی از ژنراتور به‌گونه‌ای تنظیم گردید که پروب‌ها در بسامد نزدیک به بسامد تشدید ارتعاش نمایند. در شکل ۲ روند تغییرات تنش و دامنه ارتعاش در طول پروب نشان داده می‌شود که از روابط (۵) و (۷) و نرم افزار ANSYS14 به‌دست آمده است (المان انتخابی SOLID187). ملاحظه می‌شود بیشترین میزان تنش در وسط پروب روی می‌دهد که این امر نشان‌دهنده اهمیت انتخاب جنس و قطر پروب برای دارا بودن مقاومت کافی در هنگام کار پروب می‌باشد همچنین قابل مشاهده است که در دو انتهای پروب بیشترین دامنه ارتعاشی وجود داشته است که بیانگر شرایط مطلوب در انتخاب طول پروب می‌باشد.

تحلیل آماری

همانطور که جدول ۲ نشان می‌دهد در تحلیل به روش منحنی‌پاسخ، اثرات اصلی توان فراصوت، قطر پروب و عمق نفوذ پروب در سطح احتمال ۱٪ و مدت زمان موجهی در سطح احتمال ۵٪ بر تعداد/شرشیاکلی باقی‌مانده در آب آلبالو معنی‌دار بوده است. همچنین در میان شش اثر متقابل، اثر متقابل توان و قطر پروب در سطح احتمال ۱٪ و زمان و عمق نفوذ پروب در سطح احتمال ۵٪ بر متغیر وابسته نام برده معنی‌دار بوده‌اند.

مابع/اجامد نوترینت (Micromedia, Hungary) بودند.

برای تعیین میزان سلول‌های زنده و تخمین زمان مرگ ریزسازواره‌ها، نمونه‌های تیمار شده و نشده با فراصوت به‌صورت متوالی با سرم فیزیولوژیکی رقیق شده و کشت آن‌ها به‌صورت سطحی بر روی محیط کشت مک کانکی سوربیتل آگار^۱ (Merck, Germany) انجام گرفت. صفحه‌های کشت/شرشیاکلی در دمای 35°C گرم‌خانه‌گذاری شده و سپس کلنی‌های ظاهر شده بعد از $48-24$ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شمارش شدند (Kuldiloke, 2002).

روش تحلیلی، بهینه‌سازی و مدلسازی سطح پاسخ

روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از فن‌های ریاضی و آماری است که برای توسعه، پیشبرد و بهینه‌سازی فرآیندهایی به‌کار می‌رود که در آن‌ها سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار داشته و هدف، بهینه کردن پاسخ مزبور است (Halim et al., 2009):
به‌منظور به‌دست آوردن مقدار بهینه، از حل رابطه رگرسیون (۹) استفاده خواهد شد.

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \varepsilon \quad (9)$$

که در آن، β_0 ، β_i ، β_{ij} و β_{ii} ضرایب ثابت، X_i و X_j متغیرهای مستقل در فرآیند و ε خطای تصادفی می‌باشند. در این آزمایش از طرح باکس-بنکن^۲ با پنج نقطه مرکزی استفاده شده است. که با توجه به جدول ۱ سطوح متغیرهای مستقل کد بندی شده‌اند.

جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل انتخاب شده در روش سطح پاسخ

Table 1- Selected level of independent variables on response surface method

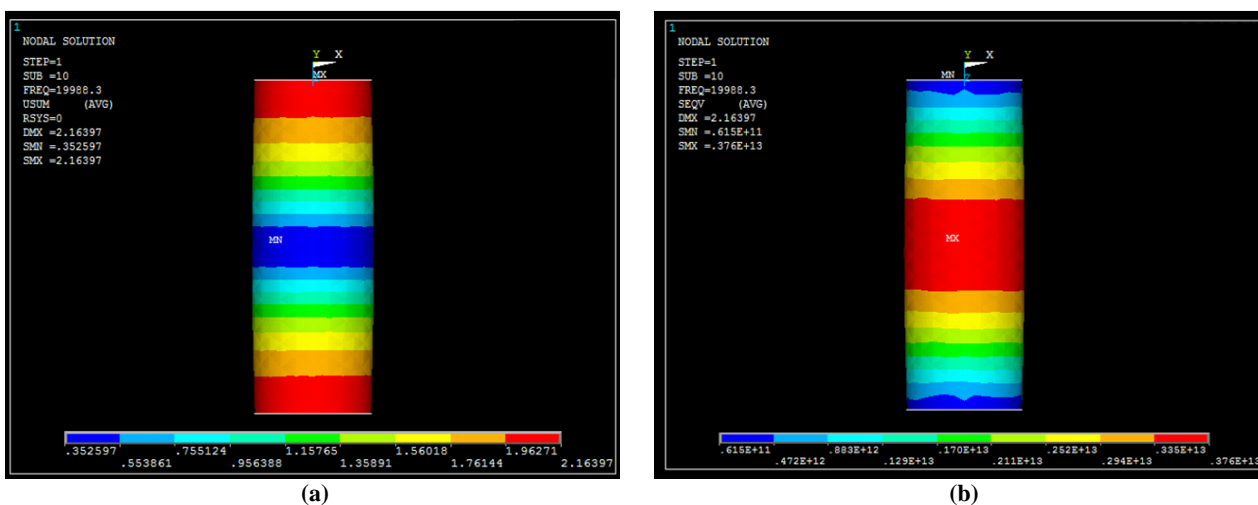
متغیرها	سطوح کد بندی		
	1	0	-1
توان فراصوت Ultrasonic power (W)	600	400	200
زمان Time (min)	15	10	5
قطر پروب Probe diameter (mm)	40	30	20
عمق نفوذ پروب Probe Penetration depth (mm)	40	20	0

نتایج و بحث

طول پروب

از عوامل مهم در طراحی پروب می‌توان به طول آن اشاره نمود.

