مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تأثیر ازن و ذغال فعال بر پاتولین درکنسانتره سیب

الشان بشیری[۱]، سارا متینی[۲*]، شهرام آرمیده[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران.

۲- استادیار گروه علوم صنایع غذایی،واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران.

۳- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۰۹/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۰۳

کلمات کلیدی:

مایکوتوکسین،

پاتولین،

اُزُن،

زغال فعال،

کنسانتره سیب.

DOI: 10.52547/fsct.19.123.189

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.21.6

* مسئول مکاتبات:

Matinii.sara@gmail.com

چکیده

پاتولین یک مشکل اصلی برای سلامت انسان به خصوص در صنعت آب میوه و کنسانتره می‌باشد.استاندارد جهانی پاتولین در آب میوه‌ها در حدود ۵۰ ppb می‌باشد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که استفاده از روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌تواند مقدار پاتولین را کاهش دهد.در همین راستا، میزان پاتولین در نمونه‌های کنسانتره سیب به وسیله اُزُن، زغال فعال و اثر توام آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. برای مقایسه تاثیر جداگانه دو عامل از آزمون تجزیه واریانس یک طرفه، برای مقایسه اثر توام از آزمون تجزیه واریانس دو طرفه و مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده گردید.نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بین افزایش غلظت زغال فعال و همچنین مدت زمان اُزُن دهی با کاهش مقدار پاتولین رابطه مستقیم وجود دارد. بیشترین میزان کاهش پاتولین در غلظت ۰/۲ گرم زغال فعال و ۹ دقیقه اُزُن دهی به دست آمد، همچنین در بررسی اثر توام غلظت‌های زغال فعال و زمان‌های اُزُن دهی نتایج نشان داد بین دو متغیر اثر متقابل وجود دارد و در زمان ۸ دقیقه اُزُن دهی با غلظت ۱/۵ گرم زغال فعال بیشترین کاهش پاتولین مشاهده گردید.بررسی حاضر نشان داد با به کارگیری گاز اُزُن به همراه زغال فعال می‌توان در کارخانجات تولید آب میوه و کنسانتره میزان پاتولین را کاهش داد و گامی موثر در سلامت جامعه و صادرات آب میوه و کنسانتره برداشت.

۱- مقدمه

صنایع غذایی یکی از بخش‌های عمده مرتبط با حضور میکروارگانیسم‌ها می‌باشد. اگر چه امنیت غذایی به طور عمده بهبود یافته است اما پیشرفت‌ها در زمینه اثرات میکروارگانیسم‌های ناشی از مواد غذایی حاصل از آلودگی میکروبی، شیمیایی و توکسین‌ها در بسیاری از کشورها یکنواخت نیست. یکی از آلودگی‌های مهم صنایع نوشیدنی‌ها و کنسانتره مایکوتوکسین پاتولین می‌باشد که به وسیله گونه‌های مختلف از کپک‌ها تولید می شود[۱]. اکثر این قارچ و کپک‌ها روی میوه‌های فاسد شده به ویژه سیب، گلابی، انگور و هلو رشد می‌کنند اندازه‌گیری مقدار این مایکوتوکسین از این لحاظ مهم است که می‌تواند اثر سوئی بر سلامت انسان داشته باشد [۲]. صنعت کنسانتره آب سیب یکی از صنایع مهم غذایی در کشور بوده و از نقطه نظر صادرات جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است. یکی از مشکلات اساسی موجود بر سر راه صادرات کنسانتره آب سیب میزان پاتولین در آن است. این مایکوتوکسین دارای خاصیت موتاژنیک و سرطانزایی بوده و به همین علت استاندارد جهانی مقدار آن در کنسانتره آب سیب محدود و میزان آن را۵۰ ppb تعیین شده است [۳]. متاسفانه مقدار پاتولین موجود در اکثر محصولات کارخانجات کنسانتره آب سیب در ایران بیش از مقدار استاندارد آن می‌باشد. این ترکیب سمی به وسیله طیف گسترده‌ای از قارچ‌ها مانند *پنی سیلیوم اکسپانسوم*و *پنی سیلیوم پاتولوم* که روی برخی از میوه‌ها ازجمله سیب که بافت سطحی آن‌ها آسیب دیده و آلـوده به این قارچ‌ها می‌باشنـد تولیـد می‌گردد و از این طریق به آب میـوه راه پیـدا می‌کنند پاتولین درسال ۱۹۷۰ توسط آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به عنوان یک "ماده سرطانزای احتمالی برای انسان" طبقه‌بندی شد. این یافته نگرانی وسیعی را در سطح بین‌المللی در پی داشت [٤]. مطالعات متعددی در سطح آزمایشگاهی جهت کاهش پاتولین در کنسانتره آب سیب با استفاده از روش‌های مختلف مانند استفاده از اشعه گاما، فرآیند حرارتی، تخمیر و فرآوری اولیه تاکنون صورت گرفته و نتایج چندان مطلوبی از این تحقیقات حاصل نشده است [۲]. بررسی‌ها نشان دادند که کاربرد گاز اُزُن برای کاهش میزان پاتولین در آب سیب نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند استفاده از اُزُن برای تقلیل آفلاتوکسین در ذرت و کنجاله پنبه دانه به طور موثری مورد استفاده قرار گرفته است. این روش همچنین برای کاهش میزان سموم و میتوکسین و مونولی‌فومین نیز موثر بوده است. استفاده از مقیاس آزمایشی اُزُن برای تجزیه سموم اکراتوکسینA، پاتولین و زیرالیفون نیز در مقیاس آزمایشگاهی مورد استفاده موثر قرار گرفته است[۹-۵]. همچنین نتایج بررسی‌ها نشان داده که زغال فعال می‌تواند در کاهش پاتولین موثر واقع گردد [۱۰و ۱۱].

