

تأثیر کربن فعال بر کاهش مقدار پاتولین در آب سیب

بهرام فتحی آچاچلویی^{۱*}، عادل احمدی زنوز^۲، یعقوب اسدی^۲، جواد حصاری^۲، رسول اصغری زکریا^۱

۱- مربی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

۳- گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران

چکیده

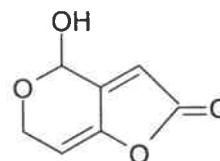
در این پژوهش، تأثیر غلظت‌های مختلف دو نوع کربن فعال پودری و گرانولی در زمان‌های مختلف بر روی کاهش مقدار سم قارچی پاتولین در آب سیب با استفاده از روش HPLC و بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کربن فعال پودری شکل در کاهش مقدار پاتولین آب سیب خیلی موثرتر از نوع گرانولی عمل نموده و با افزایش غلظت این نوع کربن فعال، مقدار پاتولین به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، به طوری که با مصرف ۵ گرم در لیتر از آن صرف نظر از زمان تأثیر (۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه) مقدار پاتولین به صفر می‌رسد. همچنین در غلظت‌های کمتر این نوع کربن فعال با افزایش زمان تأثیر کاهش مقدار پاتولین معنی‌دار بود. چنانچه، با تأثیر ۳ گرم در لیتر کربن فعال پودری شکل با زمان تأثیر ۳۰ دقیقه مقدار پاتولین به ۲/۴ میکروگرم در لیتر کاهش پیدا کرد که از لحاظ آماری با مقدار صفر (حذف کامل پاتولین) اختلاف معنی‌داری نداشت. با در نظر گرفتن مقدار مجاز پاتولین در آب سیب (۵۰ µg/L) مقدار ۳ گرم در لیتر از کربن فعال پودری شکل با زمان تأثیر ۵ دقیقه می‌تواند مقدار پاتولین آب سیب را به پایین‌تر از حد مجاز کاهش دهد.

کلید واژگان: پاتولین، کربن فعال، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، آب سیب

۱- مقدمه

پاتولین بوسیله ۶۰ گونه مختلف از کپک‌های متعلق به بیش از ۳۰ جنس تولید می‌شود. اکثر این قارچ‌ها از جنس آسپرژیلوس مانند آسپرژیلوس کلاواتوس^۱، آسپرژیلوس ژیگانتوس^۲ و آسپرژیلوس ترئوس^۳، جنس پنی‌سیلیوم مانند پنی‌سیلیوم اورتیکا^۴ و پنی‌سیلیوم اکسپانسم^۵ و جنس بایسوکلامیس مثل بایسوکلامیس نیوا^۶ می‌باشند که بر روی میوه‌های فاسد شده به ویژه سیب، گلابی و هلو رشد می‌کنند [۹، ۱۲، ۱۳، ۱۵]. کپک‌های مولد پاتولین در اثر آسیب دیدن میوه‌ها در حین چیدن، حمل و جمع‌آوری

پاتولین (4-hydroxy-4H-furo (3,2 C) Pyran-2(6H)-one) در حالت خالص یک ماده کریستالی سفید با نقطه ذوب °C ۱۱۱-۱۱۰ و وزن مولکولی ۱۵۴ دالتون می‌باشد (شکل ۱) [۳، ۱]. این سم قارچی مقاوم به حرارت می‌باشد که در محیط اسیدی پایدار ولی در محیط قلیایی ناپایدار است.



شکل ۱ ساختمان شیمیایی پاتولین [۹، ۱]

- 1- A. clavatus
- 2- A. giganteus
- 3- A. terreus
- 4- P. urticae
- 5- P. expansum
- 6- By. nivea

E-mail: bahram1356@yahoo.com

* مسؤول مکاتبات:

میوه‌ها به وجود می‌آیند. پاتولین فقط در محل آسیب دیده میوه کپک‌زده تولید می‌شود [۴].

پاتولین دارای خاصیت ایجاد ناهنجاری در جنین، ایجاد جهش و سرطان‌زایی می‌باشد [۹، ۱۰]. همچنین خاصیت سمی پاتولین در موشها و حیوانات دیگر مورد مطالعه قرار گرفته است که تغییرات پاتولوژیکی آن شامل ادم مغز، خونریزی ششها، ضایعات مویرگی در کبد، طحال و کلیه می‌باشد [۲].