- 1- Macconkey sorbitol agar
- 2- Box-behnken

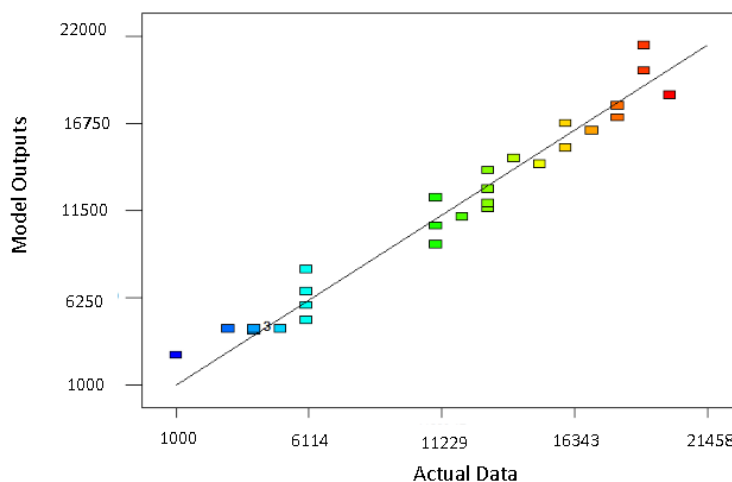


شکل ۲- تحلیل حاصل از نرم افزار ANSYS در طول پروب استوانه‌ای (a) میزان جابه‌جایی (b) تنش (von Mises).
Fig.2. ANSYS analysis along the cylindrical probe a) Displacement b) The von Mises stress

تنها عوامل معنی‌دار در مدل باقی می‌ماند. مدل ساده شده درجه دوم برای داده‌های واقعی آزمایش به صورت رابطه (۱۰) مشاهده می‌شود.

$$N = 57758.333 + 5.666 \times P - 1940.000 \times T - 1888.333 \times D_p - 7175.000 \times D_h - 1.375 \times P \times D_p + 37.500 \times T \times D_h + 0.0439 \times P^2 + 15.333 \times T^2 + 40.083 \times D_p^2 + 1845.833 \times D_h^2 \quad (10)$$

توان دوم تمامی اثرات اصلی نیز در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار مشاهده شده است. با توجه به اینکه خطای عدم تطبیق در آنالیز واریانس معنی‌دار نشده است و همچنین مقدار ضریب تبیین در مدل برابر با ۰/۹۶، میزان خطای استاندارد برابر با ۱۵۴۵/۷۳ و ضریب تغییرات برابر با ۱۴٪ شده است، این امر بیانگر دقت مناسب مدل درجه دوم در تخمین تعداد باکتری /اشرشیاکلی باقی‌مانده در آب‌آلبالو به‌ازای متغیرهای مستقل ذکر شده، بوده است. میزان دقت مدل در پیش‌بینی یا برآورد تعداد باکتری در شکل ۳ قابل ملاحظه می‌باشد. با توجه به جدول ۲، متغیرهای بدون تأثیر از مدل حذف شده و



شکل ۳- برازش داده‌های تجربی در مقابل داده‌های مدل برای تعداد باکتری اشرشیاکلی
Fig.3. Actual Ecoli count data against model outputs

جدول ۲- آنالیز واریانس داده‌های تعداد *اشرشیاکلی* در روش سطح پاسخ

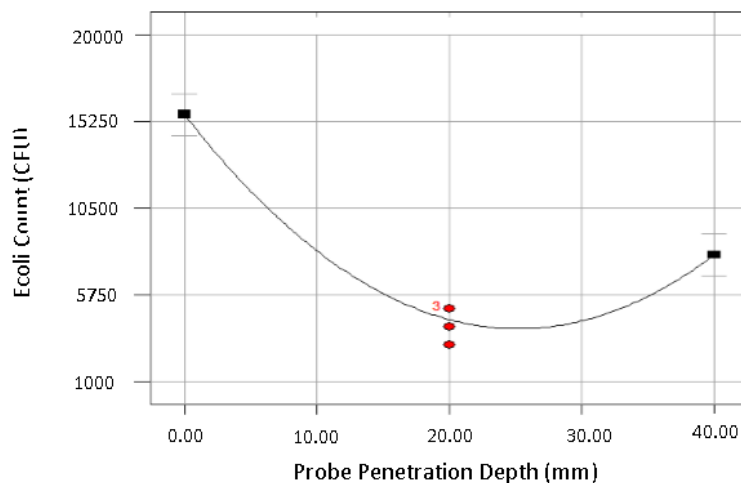
Table 2- Variance analysis of *E. coli* count data in response surface method