لذا در همین راستا، میزان مایکوتوکسین پاتولین در نمونه‌های کنسانتره سیب و کاهش آن به وسیله اُزُن و زغال فعال مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

آب سیب تغلیظ شده از محصول آخر فصل سال ۱۳۹۷ از دو کارخانه تولید کننده آب سیب در ارومیه و همچنین نمونه خانگی تهیه شده از سیبهای آلوده به قارچ پنیسیلیوم، آسپرژیلوس، بیسوکلامیسمی باشند تهیه و در دمای یخچال نگهداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده در این طرح شامل اتیل‌استات، کربنات‌سدیم، اسیداستیک گلاسیال، کربن فعال، پاتولین استاندارد و استونیتریل (تولید شرکت مرک) دارای درجه تجزیه‌ای بود. جهت انجام اندازه‌گیری نمونه آب سیب تغلیظ شده با آب مقطر به بریکس ۱۲ رقیق و برای کلیه اندازه‌گیری‌ها از نمونه تهیه شده استفاده گردید.

۲-۲- روش‌ها

فاکتورهای مورد آزمایش شامل تاثیر کربن فعال و اُزُن دهی بر میزان پاتولین به صورت تنها و با هم مورد بررسی قرار گرفت ابتدا رابطه زمان‌های مختلف اُزُن دهی با فشار گاز یکسان و همچنین مقادیر مختلف کربن فعال را روی میزان پاتولین آب سیب محاسبه شد، سپس اثر توام زغال فعال و اُزُن دهی ارزیابی گردید آزمایشات در جهاد دانشگاهی-دانشگاه ارومیه انجام گردید.

۲-۲-۱-استخراج جداسازی پاتولین

برای استخراج پاتولین و ترسیم منحنی کالیبراسیون آن، ابتدا ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر با پیپت وارد یک قیف دکانتور تمیز شد و سپس ۱۰ میکرولیتر از محلول استاندارد پاتولین (۲۰mg/l) به آن اضافه شد، بنابراین غلظت پاتولین در محلول حاصل ۲۰میکروگرم بر لیتر شد. سپس به وسیله یک پیپت، ۱۰میلی‌لیتر اتیل‌استات خالص به قیف دکانتور اضافه و به مدت ۲ دقیقه بهم زده شد و بعد دکانتور به حال خود رها شد تا فازها از هم جدا شوند. پس از جدا شدن فازها، فاز پایین (فاز آبی) جداسازی و روی فاز بالایی (فاز اتیل‌استات)، ۱ میلی‌لیتر محلول کربنات‌سدیم ۱/۵ درصد اضافه و دکانتور به مدت ۱۵

ثانیه به خوبی بهم زده شد و مجددا فاز تحتانی جدا گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به دکانتور اضافه و دوباره به مدت ۱۵ ثانیه هم زده شد و مخلوط به حال خود رها گردید تا فازها از هم دیگر جدا شود. پس از فاز آبی، فاز آلی (اتیل‌استات) در داخل ارلن ۲۵ میلی‌لیتر تمیز و خشک ریخته شد. پس از افزودن دو قطره اسید استیک گلاسیال به محلول، ارلن در حمام آب ۴۰درجه سلسیوس قرار داده شد و به وسیله جریان گاز نیتروژن، اتیل‌استات کاملا تبخیر گردید[۲و۱۲].

۲-۲-۲- اندازه گیری پاتولین

برای اندازه گیری پاتولین از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (مدل CECIL ساخت انگلستان، از ستون C18 (اندازه قطر ذرات فاز ثابت ۵میکرومتر) به طول ۲۵سانتی‌متر و قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر و ازمحافظ ستون C18 به طول ۱سانتی‌متر و قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر) استفاده شد. فاز متحرک استونیتریل-آب مقطر(۹۵/۵-V\V) و سرعت حرکت آن یک میلی‌لیتر در دقیقه و از آشکارساز UV در طول موج ۲۷٦نانومتر استفاده شد. حساسیت دستگاه HPLC در ۰/۰۰۵ تنظیم گردید و حجم حلقه تزریق مورد استفاده نیز ۲۰ میکرولیتر بود.جداسازی روی ستون اکتادسیل‌سیلان (به طول ۲۵ سانتی‌متر، قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر و اندازه‌ی ذرات ۵ میکرومتر ZORBAX Eclipse XDB) ساخت کمپانی Dr. Mainsch آلمان انجام شد. از نرم افزار Chemstation جهت پردازش داده‌ها استفاده شد به منظور جداسازی از فاز متحرک با نسبت ۵ درصد استونیتریل و ۹۵ درصد آب با فلوییک میلی‌لیتر بر دقیقه استفاده شد. زمان جداسازی ۹ دقیقه بود.