در صنعت تولید آب سیب به منظور کاهش حجم و نیز کاهش احتمال فساد میکروبی، آب میوه را تغلیظ می‌کنند. عوامل مختلفی مانند قیمت، کیفیت محصول و غیره تجارت آب میوه را در دنیا تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین، با توجه به وضعیت کنونی آب میوه تغلیظ شده در جهان، لازم است برای رقابت با سایر تولیدکنندگان به کیفیت اهمیت بیشتری داده شود چرا که در بازارهای بین المللی، محصولی شانس رقابت بالایی دارد که درابعاد مختلف دارای کیفیت منطبق با استانداردهای جهانی باشد. بنابراین، تنها راه رقابت در عرصه جهانی، تولید آب میوه تغلیظ شده با کیفیت بالا و ارزان قیمت می‌باشد.

یکی از مشکلاتی موجود بر سر راه صادرات آب میوه، بویژه آب سیب، میزان پاتولین در آن می‌باشد. با توجه به اینکه این میکوتوکسین دارای خاصیت موتازنیک و سرطان‌زایی می‌باشد، لذا استاندارد جهانی حضور این ماده در کنسانتره‌ها را محدود کرده و در بسیاری از کشورها مقدار مجاز پاتولین در مواد غذایی در حدود $50 \mu\text{g/l}$ تعیین شده است و سازمان بهداشت جهانی هم همین مقدار را مجاز دانسته است [۴، ۹]. تحقیقات انجام گرفته در ۲۰ سال گذشته نشان داده است که فراورده‌های حاصل از سیب بویژه آب سیب حاوی مقادیر بالایی از پاتولین هستند. از سوی دیگر، پایداری پاتولین به خاطر pH پائین و وجود مقادیر کم گروه‌های سولفیدریل در آب سیب بالا است و این ماده سمی در برابر دماهای بالا مقاوم بوده و در حرارت پاستوریزاسیون

از بین نمی‌رود [۶، ۹، ۱۳، ۱۲، ۱۱ و ۱۵]. حذف بخشهای کپک زده سیب قبل از فراوری آن باعث کاهش قابل ملاحظه مقدار پاتولین در آب سیب تولیدی می‌شود [۴، ۲۱ و ۲۳]. همچنین نشان داده شده است که مقدار پاتولین در آب سیب و سایر فراورده‌های آن را می‌توان از طریق تخمیر الکلی [۹، ۲۰، ۲۱]، افزودن اسیداسکوربیک [۵]، پرتودهی [۲۳ و ۲۴] و استفاده از کربن فعال [۴، ۱۸، ۱۷ و ۲۴] کاهش داد. آرتیک و همکاران [۴] گزارش نمودند که کربن فعال در کاهش مقدار پاتولین به طور مطلوب موثر می‌باشد. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر غلظتهای مختلف دو نوع کربن فعال (پودری و گرانولی) و زمانهای مختلف تأثیر آنها بر روی کاهش مقدار پاتولین در آب سیب می‌باشد. برای اندازه‌گیری پاتولین از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)^۱ استفاده شد.

۲- مواد و روشها

در اجرای این پژوهش، آب سیب تغلیظ شده از محصول آخر فصل سال ۱۳۸۱ یکی از کارخانجات تولیدکننده آب سیب (با بریکس ۷۰) بصورت یکجا تهیه و در طول مدت انجام طرح در دمای یخچال نگهداری گردید. فاکتورهای مورد آزمایش شامل دو نوع کربن فعال گرانولی و پودری شکل هر یک در سه غلظت یک، سه و پنج گرم در لیتر و در سه زمان تأثیر ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه بود. نتایج حاصل بر اساس یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شده و با توجه به معنی‌دار بودن اثرات متقابل، میانگین تیمارها به روش دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. مواد شیمیایی مورد استفاده در این طرح شامل اتیل استات، کربنات سدیم، اسید استیک گلاسیال، کربن فعال، پاتولین استاندارد و استونیتریل (تولید شرکت مرک^۲) دارای درجه آنالیتیک بودند. در مورد تجزیه‌های مربوط به