منبع تغییر Source	مجموع مربعات Sum of Squares	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean Square	p-value
مدل Model	871515517.2	14	62251108.37	< 0.0001
توان Power	52083333.33	1	52083333.33	0.0004
زمان Time	161333333.3	1	161333333.3	< 0.0001
قطر پروب Probe diameter	14083333.33	1	14083333.33	0.0293
عمق نفوذ پروب Probe penetration depth	176333333.3	1	176333333.3	< 0.0001
توان×زمان Power×Time	1000000	1	1000000	0.5281
توان×قطر پروب Power× Probe Diameter	30250000	1	30250000	0.0031
توان×عمق نفوذ پروب Power×Probe depth	4000000	1	4000000	0.2166
زمان×قطر پروب Time×Probe diameter	2250000	1	2250000	0.3483
زمان×عمق نفوذ پروب Time×Probe penetration depth	20250000	1	20250000	0.0114
قطر پروب×عمق نفوذ پروب Probe diameter×Probe penetration depth	2250000	1	2250000	0.3483
توان ^۲ Power ²	20054504.5	1	20054504.5	0.0117
زمان ^۲ Time ²	53926126.13	1	53926126.13	0.0003
قطر پروب ^۲ Diameter probe ²	104216666.7	1	104216666.7	< 0.0001
عمق نفوذ پروب ^۲ Probe penetration depth ²	353601801.8	1	353601801.8	< 0.0001
باقیمانده Residual	33450000	14	2389285.714	
عدم تطبیق Lack of fit	30250000	10	3025000	0.1058
خطای خالص Pure error	3200000	4	800000	
کل Cor total	904965517.2	28		

ns و *، ** به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و عدم معنی‌داری
**، * and ns significant at 1%, 5% level and not significant, respectively.

عمق نفوذ پروب می‌باشد که علامت منفی آن بیانگر اثر معکوس پارامتر نام برده با شمار *اشرشیاکلی* می‌باشد. شکل ۴ نشان می‌دهد که با افزایش عمق نفوذ پروب، شمار *اشرشیاکلی* کاهش پیدا می‌کند. لازم به ذکر است که روند کلی تغییرات شمار میکروبی با افزایش عمق نفوذ پروب از ۰ تا ۴۰ میلی‌متر کاهشی بوده ولی بیشترین کاهش در عمق ۲۰/۸۳ میلی‌متر مشاهده شده است.

که در آن، N تعداد باکتری *اشرشیاکلی* باقی‌مانده، P توان فراصوت (W)، T زمان اعمال امواج فراصوت (min)، D_p قطر پروب (mm) و D_h عمق نفوذ پروب (mm) می‌باشند. همانطور که در رابطه (۱۰) مشاهده می‌شود ضرایب متغیرهای مستقل توان، مربع توان، مربع زمان، مربع قطر پروب و مربع عمق نفوذ پروب مثبت می‌باشد. در نتیجه افزایش هر یک از متغیرهای نام برده اثری فزاینده در مدل ارائه شده دارد. لازم به ذکر است که بیشترین ضریب مربوط به متغیر



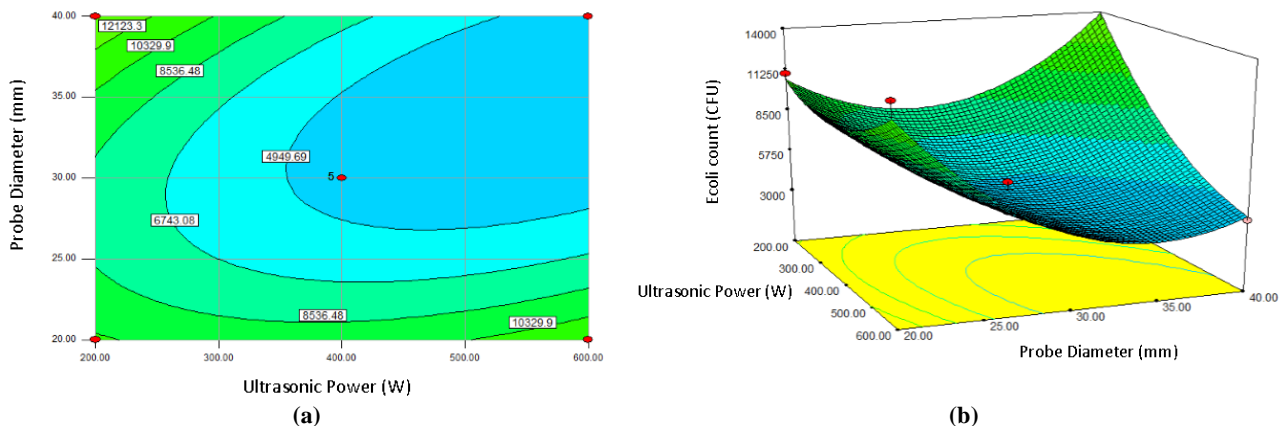
شکل ۴- اثر عمق نفوذ پروب امواج فراصوت بر تعداد باکتری *اشرشیاکلی*
Fig.4. Effect of ultrasonic probe penetration depth on E. coli count

زنده‌ها افزایش پیدا کرده است (Kuldiloke, 2002). همچنین در تحقیقی دیگر نشان داده شد با افزایش توان فراصوت شدن غیرفعال‌سازی پکتین استراز آب گوجه‌فرنگی افزایش یافته است (Wu *et al.*, 2008). نتایج تحقیقات ذکر شده با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشته است. همچنین با افزایش قطر پروب ابتدا اثر کشندگی افزایش یافته و سپس دوبار کاهش می‌یابد. دلیل این امر اینگونه به نظر می‌رسد که با افزایش قطر پروب حجم تشکیل حباب‌ها برای عملیات کاویتاسیون افزایش یافته است ولی با افزایش بیشتر قطر پروب بر اثر افزایش وزن پروب و افزایش نیروی مورد نیاز برای ارتعاش پروب تحرک پروب کاهش پیدا کرده و به کریستال‌های پیروالکتریک و مولد جریان الکتریسیته فشار بسیاری وارد می‌شود. همچنین با افزایش قطر پروب موج‌های انتشار یافته در راستای عمود بر پروب نیز افزایش می‌یابند و این امر موجب کاهش عمل کاویتاسیون شده است. به همین دلیل در طراحی پروب توصیه شده است که قطر پروب از یک چهارم طول موج در پروب کمتر باشد (Mcculloch, 2008; Vichare *et al.*, 2001).