برای اندازه‌گیری؛ به وسیله یک پیپت ژوژه، ۱میلی‌لیتر آب مقطر در داخل ارلن حای عصاره تهیه شده اضافه شد و خوب بهم زده شد تا پاتولین در آن حل گردد و سپس با استفاده از سرنگ مخصوص دستگاه HPLC (هامیلتون) نمونه به دستگاه HPLC تزریق شده و سطح پیک به دست آمده از کروماتوگرام یادداشت گردید. همین آزمایش با ۱۵، ۲۰ و ۲۵ میکرولیتر محلول استاندارد پاتولین (۲۰mg/l) تکرار و هر بار سطح زیر پیک حاصل از کروماتوگرام یادداشت شد. برای اندازه‌گیری مقدار پاتولین در نمونه‌های آب سیب، روش ذکر شده تکرار و به جای آب مقطر از آب سیب استفاده گردید و مقدار پاتولین از روی منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. جداسازی ذرات کربن فعال پودری از آب سیب کار مشکلی است که با استفاده از کاغذ صافی واتمن و صافی کیزل گوراین مشکل برطرف شد[۲و۱۲].

۲-۲-۳- روش ارزیابی تاثیر اُژن و زغال فعال بر میزان پاتولین به صورت جداگانه

برای ارزیابی تاثیر اُژن و زغال فعال بصورت جداگانه سهنمونه کنسانتره سیب شامل: نمونه ۱، نمونه ۲ و نمونه شاهد تهیه گردید از هر نمونه به مقدار ۵۰ سی‌سی برداشته و در شیشه‌های آزمایشگاهی (جمعا ۲۷ شیشه که ۱۲ شیشه مربوط به تاثیر مقادیر زغال فعال ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ گرم و ۱۲ شیشه مربوط به زمان‌های مختلف اُژن دهی ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه و ۳ شیشه نمونه شاهد) هر تیمار در سه تکرار انجام شد. زغال فعال بوسیله ترازوی دیجیتال با دقت توزین و به نمونه های شیشه اضافه گردید عمل اختلاط نمونه‌های آب سیب با کربن فعال به وسیله بهم زن مغناطیسی و با سرعت یکسان برای کلیه نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت همچنین اُژن دهی به وسیله دستگاه اُژن ساز ساخت داخل با فشار یکسان در چهار زمان به وسیله شیلنگ انتقال گاز نمونه‌ها گاز دهی شدند فیلتراسیون کل نمونه‌ها به وسیله کاغذ صافی واتمن با شماره ۸٦۰ و کیزگور(به عنوان صافی کمکی) صورت پذیرفت. و برای اندازه گیری میزان باقی مانده پاتولین و اسیدیته به آزمایشگاه HPLC انتقال داده شد لازم به ذکر است مقادیر پاتولین قبل ازمایش نیز تعیین گردید.

۲-۲-٤- روش ارزیابی تاثیر توام اُژن و زغال فعال بـر پاتولین

جهت انجام اثر توام اُژن و زغال فعال چهار غلظت زغال فعال شامل ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرمو چهار زمان۰، ۳، ۵ و ۸ دقیقه انتخاب و ابتدا نمونه‌ها با زغال فعال تیمارو سپس اُژن دهی انجام گرفت سپس تمام نمونه به وسیله کاغذ صافی واتمن با شماره ۸٦۰ و کیزگور(به عنوان صافی کمکی) فیلتر شدند همه آزمایشات در سه تکرار صورت گرفت. و نمونه‌ها برای اندازه گیری میزان باقی مانده پاتولین و pH به آزمایشگاه HPLC انتقال داده شد.

۲-۳- روش‌ها و ابزار تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای ارزیابی رابطه غلظت‌های مختلف زغال فعال و اُژن دهی با میزان پاتولین از رگرسیون ساده خطی و برای مقایسه‌ی میانگین تاثیر زغال فعال و اُژن با تیمار شاهد از تجزیه واریانس یک طرفه آنوا (One Way ANOVA) و بررسی اثر توام از تجزیه واریانس دو طرفه آنوا (Two Way ANOVA) و مقایسه‌ی میانگین توسط آزمون تکمیلی توکی در سطح احتمال

۹۵ درصد به وسیله‌ی نرم افزار (SPSS)انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رابطه و همبستگی بین زمان‌های اُژن دهی و میزان pH

رابطه رگرسیونی بین زمان‌های اُژن دهی و میزان pH سه کنسانتره سیب شامل نمونه ۱،۲ و شاهد، با توجه به ضریب تبیین (R^2) نشان داد که در نمونه کنسانتره ۲ بیشترین میزان ضریب تبیین وجود دارد (شکل ۱).