1- Merck

2- Merck

دستگاه HPLC نیز از مواد شیمیایی با درجه خلوص بسیار بالا و مخصوص دستگاه HPLC استفاده گردید. جهت انجام اندازه گیری نمونه آب سیب تغلیظ شده با آب مقطر به بریکس ۱۲ رقیق و برای کلیه اندازه گیریها از نمونه تهیه شده استفاده گردید. عمل اختلاط نمونه های آب سیب و کربن فعال نیز به وسیله بهم زن مغناطیسی و با سرعت یکسان برای کلیه نمونه ها انجام گرفت. پس از مرحله اختلاط، فیلتراسیون نمونه ها بوسیله کاغذ صافی واتمن^۱ با شماره ۸۶۰ و کیزل گور^۲ (بعنوان صافی کمکی) صورت پذیرفت. در این پژوهش از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد که این روش نسبت به روشهای TLC^۳ و GC^۴ روش دقیق تری بوده و در چند سال اخیر از این روش برای اندازه گیری پاتولین استفاده می شود [۱۹، ۱۴، ۹، ۵]. در دستگاه HPLC (مدل CECIL، انگلستان) از ستون C₁₈ (اندازه قطر ذرات فاز ثابت ۵ μm) به طول ۲۵ cm و قطر داخلی ۴/۶ mm و از محافظ ستون C₁₈ به طول ۱ cm و قطر داخلی ۴/۶ mm استفاده شد. فاز متحرک استونیتریل - آب مقطر (۹۵/۵ - V/V) و سرعت حرکت آن یک میلی لیتر در دقیقه بود. از آشکارساز UV در طول موج ۲۷۶ nm استفاده شد. حساسیت دستگاه HPLC در ۰/۰۰۵ تنظیم گردید و حجم حلقه تزریق مورد استفاده نیز ۲۰ μl بود. برای استخراج پاتولین و ترسیم منحنی کالیبراسیون آن ابتدا ۱۰ ml آب مقطر را بوسیله پیپت ژوژه برداشته، وارد یک قیف دکانتور تمیز کرده و سپس ۱۰ μl از محلول استاندارد پاتولین (۲۰ mg/l) به آن اضافه گردید، بنابراین غلظت پاتولین در محلول حاصل ۲۰ μg/l شد. سپس بوسیله یک پیپت ژوژه ۱۰ ml تمیز و خشک، ۱۰ ml اتیل استات خالص به قیف دکانتور اضافه و به مدت ۲ دقیقه بهم زده شده و بعد دکانتور را به حال خود رها کرده تا فازها از هم به خوبی جدا گردند. پس از جدا

شدن فازها، فاز پایین (فاز آبی) را جدا و بر روی فاز بالایی (فاز اتیل استات)، ۱ ml محلول کربنات سدیم ۱/۵٪ اضافه و دکانتور به مدت ۱۵ ثانیه بخوبی بهم زده شد و مجدداً فاز تحتانی جدا گردید. حال ۱ ml آب مقطر به دکانتور اضافه و مجدداً آنرا به مدت ۱۵ ثانیه بهم زده و مخلوط به حال خود رها گردید تا فازها از همدیگر جدا شود. پس از فاز آبی، فاز آلی (اتیل استات) در داخل ارلن ۲۵ میلی لیتری تمیز و خشک ریخته شد. پس از افزودن دو قطره اسیداستیک گلاسیال به محلول، ارلن در حمام آب ۴۰°C قرار داده شد و بوسیله جریان گاز نیتروژن، اتیل استات کاملاً تبخیر گردید. بوسیله یک پیپت ژوژه، ۱ ml آب مقطر در داخل ارلن ریخته و خوب بهم زده شد تا پاتولین در آن حل گردد و سپس با استفاده از سرنگ مخصوص دستگاه HPLC (هامیلتون)^۵، نمونه به دستگاه HPLC تزریق شده و سطح پیک بدست آمده از کروماتوگرام یادداشت گردید. همین آزمایش با ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میکرو لیتر محلول استاندارد پاتولین (۲۰ mg/l) تکرار گردید و هر بار سطح زیر پیک حاصل از کروماتوگرام یادداشت شد. نتایج بدست آمده در جدول ۱ خلاصه گردیده اند. برای اندازه گیری مقدار پاتولین در نمونه های آب سیب، روش ذکر شده تکرار و بجای آب مقطر از آب سیب (۱۰ میلی لیتر با بریکس ۱۲) استفاده گردید و مقدار پاتولین از روی منحنی کالیبراسیون محاسبه شد (شکل ۲). کروماتوگرام حاصل از اندازه گیری پاتولین توسط دستگاه HPLC در نمونه شاهد آب سیب در شکل ۳ نشان داده شده است. همچنین پاتولین نمونه های آب سیب تیمار شده با کربن فعال نیز همانند آب سیب شاهد استخراج و توسط HPLC مقدار آن اندازه گیری شد.