در جدول ۲ مشاهده شد که اثر متقابل زمان و عمق نفوذ پروب در سطح ۵٪ معنی‌دار شده است. با افزایش زمان تیماردهی با امواج فراصوت، تعداد ریز سازواره در آب آلبالو کاهش می‌یابد (شکل ۶)؛ زیرا افزایش زمان تیماردهی موجب افزایش تعداد دوره‌های جریان‌های صوتی در راکتور می‌شود و باعث اثرگذاری بیشتر امواج فراصوت بر *اشرشیاکلی* می‌گردد. در تحقیقی اثر زمان تیمار دهی فراصوت بر غیرفعال‌سازی پکتین متیل استراز آب گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفته شد. نتایج نشان دادند با افزایش زمان تیمار دهی غیرفعال‌سازی پکتین متیل استراز افزایش یافته است.

نحوه کشتن ریزسازواره‌ها به‌طور کلی به‌دلیل نازک کردن غشای سلولی، متمرکز ساختن حرارت و تولید رادیکال‌های آزاد در آب میوه می‌باشد. در طول فرآیند که موج فراصوت به محیط مایع برخورد می‌کند، موج‌های طولی ایجاد می‌شود، که خود موجب ایجاد زمینه‌هایی از تغییر فشار خواهد شد که بر اثر تغییر فشار حباب‌های گاز در شے پدید می‌آید. حباب‌های مزبور در طول چرخه انبساط سطح مقطع بزرگتری دارند که به افزایش انتشار گاز و توسعه حباب‌ها می‌انجامد و هنگامی که به نقطه بحرانی برسد انرژی فراصوت ایجاد شده برای رسیدن به فاز بخار در حباب کافی نیست و در نتیجه حالت منقبض شدن حادث می‌شود. مولکول‌های منقبض شده با یکدیگر برخورد می‌کنند و موج‌های شوک مانند به‌وجود می‌آورند. موج‌های شوک‌دار مزبور موجب ایجاد مناطقی با دمای بسیار زیاد و فشار بالا می‌شوند که گاه دمای آن به ۵۵۰۰ درجه سلسیوس و فشار ۵۰۰ بار می‌رسد. تغییرات فشار حاصل از این شرایط اصلی‌ترین تأثیر ضد باکتریایی در فراصوت به‌شمار می‌رود (Mehrdadi *et al.*, 2012). نقاط داغ قادر به کشتن برخی باکتری‌ها هستند، اما بسیار متمرکزند و تأثیری بر مناطق بزرگ ندارند (Mehrdadi *et al.*, 2012).

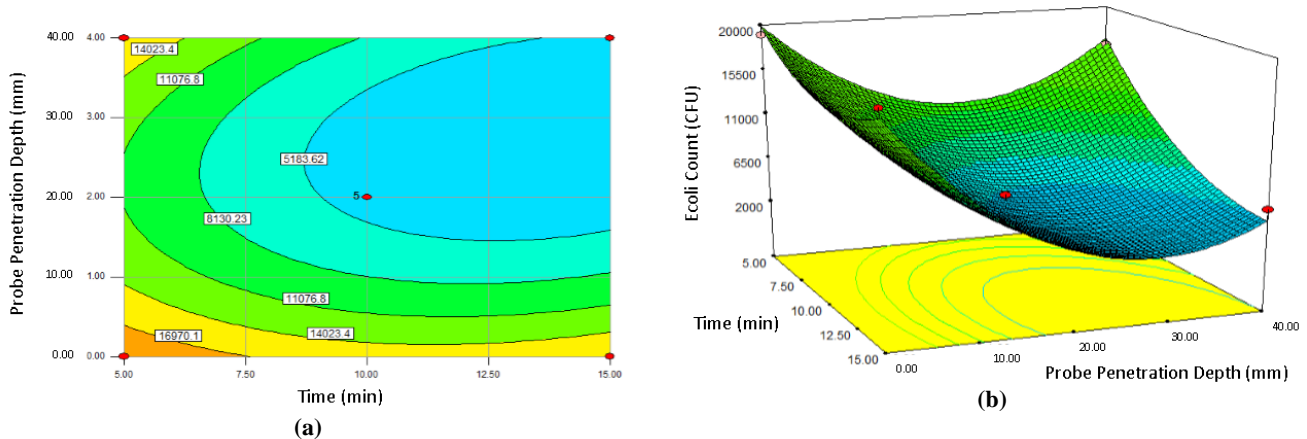
همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش توان فراصوت اثر کشندگی امواج فراصوت افزایش می‌یابد. دلیل این افزایش را می‌توان در افزایش دامنه حرکت پروب در سیال دانست. افزایش دامنه موجب افزایش تعداد حباب‌های تشکیل شده در سیال شده و در نتیجه موجب افزایش عمل کاویتاسیون می‌گردد. در این راستا تحقیقات متعددی اثر توان فراصوت را بر کاهش ریززنده‌ها گزارش کرده‌اند (Kuldiloke, 2002; Wu *et al.*, 2009). تحقیقی که بر روی آب پرتقال انجام شد نشان داد با افزایش توان فراصوت، شدت کاهش ریز