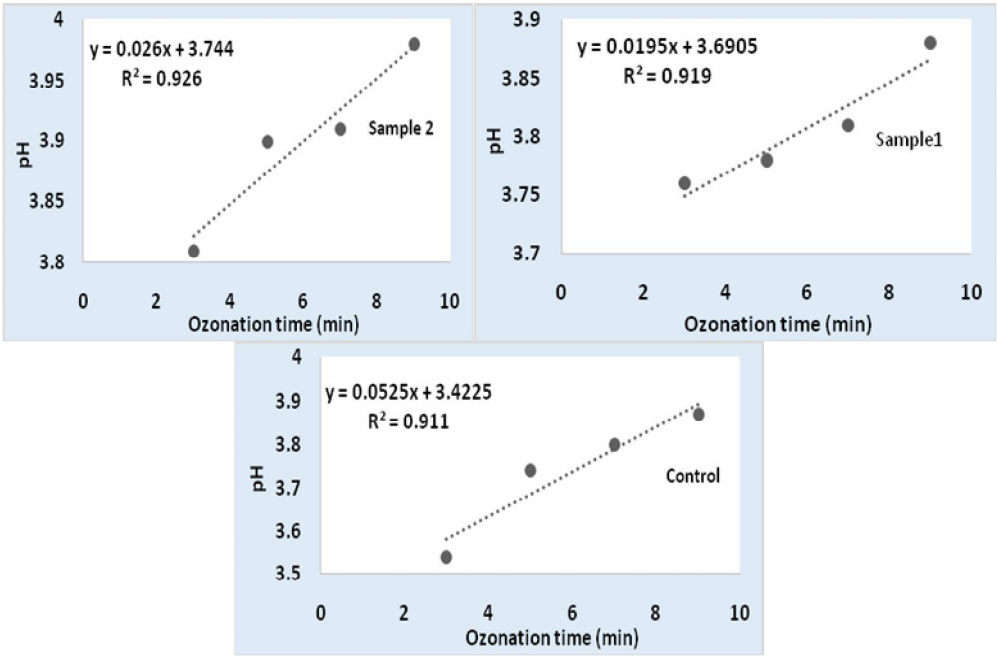

Fig 1 Regression relationship between time of ozonation (min) and pH of 1, 2, and controlsample

۳-۲- رابطه و همبستگی بین غلظت‌های زغال فعال و میزان pH

رابطه رگرسیونی بین غلظت‌های زغال فعال و میزان pH سه کنسانتره سیبشامل نمونه ۱،۲ و شاهد، با توجه به ضریب تبیین (R^2) نشان داد که در کنسانتره شاهد بیشترین میزان ضریب تبیین وجود دارد(شکل ۲).

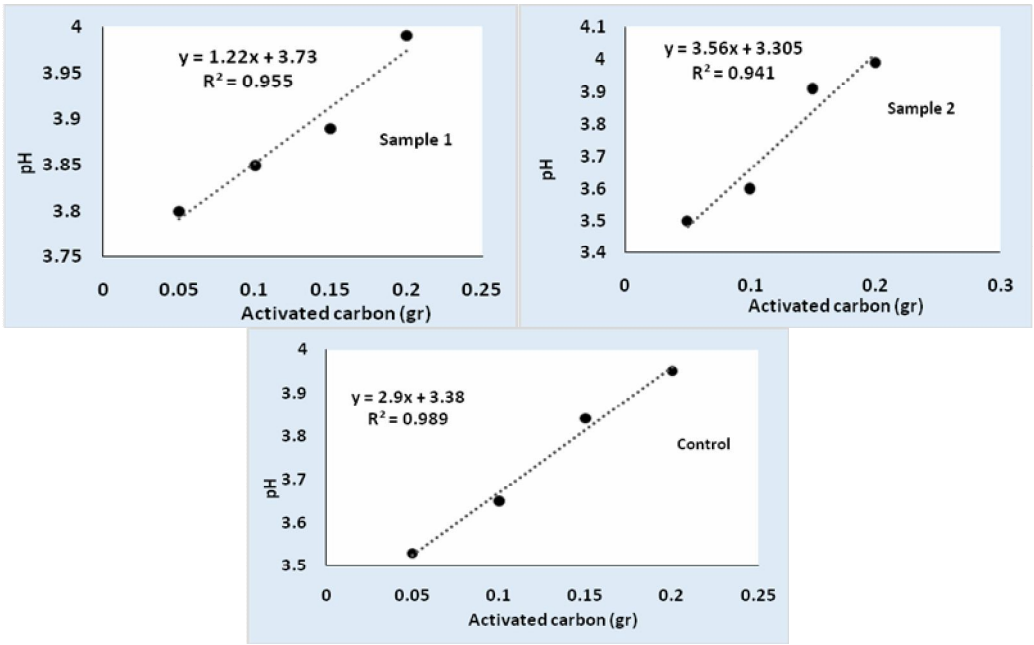

Fig 2 Regression relationship between activated carbon (gr) and pH of 1, 2, and control samples

۳-۳- رابطه و همبستگی بین زمان‌های اُزُن دهی و میزان پاتولین

رابطه رگرسیونی بین زمان‌های اُزُن دهی و میزان پاتولین سه کنسانتره سیب نمونه ۱،۲ وشاهد، با توجه به ضریب تبیین (R^2) نشان داد که در نمونه کنسانتره ۲ بیشترین میزان ضریب تبیین وجود دارد(شکل ۳).