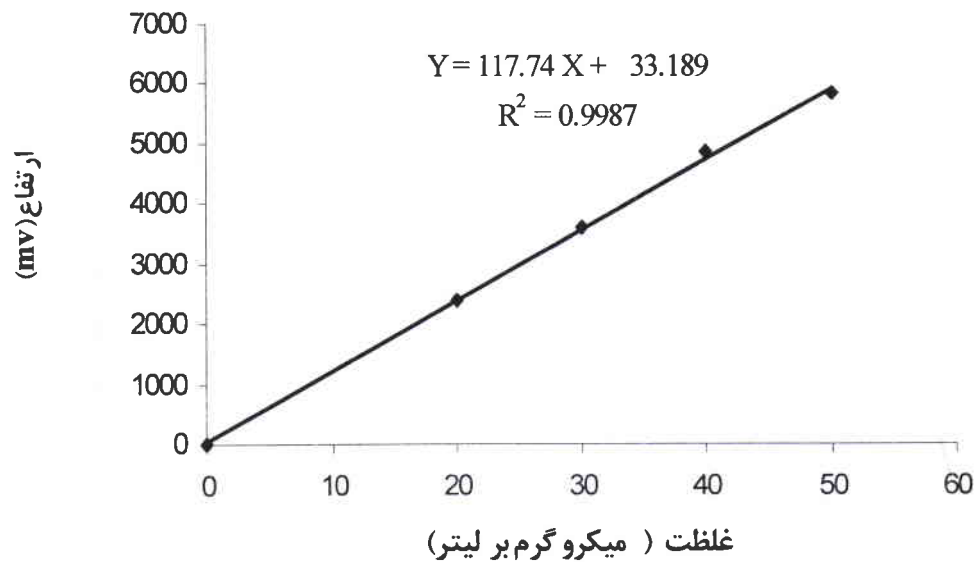
جداسازی ذرات کربن فعال پودری از آب سیب کار مشکلی است که با استفاده از کاغذ صافی واتمن و صافی کیزل گوراین مشکل بر طرف شد.