شکل ۵- اثر متقابل قطر پروب و توان فراصوت بر تعداد اشرشیاکلی (a) حالت دوبعدی و ناحیه‌بندی شده (b) نمای سه بعدی و شیب تغییرات
Fig.5. Effect of Probe diameter and ultrasonic power on Ecoli count a) Contour graph b) 3D graph and variation slope

مرتعش می‌شود، رخ می‌دهد. هنگام اعمال موج‌های فراصوت نواحی جریانی ایکارت و شلیچینگ تشکیل می‌شود (Bentitez, 2004)؛ تغییر عمق نفوذ پروب موجب تغییر در ساختار جریان‌های به‌وجود آمده در سیال شده که در نتیجه اثرگذاری امواج بر محیط تغییر می‌کند. با افزایش عمق تا سطح مشخصی اثرگذاری افزایش می‌یابد و جریان‌های تولید شده باعث به هم زدن مناسب سیال شده، ولی با افزایش عمق، سطح مایع نزدیک به سطح هوا کمتر هم زده می‌شود و این پدیده موجب باقی ماندن میکروب‌ها در آن ناحیه می‌گردد و در نتیجه تعداد میکروب‌های زنده مانده پس از عمل تیماردهی کاهش کمتری را نسبت به عمق بهینه خواهند داشت.

لازم به ذکر است در زمان‌های اولیه این کاهش دارای شیب بیشتری نسبت به زمان‌های انتهایی بوده است (Wu *et al.*, 2008). همچنین در تحقیقی دیگر نشان داده شد با افزایش زمان قرار گرفتن آب لیمو در معرض امواج فراصوت میزان کاهش کل ریز زنده‌ها، کپک و مخمر افزایش می‌یابد (Bhat *et al.*, 2011). نتایج اشاره شده با تحقیق حاضر مطابقت داشته است. همانطور که توضیح داده شد با افزایش عمق نفوذ پروب، ابتدا اثرگذاری امواج فراصوت بر اشرشیاکلی افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. دلیل این پدیده اینگونه به‌نظر می‌رسد که عمق نفوذ پروب تأثیر معنی‌داری بر جریان‌های صوتی به‌وجود آمده در آب آلبالو دارد. جریان صوتی در سطح مشترک جامد/مایع (سیال) هنگامی که سطح مشترک جامد با لرزش‌های هارمونیک



شکل ۶- اثر متقابل عمق نفوذ پروب و زمان اعمال فراصوت بر تعداد اشرشیاکلی (a) حالت دوبعدی و ناحیه‌بندی شده (b) نمای سه بعدی و شیب تغییرات

Fig.6. Effect of probe depth and ultrasonic exposure time on Ecoli count a) Contour graph b) 3D graph and variation slope

فراصوت قادر به کاهش بیشتر *اشرشیاکلی* نبوده است. تحقیقات دیگر نیز نتایج مشابهی را گزارش کرده‌اند (Kuldiloke, 2002; Valero *et al.*, 2007).

نتیجه‌گیری

با افزایش توان، اثرگذاری امواج فراصوت بر باکتری *اشرشیاکلی* افزایش می‌یابد و تعداد این باکتری به دلیل افزایش میزان عمل کاویتاسیون با شیب بیشتری کاهش می‌یابد. همچنین افزایش زمان تیماردهی به دلیل افزایش زمان جریان‌های صوتی و هم‌زنی بیشتر در مدت زمان تعیین شده، فرصت بیشتری را برای تأثیرگذاری امواج فراصوت بر باکتری *اشرشیاکلی* می‌دهد و با افزایش زمان شمار میکروبی کاهش می‌یابد. از عوامل تأثیرگذار دیگر می‌توان به قطر و عمق نفوذ پروپ اشاره کرد که با افزایش قطر پروپ از ۲۰ تا ۳۰ میلی‌متر ابتدا اثرگذاری امواج فراصوت در محیط افزایش یافته ولی از ۳۰ به ۴۰ میلی‌متر این اثر را کاهش داده است و دلیل آن افزایش وزن پروپ و افزایش انتشار موج عرضی از پروپ بوده است. عمق نفوذ پروپ نیز به دلیل تغییر در الگوی جریان‌های صوتی موجب اثرگذاری معنی‌داری بر میزان کاهش ریزسازوها نبوده است. لازم به ذکر است روش سطح پاسخ توانست با دقت مناسبی داده‌های تجربی را پیش‌بینی کند و نقطه بهینه نظری تعیین شده توسط این روش، دقت مناسبی را در مقایسه با نقطه بهینه تجربی داشته است.