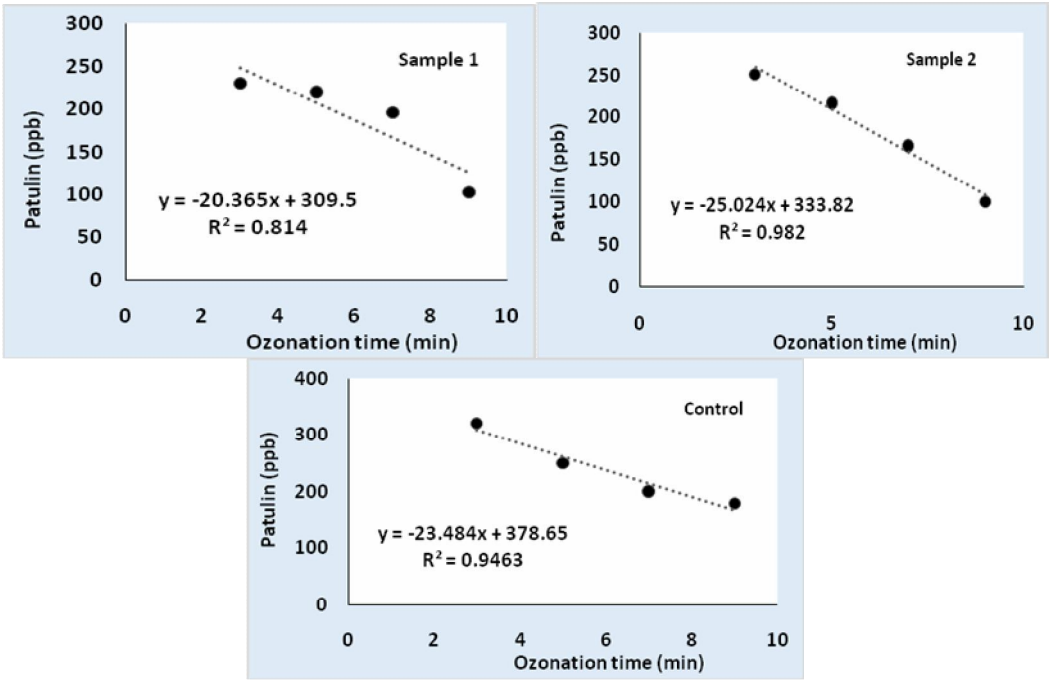

Fig 3 Regression relationship between time of ozonation (min) and patulin content (ppb) in 1, 2 and control samples

۳-٤- رابطه و همبستگی بین غلظت‌های زغال فعال و میزان پاتولین

رابطه رگرسیونی بین غلظت‌های زغال فعال و میزان پاتولین سه کنسانتره سیب نمونه ۱،۲ وشاهد، با توجه به ضریب تبیین (R^2) نشان داد که در نمونه کنسانتره ۱ بیشترین میزان ضریب تبیین وجود دارد(شکل ٤).

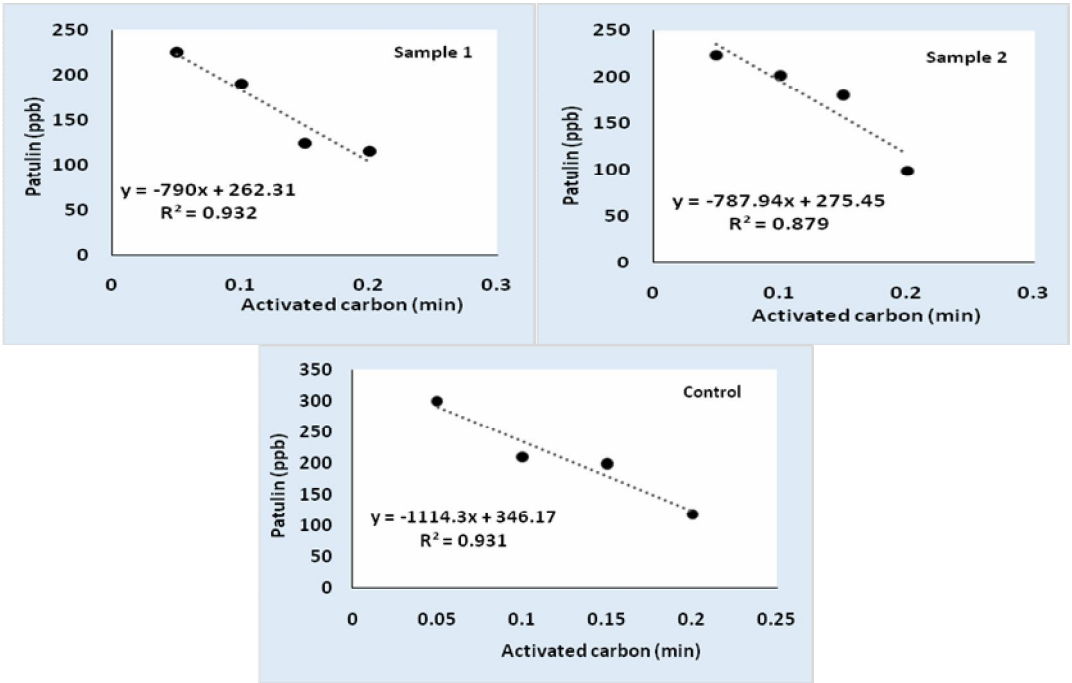

Fig 4 Regression relationship between activated carbon (min) and patulin content (ppb)of 1, 2, and control samples

۳-۵- تجزیه واریانس زمان‌های اُژن دهی روی کنسانتره‌ها

تجزیه واریانس زمان‌های (۰، ۳، ۵، ۷ و ۹ دقیقه) اُژن دهی روی سه کنسانتره نمونه ۱،۲وشاهد در جهت مقایسه تاثیر روی پاتولین موجود نشان داد با توجه به F محاسبه شده که از F جدول بزرگ‌تر بوده و P محاسبه شده از ۵ درصد کوچک‌تر می‌باشد؛ اختلاف معنی داری بین زمان‌های اُژن دهی وجود دارد(جدول ۱).

Table 1 Analysis of variance ozonation times on patulin contentinof 1, 2, and control samples

P	F	Mean of squares	Degree of freedom	Sums of squares	Source	Sample
0.001	1460.32**	10035.79	4	40143.16	Treatment	1
		6.87	10	68.72	Error	
			14	40211.89	Total	
0.001	282.15**	15615.16	4	62460.65	Treatment	2
		55.34	10	553.42	Error	
			14	63014.08	Total	
0.001	615.85**	14903.78	4	59615.13	Treatment	Control
		24.20	10	242.00	Error	
			14	59857.13	Total	

**Significance at 99% probability level

۳-۶- مقایسه میانگین تیمارها

مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد مطابق شکل ۵ به‌دست آمد(شکل ۵).