1- Wattman
2- Kieselguhr
3- Thin Layer Chromatography
4- Gas Chromatography

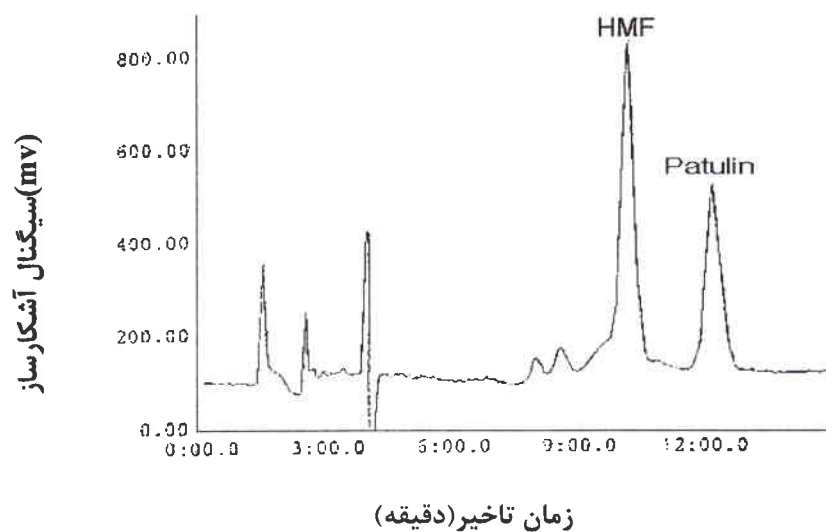
5- Hamilton

جدول ۱ سطوح پیک پاتولین برای نمونه‌های استاندارد

غلظت پاتولین برای نمونه‌های استاندارد (µg/l)	سطح زیر پیک
۲۰	۲۳۸۷
۳۰	۳۵۹۲
۴۰	۴۸۵۹
۵۰	۵۸۱۲



شکل ۲ منحنی کالیبراسیون پاتولین با استفاده از محلولهای استاندارد.



شکل ۳ کروماتوگرام حاصل از اندازه‌گیری پاتولین بوسیله دستگاه HPLC در نمونه شاهد آب سیب.

HMF: هیدروکسی متیل فورفورال

۳- نتایج و بحث

جدول ۲ میانگین مقدار پاتولین و درصد کاهش آن را نسبت به شاهد در تیمارهای مختلف مورد آزمایش نشان می‌دهد. مقدار پاتولین در نمونه شاهد حدود ۸۶/۵۶ میکروگرم در لیتر اندازه گیری شد که از حد استاندارد آن بیشتر است. بنابراین، اندازه‌گیری و تعیین مقدار دقیق پاتولین و تلاش در جهت کاهش مقدار آن در آب سیب در جهت تامین سلامت مصرف کننده و نیز بهبود وضعیت صادرات این محصول حائز اهمیت می‌باشد. با افزایش غلظت کربن فعال و زمان تاثیر آن مقدار پاتولین در آب سیب کاهش می‌یابد ولی این کاهش در مورد کربن فعال گرانولی کمتر بوده است (جدول ۲). در حالی که در مورد کربن فعال پودری شکل با افزایش غلظت و زمان تاثیر مقدار پاتولین کاهش قابل ملاحظه‌ای داشته و به صفر می‌رسد. بیشترین کاهش پاتولین با مصرف کربن فعال گرانولی با مقدار ۵ گرم در لیتر با زمان تاثیر ۳۰ دقیقه حاصل شد که غلظت پاتولین را به ۶۶ میکروگرم در لیتر رساند. این مقدار بیشتر از حد مجاز

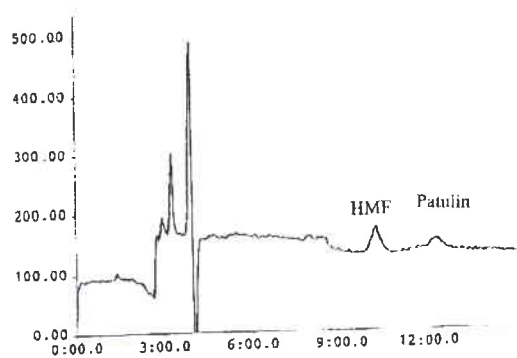
می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کربن فعال گرانولی تاثیر چندانی در کاهش مقدار پاتولین آب سیب نداشته است. با مصرف کربن فعال پودری مقدار پاتولین به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش پیدا می‌کند. نتایج حاصل از استفاده از کربن فعال پودری با مقادیر ۳، ۵ و ۱۰ گرم در لیتر با زمانهای تاثیر ۱۵، ۳۰ و ۴۵ دقیقه نشان می‌دهد که با استفاده از کمترین مقدار کربن فعال پودری (۱ گرم در لیتر) با کمترین زمان تاثیر (۵ دقیقه) مقدار پاتولین به کمتر از حد مجاز (۴۰/۷ میکروگرم در لیتر) می‌رسد. بنابراین، افزایش مقدار این نوع کربن فعال و نیز افزایش زمان تاثیر بطور معنی داری مقدار پاتولین را کاهش می‌دهد. به طوری که با مصرف ۵ گرم در لیتر از آن صرف نظر از زمان تاثیر مقدار پاتولین را به صفر می‌رساند. با توجه به نتایج بدست آمده هرچند مقدار ۳ گرم در لیتر کربن فعال پودری با زمان تاثیر ۳۰ دقیقه مقدار پاتولین را به ۲/۴ میکروگرم در لیتر کاهش می‌دهد اما از لحاظ آماری با مقدار صفر (حذف کامل پاتولین) اختلاف معناداری نشان نمی‌دهد.