در انتها برای تعیین نقطه بهینه و مقادیر پارامترهای مستقل آزمایش (توان فراصوت، زمان اعمال امواج، قطر پروپ و عمق نفوذ پروپ) برای شرایطی که بیشترین کاهش در تعداد ریزسازوها حاصل گردد، از تابع هدف (رابطه ۱۰) استفاده شد. شرایط مرزی تعیین شده در بهینه‌سازی بدین صورت بوده است که مقادیر متغیرهای مستقل در محدوده آزمایش قرار بگیرند. به تمامی متغیرهای مستقل و وابسته با فرض اهمیت یکسان، وزن یک داده شد و در غایت مطلوب، کمینه کردن مقدار تابع هدف انتخاب گردید. مقادیر بهینه به دست آمده برای توان فراصوت، زمان اعمال امواج، قطر پروپ و عمق نفوذ پروپ به ترتیب برابر با ۶۰ وات، ۱۵ دقیقه، ۳۵/۳۱ میلی‌متر و ۲۰/۸۳ میلی‌متر به دست آمد. به ازای مقادیر ذکر شده، میزان برآوردی کاهش *اشرشیاکلی* برابر با ۱/۹۷ دوره لگاریتمی بوده است. در نهایت برای صحت‌سنجی نقطه بهینه، مقدار متغیرهای مستقل به نزدیک‌ترین عدد صحیح گرد شدند تا قابلیت اجرا در محیط آزمایشگاه را داشته باشند. بر این اساس، برای توان فراصوت، زمان اعمال امواج، قطر پروپ و عمق نفوذ پروپ به ترتیب اعداد ۶۰ وات، ۱۵ دقیقه، ۳۵ میلی‌متر و ۲۱ میلی‌متر به دست آمد. میزان کاهش شمار *اشرشیاکلی* در آزمایشگاه برابر ۱/۸۶ دوره لگاریتمی تعیین گردید. اختلاف اندک ۷ درصدی بین مقدار بهینه نظری و مقدار بهینه به دست آمده در آزمایشگاه، صحت روش بهینه‌سازی و تحلیلی را نشان می‌دهد. لازم به ذکر است برای کاهش بیشتر *اشرشیاکلی* نیاز است با روش فراصوت روش‌های حرارتی نیز تلفیق شود که بتوان بیشتر از ۲ دوره این باکتری را کاهش داد و استفاده از شرایط بهینه

منابع

- Alvarez-Lo'pez, J. A., M. T. Jime'nez-Munguia, E. Palou, and A. Lo'pez-Malo. 2003. Ultrasound and antimicrobial agents effects on grapefruit juice. Session 92 C (Non thermal Processing: General): 18-23, 2003 IFT Annual Meeting, Chicago, USA.
- Arnsson, K., M. Lindgren, B. R. Johansson, and U. Ronner. 2001. Inactivation of microorganisms using pulsed electric fields: the influence of process parameters on *Escherichia coli*, *Listeria innocua*, *Leuconostoc mesenteroides* and *Saccharomyces cerevisiae*, Innovative Food Science and Emerging Technologies 2: 41-54.
- Bentitez, F. A. 2004. Effects of the use of ultrasonic waves on biodiesel production in alkaline transesterification of bleached tallow and vegetable oils: cavitation model, Ph.D. Thesis. University of Puerto Rico.
- Bhat, R., N. S. B. C. Kamaruddin, L. Min-Tze, and A. Karim. 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. Ultrasonics sonochemistry 18: 1295-1300.
- Cheeke, J., and N. David. 2002. Fundamentals and Applications of Ultrasonic Waves. CRC Press LLC.
- Chen, C., and C. W. Tseng. 1996. Effect of high hydrostatic pressure on the temperature dependence of *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces rouxii*. Process Biochemistry 32 (4): 337-343.
- Evrendilek, G. A., F. M. Tok, E. M. Soyulu, and S. Soyulu. 2008. Inactivation of *penicillium expansum* in sour cherry juice, peach and apricot nectars by pulsed electric fields. Food Microbiology 25: 662-667.
- Halim, S. F. A., A. H. Kamaruddin, and W. J. N. Fernando. 2009. Continuous biosynthesis of biodiesel from waste cooking palm oil in a packed bed reactor: Optimization using response surface methodology (RSM) and mass transfer studies. Bioresource Technology 100: 710-716.

9. Hosseinzadeh, B., M. H. Khoshtaghaza, S. Minaei, H. Zareiforush, and Gh. Najafi. 2013. Design of ultrasonic probes for use in food and chemical industries. *Mechanical Engineering* 57: 14256-14261.
10. Kuldiloke, J., and M. N. Eshtiaghi. 2008. Application of non-thermal processing for preservation of orange juice. *KMITL Science and Technology* 8 (2): 64-74.
11. Kuldiloke, J. 2002. Effect of ultrasound, temperature and pressure treatments on enzyme activity and quality indicators of fruit and vegetable juices, M.Sc.Thesis, Institute of Food Technology, Food Biotechnology and Process Technology, the Technical University of Berlin.
12. McCulloch, E. 2008. Experimental and finite element modeling of ultrasonic cutting of food. Doctorial Thesis, Mechanical Engineering, University of Glasgow.
13. Mehrdadi, N., G. N. Bidehendi, A. Zahedi, A. R. Mohammadi Aghdam, and A. Aghajani Yasini. 2012. Application of ultrasonic wave irradiation in wastewater treatment. Tehran University Publisher. (In Farsi).
14. Mehmandoost, N., R. Kadkhodae, and M. T. Hamed Mousavian. 2011. Combined effect of ultrasonic and heat on orange pectin methylesterase. *Journal of Food and Science Technology* 29: 101-111. (In Farsi).
15. Mertens, B., and D. Knorr. 1992. Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technology* 46: 125-133.
16. Patil, S., P. Bourke, B. Kelly, J. M. Frias, and P. J. Cullen. 2009. The effects of acid adaptation on *Escherichia coli* inactivation using power ultrasound. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10: 486-490.
17. Toepfel, S., V. Heinz, and D. Knorr. 2007. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. *Chemical Engineering and Processing* 46: 537-546.
18. Uljas, H. E., and S. C. Ingham. 1999. Combinations of intervention treatments resulting in 5-log₁₀-unit reductions in numbers of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium* DT104 organisms in apple cider. *Applied and Environmental Microbiology* 65: 1924-1929.
19. Valero, M., N. Recrosio, D. Saura, N. Munoz, N. Marti, and V. Lizama. 2007. Effect of ultrasonic treatments in orange juice processing. *Journal of Food Engineering* 80: 509-516.
20. Vichare, N. P., P. R. Gogate, V. Y. Dindoreand, and A. B. Pandit. 2001. Mixing time analysis of a sonochemical reactor. *Ultrasonics Sonochemistry* 8: 23-33.
21. Wu, J., T. Gamage, K. Vilku, L. Simons, and R. Mawson. 2008. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 9: 186-195.