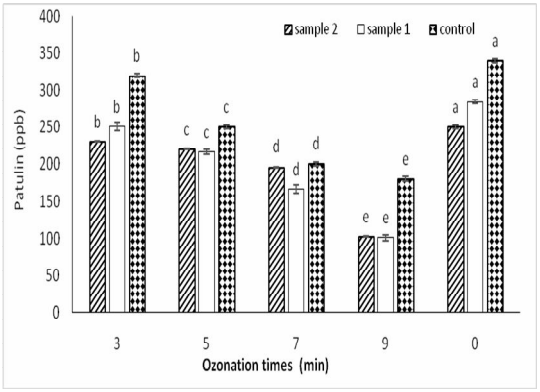

Fig 5 Comparison of average ozonation times on three concentrates using Tukey test at 95% probability level. The comparison of the three concentrates is independent of each other.The columns with similar letters are not significantly different from each other.

با توجه به شکل و مقایسه میانگین تیمارها، با افزایش زمان‌های اُژن دهی کاهش پاتولین مشاهده گردید و اُژن دهی در ۹ دقیقه بیشترین کاهش در میزان پاتولین را در هر سه کنسانتره نمونه۱،۲ و شاهد داشت.

۳-۷- آنالیز واریانس تاثیرغلظت‌های زغال فعال روی کنسانتره‌ها

تجزیه واریانس تاثیر غلظت‌های زغال فعال (۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲ و ۰ گرم) روی سه کنسانتره نمونه ۱،۲و شاهد در جهت مقایسه تاثیر روی پاتولین موجود نشان داد با توجه به F محاسبه شده که از F جدول بزرگ‌تر بوده و P محاسبه شده از ۵ درصد کوچک‌تر می‌باشد؛ اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های اُژن دهی وجود دارد (جدول ۲).

Table 2 Analysis of variance activated carbon concentration on patulin content of 1, 2, and control samples

P	F	Mean of squares	Degree of freedom	Sums of squares	Source	Sample
0.001	1064.68**	10787.70	4	43150.80	Treatment	1
		10.13	10	101.32	Error	
			14	43252.12	Total	
0.001	1946.18**	13570.22	4	54280.90	Treatment	2
		6.97	10	69.72	Error	
			14	54350.63	Total	
0.001	1836.59**	23182.45	4	92729.82	Treatment	Control
		12.62	10	126.22	Error	
			14	92856.05	Total	

**Significance at 99% probability level

۳-۸- مقایسه میانگین تیمارها

مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد مطابق شکل ٦ به‌دست آمد(شکل ٦).

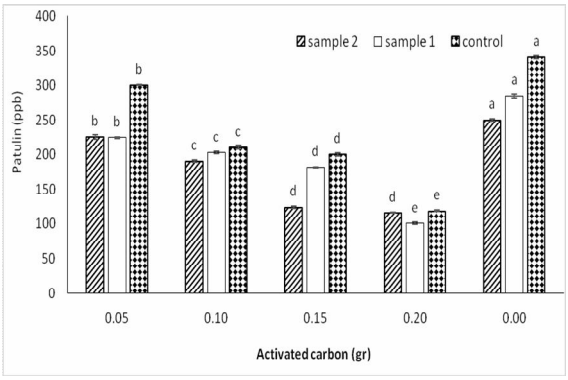

Fig 6 Comparison of the average concentrations of activated carbon on patulin content of three sample using Tukey test at 95% probability level. The comparison of the three concentrates is independent of each other; the columns with similar letters are not significantly different from each other.

با توجه به شکل و مقایسه میانگین تیمارها، نتایج نشان داد: با افزایش غلظت‌های زغال فعال کاهش پاتولین مشاهده گردید و زغال فعال با غلظت ۰/۲ بیشترین کاهش در میزان پاتولین را نمونه۱،۲ و شاهد داشت.

۳-۹- مقایسه دو روش اُزُن دهی و زغال فعال روی میزان پاتولین نمونه ۱،۲ وشاهد

مقایسه دو روش اُزُن دهی و زغال فعال روی میزان پاتولین نمونه۱،۲ وشاهد نشان داد در زمان و غلظت حداکثر اختلاف معنی داری در کاهش با دو روش وجود ندارد(شکل ۷) (جدول ۳).

۳-۱۰- اثر مخلوطاُزُن‌دهی و زغال فعال بر میزان پاتولین

تجزیه واریانس تاثیر غلظت ۰/۱۵ زغال فعال و زمان ۷ دقیقه اُزُن دهی در حالت جدا و توام روی میزان پاتولین سه کنسانتره نمونه ۱،۲ وشاهد نشان داد با توجه به F محاسبه شده که از F جدول بزرگ‌تر بوده و P محاسبه شده از ۵ درصد کوچک‌تر می‌باشد؛ اختلاف معنی‌داری بین زمان‌های اُزُن دهی وجود دارد(جدول ٤) .