جدول ۲ کاهش پاتولین با استفاده از کربن فعال پودری و گرانولی در غلظتهای مختلف*

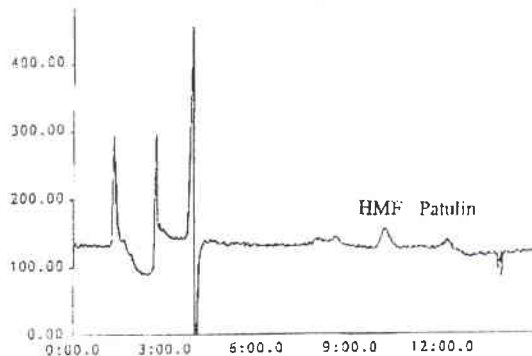
نوع کربن و غلظت آن	کربن فعال پودری			کربن فعال گرانولی			زمان تاثیر
	۱ گرم در لیتر	۳ گرم در لیتر	۵ گرم در لیتر	۱ گرم در لیتر	۳ گرم در لیتر	۵ گرم در لیتر	
مقدار پاتولین**	۴۰/۷	۵/۵	۰	۷۵/۳	۷۲/۱	۷۱/۵	۵ دقیقه
درصد کاهش	۵۲/۹	۹۳/۶	۱۰۰	۱۳	۱۶/۷	۱۷/۶	
مقدار پاتولین	۳۲/۴	۳/۶	۰	۷۷/۷	۷۱/۵	۷۰/۴	۱۵ دقیقه
درصد کاهش	۶۲/۶	۹۵/۹	۱۰۰	۱۲/۷	۱۷/۴	۱۸/۶	
مقدار پاتولین	۲۸/۱	۲/۴	۰	۷۵/۳	۶۸/۷	۶۶/۴	۳۰ دقیقه
درصد کاهش	۶۷/۶	۹۷/۲	۱۰۰	۱۳	۲۰/۶	۲۳/۲	

* مقدار LSD در سطح احتمال ۵ درصد برای مقدار پاتولین ۲/۷۳۴ می‌باشد و مقدار پاتولین در نمونه شاهد ۸۶/۵۶ میکروگرم در لیتر بود.

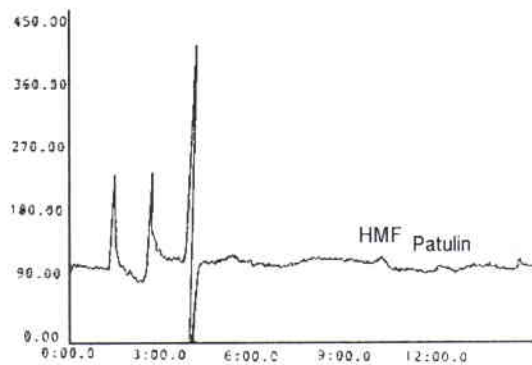
** میکروگرم در لیتر



ج



د



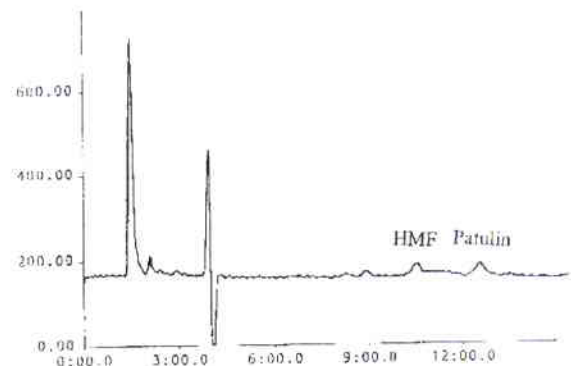
شکل ۴ کروماتوگرام حاصل از اندازه گیری پاتولین بوسیله دستگاه HPLC بعد از اعمال تیمارها:

- الف- کربن فعال پودری شکل با مقدار ۳ گرم در لیتر و مدت زمان تأثیر ۵ دقیقه.
- ب- کربن فعال پودری شکل با مقدار ۳ گرم در لیتر و مدت زمان تأثیر ۱۵ دقیقه.
- ج- کربن فعال پودری شکل با مقدار ۳ گرم در لیتر و مدت زمان تأثیر ۳۰ دقیقه.
- د- کربن فعال پودری شکل با مقدار ۵ گرم در لیتر و مدت زمان تأثیر ۳۰ دقیقه.