Design of ultrasonic probe and evaluation of ultrasonic waves on *E.coli* in Sour Cherry Juice

B. Hosseinzadeh Samani¹ - M. H. Khoshtaghaza^{2*} - S. Minaei² - Z. Hamidi Esfahani³ - M. Tavakoli Dakhrabadi⁴

Received: 11-08-2013

Accepted: 04-01-2014

Introduction: The common method used for juice pasteurization is the thermal method since thermal methods contribute highly to inactivating microbes. However, applying high temperatures would lead to inefficient effects on nutrition and food value. Such effects may include vitamin loss, nutritional flavor loss, non-enzyme browning, and protein reshaping (Kuldiloke, 2002). In order to decrease the adverse effects of the thermal pasteurization method, other methods capable of inactivation of microorganisms can be applied. In doing so, non-thermal methods including pasteurization using high hydrostatic pressure processing (HPP), electrical fields, and ultrasound waves are of interest (Chen and Tseng, 1996). The reason for diminishing microbial count in the presence of ultrasonic waves could be due to the burst of very tiny bubbles developed by ultrasounds which expand quickly and burst in a short time. Due to this burst, special temperature and pressure conditions are developed which could initiate or intensify several physical and/or chemical reactions. The aim of this study is to evaluate the non-thermal ultrasonic method and its effective factors on the *E.coli* bacteria of sour cherry.

Materials and methods: In order to supply uniform ultrasonic waves, a 1000 W electric generator (Model MPI, Switzerland) working at 20 ± 1 kHz frequency was used. The aim of this study is to evaluate the non-thermal ultrasonic method and its effective factors on the *E.coli* bacteria of sour cherry. For this purpose, a certain amount of sour cherry fruit was purchased from local markets. First, the fruits were washed, cleaned and cored. The prepared fruits were then dewatered using an electric juicer. In order to separate pulp suspensions and tissue components, the extracted juice was poured into a centrifuge with the speed of 6000 rpm for 20 min. For complete separation of the remaining suspended particles, the transparent portion of the extract was passed through a Whatman filter paper using a vacuum pump (Mehmandoust *et al.*, 2011). Afterwards, the samples were poured into a reactor with diameter and height of 80 and 50 mm, respectively. It is necessary to mention that the dimensions of the reactor were optimized during pretests.

Probe design: One of the most common types of horns used for ultrasonic machining technologies is step type horn (Nad³, 2010). For obtaining the governing equations on deformation along the step type horn in steady state conditions, Eq. (1) was used. In the solution of the mentioned differential equation, the answers are divided into two subsets and each of the answers is obtained considering the boundary conditions (Hosseinzadeh *et al.*, 2013):

$$c^2 \cdot \left[\frac{\partial S}{\partial x} \cdot \frac{\partial u(x, t)}{\partial x} + \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial x^2} \right] = \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t^2} \quad (1)$$

From Eq. (1), it can be concluded that:

$$u(x, t) = \left(A \cos \frac{\omega x}{c} + B \sin \frac{\omega x}{c} \right) (C \cos \omega t + D \sin \omega t) \quad (2)$$

The boundary conditions for Eq. (2) are written as follows:

$$\left\{ \begin{array}{l} a) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = 0 \\ b) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = l \\ c) u(0) = u_{in} \end{array} \right. \quad (3)$$

1, 2- PhD student and Associate Professor, Department of Bisystems Engineering, Tarbiat Modares University

3, 4- Associate Professor and MSc student, Department of Food Science Technology, Tarbiat Modares University

(*- Corresponding Author Email: khoshtag@modares.ac.ir)

One of the most important parts in probe design is preventing stress concentration in locations in which the area changes. To avoid this problem, the displacement in this section must be equal to zero (Hosseinzadeh *et al.*, 2013). For obtaining the probe length, the displacement equation and the l_j parameter are used:

$$\sigma = -E \cdot u_{in} \cdot \frac{\omega}{c} \cdot \sin \frac{\omega \cdot x}{c} \quad (4)$$

In order to determine the maximum axial stress in step type probe, Eq. (3) and (4) are derived and set equal to zero. Therefore, the maximum stress will be equal to:

$$\sigma_{max} = \pi \cdot E \cdot \frac{u_{in}}{l} \quad (5)$$

Optimization and Modeling using Response Surface Method: Response surface methodology (RSM) has an important application in the design, development and formulation of new products, as well as in the improvement of existing product designs. It defines the effect of the independent variables, alone or in combination, on processes. In addition, to analyzing the effects of the independent variables, this experimental methodology generates a mathematical model which describes the chemical or biochemical processes (Anjum *et al.*, 1997, Halim *et al.*, 2009).