Table 3 T-test analysis of two methods of ozonation time and activated charcoalconcentration on the amount of patulin in 1, 2 and control sample

P	t(df)	Mean±SE	Treatments	Sample
0.287	1.29(3)	187.30±58.25 163.55±52.81	Ozonation Activated charcoal	1
0.504	0.57(3)	183.68±65.26 176.95±54.24	Ozonation Activated charcoal	2
0.099	2.36(3)	237.74±62.32 206.88±74.51	Ozonation Activated charcoal	Control

Table 4 Analysis of variance of 0.15 activated charcoal concentration and time of 7 minutes ozonation in the isolated and mixing form on the amount of patulin with three concentrates of sample 1, sample 2 and control

P	F	Mean of squares	Degree of freedom	Sums of squares	Source	Sample
0.001	15.30**	9419.06 615.51	2 6 8	18838.12 3693.10 22531.22	Treatment Error Total	1
0.001	280.22**	4117.36 14.69	2 6 8	8234.73 88.15 8322.89	Treatment Error Total	2
0.001	461.32**	6178.13 13.39	2 6 8	12356.27 80.35 12436.62	Treatment Error Total	Control

**Significance at 99% probability level

۳-۱۱- مقایسه میانگین تیمارها

مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح

احتمال ۹۵ درصد مطابق شکل۷ به‌دست آمد(شکل ۷).

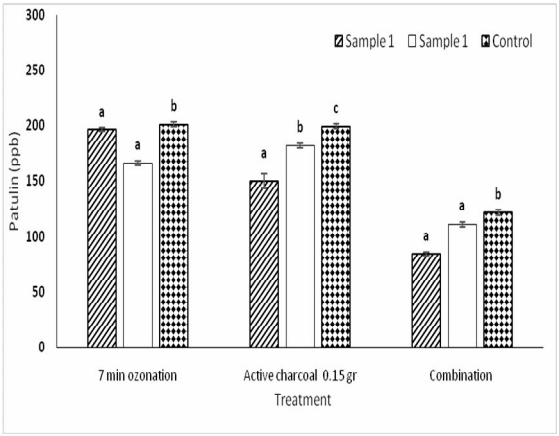

Fig 7 Comparison of the mean effect of activated charcoal in concentration 0.15 grand 7 min ozonation time in isolated and combined state on the amount of patulin of three concentrates of sample 1, sample 2 and control sample using Tukey test at 95% probability level. The comparison of the three concentrates is independent of each other, the columns with similar letters are not significantly different from each other.

در بررسی تاثیرغلظت ۰/۱۵ زغال فعال و زمان ۷ دقیقه اُزُن - دهی در حالت جدا و توام روی میزان پاتولین سه کنسانتره نمونه۱،۲ وشاهد، نتایج نشان داد: کاربرد توام اُزُن دهی و زغال فعال در کاهش پاتولین نسبت به کاربرد تک تک آن‌ها تاثیر بیشتری دارد.

۳-۱۲- بررسی اثر توام زغال فعال و اُزُن در غلظت و زمان‌های مختلف

بررسی تجزیه واریانس حاصل از تاثیر توام زغال فعال در غلظت‌های (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم) و زمان‌های اُزُن دهی (۰، ۳، ۵ و ۸ دقیقه) نشان داد با توجه به جدول ۵ اختلاف معنی داری بین غلظت‌ها در هر دو عامل و همچنین اثر توام آن‌ها وجود دارد(جدول ۵).

Table 5 Analysis of variance obtained from the combined effect of activated carbon and ozone at different concentrations

Eta index	P	F	Mean of squares	Degree of freedom	Sums of squares	Source
0.886	0.001	82.803**	35626.13	3	106878.68	Activated carbon
0.788	0.001	39.745**	17100.18	3	51300.56	Ozone
0.483	0.006	3.32**	1430.81	9	12877.35	Ozone×Activated carbon
			430.25	32	13768.00	Error
				48	510041.00	Total

**Significance at 99% probability level

۳-۱۳- مقایسه میانگین تیمارها

در بررسی اثر متقابل در غلظت‌های مختلف زغال فعال و زمان‌های اُزُن دهی بین تیمارها اختلاف معنی داری دیده شد بیشترین کاهش توسط غلظت‌های مختلف زغال فعال مربوط به غلظت ۱/۵ گرم و بیشترین کاهش در اُزُن دهی مربوط به ۸ دقیقه اُزُن دهی می‌باشد(شکل ۸، ۹ و ۱۰).

در بررسی اثر توام غلظت‌های زغال فعال و زمان‌های اُزُن دهی نتایج نشان داد در زمان ۸ دقیقه اُزُن دهی با غلظت ۱/۵ گرم زغال فعال بیشترین کاهش پاتولین مشاهده گردید.

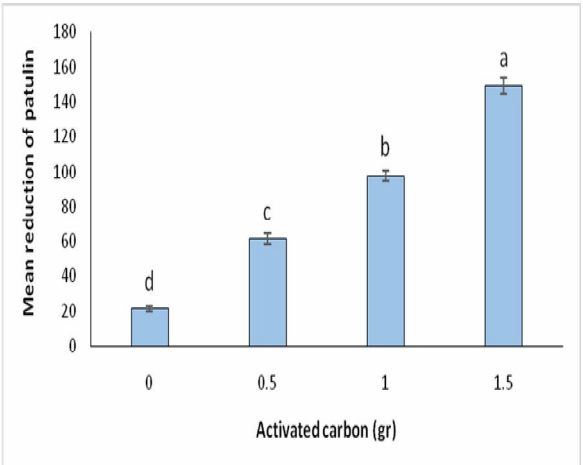

Fig 8 Comparison of mean reduction of patulin by different concentrations of activated carbon by Tukey test. Treatments that have similar letters do not differ significantly.