نتایج به خوبی نشان می‌دهند که کربن فعال پودری شکل با داشتن قابلیت جذب سطحی بیشتر در مقایسه با کربن فعال گرانولی مقدار پاتولین را خیلی بیشتر کاهش می‌دهد. نتایج بدست آمده در این تحقیق عموماً با نتایج تحقیقات قبلی تطابق دارد. بطوری که سندزو همکاران [۱۶] در یک تحقیق مشابه نشان دادند که استفاده از کربن فعال با نام تجاری نوریت^۱ در غلظت ۲۰ و ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به ترتیب ۹۳/۳ و ۱۰۰ درصد پاتولین را در شراب سیب کاهش می‌دهد. همچنین آرتیک و همکاران [۴] غلظت کربن فعال را در حد ۳-۵ گرم بر لیتر با زمان تیمار ۵ دقیقه کافی دانسته و مقدار بهینه زغال فعال را ۳/۷۵ گرم بر لیتر و زمان بهینه تماس را ۱۰ تا ۲۰ دقیقه گزارش کردند. چنانچه از کروماتوگرامهای مربوط به اندازه‌گیری مقدار پاتولین در نمونه‌های مختلف (شکل ۴) مشاهده می‌شود، در اثر تیمار آب سیب با کربن فعال، میزان هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) نیز که مقادیر بالای آن از عوامل منفی در کیفیت آب سیب به شمار می‌رود، به طور چشمگیری کاهش می‌یابد.

بطور کلی، می‌توان به کمک روش ذکر شده در این گزارش به طور ساده و دقیق مقدار پاتولین را در آب سیب تعیین کرد. این روش در مراکز بهداشتی و نظارتی و همچنین کارخانجات تولیدکننده آب میوه برای نشان دادن کیفیت تجاری آب سیب از نظر مقدار پاتولین توصیه می‌شود.

الف



ب

1- Norit

۴- منابع

- Gymnoascus and Penicillium. Science, 99: 265-266
- [9] Linglai, C., You M., and Yang C. D. 2000. Detection of mycotoxin patulin in apple juice. Journal of Food and Drug Analysis, 8(2): 85-96.
- [10] Mayer, V.W., and Legator M.S. 1969. Production of Petite Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* by patulin. Journal of Agricultural Food Chemistry, 17: 454-456.
- [11] Moller, T.E. and Josefsson E. 1980. Rapid high-pressure liquid chromatography of patulin in apple juice. Journal of Association of Analytical Chemistry, 63:1055-1056.
- [12] Ough, C.S., and Corison C.A. 1980. Measurement of patulin in grapes and wines. Journal of Food Science, 45: 476-478
- [13] Prieta, J., Moreno, M.A., Blanco, J.L., Suarez, G. and Dominguez, L. 1992. Determination of patulin by diphasic dialysis extraction and thin- layer chromatography. Journal of Food Protection, 55: 1001-1002.
- [14] Prieta, J., Moreno M. A., Bayo J., Diaz S., Suarez G., and Dominguez L. 1993. Determination of patulin by reversed-phase high-performance liquid chromatography with extraction by diphasic dialysis. Analyst, 118:171-173.
- [۱] علامه، ع. ا. و رزاقی ابیانه، م. ۱۳۸۰. میکوتوکسینها، انتشارات دانشگاه امام حسین (ع).
- [۲] قاسمیان صفایی، ح. ۱۳۷۸. میکروپ شناسی مواد غذایی (ترجمه). انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.
- [۳] مرتضوی، ع. و طباطبایی، ف. ۱۳۷۶. توکسینهای قارچی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
- [4] Artik, N., Cemeroglu B., Aydar G., and Saglam N. 1995. Use of activated carbon for patulin control in apple juice concentrate. Journal of Agriculture and Forestry, 19 (4): 259-265.
- [5] Gokmen, V., and Acar J. 1996. Rapid reversed-phase liquid chromatographic determination of patulin in apple juice. Journal of Chromatography A, 730: 53-58.
- [6] Harrison, M.A. 1989. Presence and stability of patulin in apple products. A Review. Journal of Food Safety, 9: 147-153
- [7] Huebner, H.J., Mayural K., Pallaroni L., Ake C.L., Lemke S.L., Herrera P., and Phillips T.D. 2000. Development and characterization of a carbon- based composite material for reducing patulin levels in apple juice. Journal of Food Protection, 63(1): 106-110.
- [8] Karow, E.O., and Foster J.W. 1944. An antibiotic substance from species of