In order to obtain the optimum value, Eq. (1) will be used:

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ij} X_i^2 + \varepsilon \quad (6)$$

where, β_0 , β_j , β_{ij} , β_{jj} are regression coefficients for intercept, linear, interaction and quadratic coefficients, respectively, while X_i and X_j are coded independent variables and ε is the error.

For this purpose, four factors of ultrasonic power (200 to 600 W), wave exposure time (5 to 15 min), probe diameter (20 to 40 mm), and probe penetration depth in sour cherry juice container (0 to 40 mm) were selected. First, the probes with the desired diameters were designed using the related formulas by using CAD-CAM.

Results and Discussion: Surface Method (RSM) indicated that the quadratic model with 0.96 coefficient of friction, standard error of 1545.3, and coefficient of variation of 14% is the best model for estimating the number of E.coli bacteria among the different studied treatments. The results showed that with increasing probe diameter and probe depth, the destructive effects of ultrasonic wave increase. It was also revealed that as the probe diameter and penetration depth increase, the destructive effect of ultrasonic wave is initially increased and then follows by a decreasing trend. With the increasing power of ultrasonic, ultrasonic intensity increases and leads to reducing number of E.coli in sour cherry juice. The increase in time of treatment with ultrasonic causes a decrease in the number of E.coli in sour cherry juice. This is due to the fact that the increase of ultrasonic exposure time leads to the increase of sonic stream in reactor and results in higher contributions of ultrasonic waves to E.coli. Finally, the examined variables were optimized by RSM and the values of ultrasonic power, waves exposing time, probe diameter, and probe penetration depth were obtained as 600 W, 15 min, 35.31 mm, 20.83 mm, respectively. Considering the mentioned values, the amount of E.coli bacteria reduction was estimated to be 1.97 logarithmic period.

Conclusions:

1. Increasing probe diameter and probe depth increases the destructive effect of ultrasonic wave.
2. The examined variables were optimized by RSM and the values of ultrasonic power, waves exposure time, probe diameter, and probe penetration depth were obtained as 600W, 15 min, 35.31 mm, 20.83 mm, respectively. Considering the optimum values, the amount of E.coli bacteria reduction was estimated to be 1.97 logarithmic period.
3. With the increasing power of ultrasonic waves, ultrasonic intensity increases and leads to a reduction of the number of E.coli in sour cherry juice.
4. The increase in time of treatment with ultrasonic causes a decrease in the number of E.coli in sour cherry juice.

Keywords: Cavitation, Pasteurization, Power, Probe, Response surface, Ultrasonic

پیوست

$$\frac{\partial S}{\partial x} = 0$$

$$c^2 \cdot \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial x^2} = \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t^2}$$

$$\frac{\partial^2 g(x)}{\partial x^2} + \frac{\omega^2}{c^2} \cdot g(x) = 0$$

$$\frac{\partial^2 h(x)}{\partial t^2} + \omega^2 \cdot h(t) = 0$$

در روابط فوق، ω فرکانس زاویه ای ارتعاشات می‌باشد. در ادامه با حل معادلات دیفرانسیل رابطه زیر به دست می‌آید.

$$u(x, t) = \left(A \cos \frac{\omega x}{c} + B \sin \frac{\omega x}{c} \right) (C \cos \omega t + D \sin \omega t)$$

حال معادله فوق با شرط پایداری (steady state) و شرایط مرزی زیر حل می‌شود

$$\left\{ \begin{array}{l} a) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = 0 \\ b) \frac{\partial u(x)}{\partial x} = 0, x = l \\ c) u(0) = u_{in} \end{array} \right\}$$

l طول هورن و u_{in} دامنه حرکت انتقال داده شده از ترانسیدوسر به هورن می‌باشد. از a و c معادله کلی دامنه مطابق رابطه زیر به دست

می‌آید:

$$u = u_{in} \cdot \cos \frac{\omega x}{c}$$

همچنین از شرط مرزی b طول هورن به صورت زیر محاسبه می‌گردد:

$$u'(l) = 0 \rightarrow -u_{in} \cdot \frac{\omega l}{c} \cdot \sin \frac{\omega l}{c} = 0 \rightarrow \frac{\omega l}{c} = n\pi$$

$$\frac{2 \cdot \pi \cdot f \cdot l}{c} = n\pi \rightarrow l = \frac{c}{2 \cdot f} \rightarrow l = \frac{\lambda}{2}$$

f در اینجا فرکانس ارتعاشی هورن می‌باشد. در ادامه از روابط $\sigma = E \cdot \varepsilon$ و $\varepsilon = \frac{\partial u}{\partial x}$ می‌توان تغییرات تنش را در طول هورن مطابق زیر

به دست آورد:

$$\sigma = -E \cdot u_{in} \cdot \frac{\omega}{c} \cdot \sin \frac{\omega \cdot x}{c}$$

برای به دست آوردن تنش محوری ماکزیمم باید از رابطه فوق مشتق گرفت و مساوی صفر قرار داد تا نقاط اکسترمم به دست آید. بنابراین:

$$\sigma' = -E \cdot u_{in} \cdot \frac{\omega^2}{c^2} \cdot \cos \frac{\omega \cdot x}{c} = 0 \rightarrow \frac{\omega \cdot x}{c} = n\pi + \frac{\pi}{2}, \xrightarrow{n=0} x = \frac{\lambda}{4}$$

$$\sigma_{max} = \pi \cdot E \cdot \frac{u_{in}}{l}$$