- [20] Stinson, E.E., Osman S.F., and Bills D.D. 1979. Water-Soluble products from patulin during alcoholic fermentation of apple juice. *Journal of Food Science*, 44: 788-789.
- [21] Varnam, A.H., and Sutherland, J.P. 1994. *Beverages: Technology, Chemistry and Microbiology*. Chapman and Hall. UK. pp: 26-72.
- [22] Wilson, D.M., and Nuovo, G. J. 1973. Patulin production in apples decayed by *penicillium expansum*. *Applied Microbiology*, 26: 124-125.
- [23] Zegota, H., Zegota A., and Bachmann S. 1988. Effect of irradiation and storage on Patulin disappearance and Some Chemical constituents of apple juice concentrate. *Zeitschrift- Fuer- Leben Smittel- Untersuchung- Und- Forschung*. 187(4): 321-324.
- [24] Zegota, H., Zegota A., and Bachmann S. 1988. Effect of irradiation on the Patulin content and chemical composition of apple juice concentrate. *Zeitschrift- Fuer- Leben Smittel- Untersuchung- Und- Forschung*. 187(4): 235-238.
- [15] Rovira, R., Ribera F., Sanchis V. and Canela R. 1993. Improvements in the quantification of patulin in apple juice by high performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 41: 214-216.
- [16] Sands, D. C., McIntyre J. L., and Walton G. S. 1976. Use of activated charcoal for the removal of patulin from cider. *Applied and Environmental Microbiology*. 32(3): 388- 391
- [17] Schneider, F. 1979. *Sugar Analysis: Official and Tentative Methods Recommended by the ICUMSA*. Peter Borough, England.
- [18] Scott, P. M., Somers E. 1968. Stability of Patulin and Penicillic acid in fruit juices and flour. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 16: 483-485.
- [19] Shephard, G. S., Leggott N. 2000. Chromatographic determination of the mycotoxin patulin in fruit and fruit juices. *Journal of Chromatography A*, 882: 17-22.

Activated Carbon Effects on Patulin Content Reduction in Apple Juice

**Bahram Fathi Achachloii^{1*}, Adel Ahmadi Zonooz², Yaghob Asadi³, Javad Hesari²,
Rasool Asghari Zakaria⁵**

1- Department of food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh-
Ardebili, Ardebil, Iran

2- Department of food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Iran

3- Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Tehran, Iran

3- Department of food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh-
Ardebili, Ardebil, Iran

In this study, the effect of different levels of powdered and granular forms of activated carbon on patulin reduction in apple juice has been investigated by HPLC, using factorial experiment based on completely randomized design. Results showed that powdered form on patulin reduction of apple juice was more effective than granular form. Patulin content was reduced significantly by increasing the level of powdered form, whereas patulin content was removed completely by using 5 g/l in all contact time levels (5, 15, and 30 min). Also patulin content has been decreased significantly by increasing the contact time with lower content of powdered form. The patulin content was reduced to 2.4 µg/l by using 3 g/l of powdered form with 30 min contact time which did not have statistically difference with complete diminishing of patulin. According to the acceptable level of patulin in apple juice (50 µg/l), 3 g/l of powdered form with 5 min contact time could reduced the patulin amount to lower than the acceptable level.

Keywords: Patulin, Activated carbon, Apple juice, HPLC.

* Corresponding author E-mail: bahram1356@yahoo.com