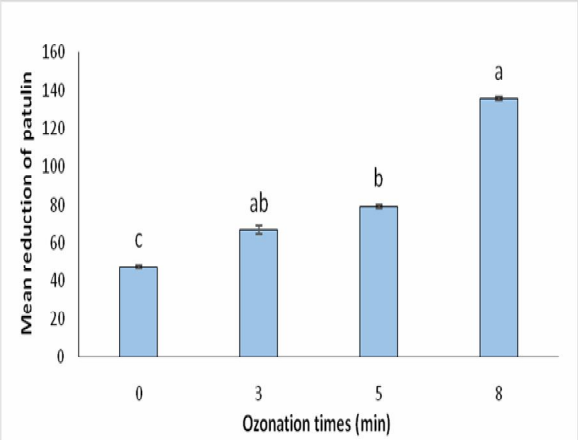

Fig 9 Comparison of mean reduction patulin by ozonation times by Tukey test. Treatments that have similar letters do not differ significantly.

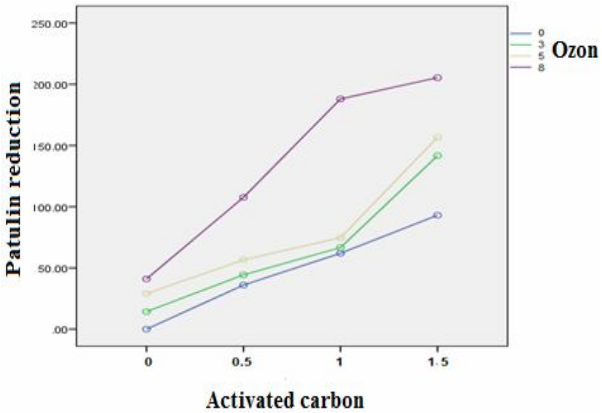

Fig 10 Interaction of activated carbon concentrations and ozonation times on reduction patulin

٤- نتیجه گیری کلی

اندازه گیری 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 می باشد. کاداکال وناس(۲۰۰۲) خواص سم‌زدایی زغال فعال را روی پاتولین آب سیب بررسی و نتایج نشان داد، که زمان‌های مختلف استفاده از زغال فعال در کاهش پاتولین و هیدروکسی متیل فورفورال نقش بسیار مهمی داشت، و بهترین نتیجه در ۳ گرم در لیتر به مدت ۵ دقیقه به دست آورد [۱۳].

در بررسی حاضر نیز ۰/۲ گرم در ۵۰ سی‌سی معادل ٤ گرم در لیتر در ۱۰ دقیقه زمان بیشترین سم زدایی را نشان داد که با نتایج این تحقیق تا حدودی منطبق می‌باشد. در بررسی هابنر و همکاران (۲۰۰۰) در روی استفاده از کامپوزیت کربن با خاصیت جذبی نتایج نشان داد، که این ترکیب خاصیت بالایی در کاهش پاتولین دارد[١٤]. در بررسی گُکمَن و همکاران روی تاثیر بعضی از ترکیبات رایج در سم‌زدایی آب سیب از پاتولین نتایج نشان داد، ژلاتین، بنتونیت و زغال فعال تاثیر بسیار مثبتی در کاهش پاتولین داشتند [۱۰]. در تحقیق حاضر نیز زغال فعال اثر مشابه و سم زدایی ایجاد کرد.نتایج پژوهش دیوّ و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی تاثیر اُزُن روی میزان پاتولین و ترکیبات فنولیک نشان دادکه میزان پاتولین از ۲۰۱/۰٦ به زیر ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر در مدت ۱۵ دقیقه کاهش یافت. همچنین میزان ترکیبات فنولیک تا ۷۵/۳٦ درصد کاهش یافت [٦]. در تحقیق حاضر نیز میزان کاهش پاتولین با زمان اُزُن دهی همبستگی مثبت نشان داد که موید خاصیت سم زدایی اُزُن می‌باشد. در بررسی انجای همکاران (۲۰۱۸) روی خواص سم‌زدایی و تجزیه پاتولین در روی سیب نشان داد، اُزُن تراپی روی کاهش پاتولین نقش بسیار مثبتی ایفا می‌کند و هیچ تاثیر سویی روی کیفیت آن نمی‌گذارد[۱۵]. کاتالدو (۲۰۰۸) نشان داد، که اُزُن میتواند پاتولین آب گلابی و سیب را به طور معنی داری کاهش دهد [۹]. در بررسی حاضر نیز اُزُن تراپی در کاهش پاتولین اثر مطلوبی نشان داد. در بررسی کاراجا و ولی‌اوغلو (۲۰۰۹) روی تاثیر اُزُن روی کاهش میزان مایکوتوکسین پاتولین نتایج نشان داد، رابطه مستقیمی بین زمان اُزُن دهی و میزان کاهش پاتولین وجود دارد و ۹۸ درصد از اینتوکسین تنها در مدت ۱ دقیقه تجزیه گردیدند و بعضی از یون‌ها نظیر آهن، کلسیم، آلومینیم، قلع، روی و کلات کلسیم در افزایش این اثر نقش مثبتی داشتند [١٦]. در تحقیق حاضر نیز زمان‌های اُزُن دهی با ضریب تبیین بالا با کاهش پاتولین همبستگی نشان داد. همچنین کاراجا و ولی‌اوغلو (۲۰۰۷) در بررسی اُزُن روی کاهش مایکوتوکسین روی میوه‌ها و سبزیجات نشان داد، که اُزُن یک ترکیب اکسیداتیو بر علیه این توکسین‌ها بوده و بدون هیچ نوع تاثیر سویی روی میوه و سبزیجات توکسین‌های میکروبی و باکتریایی را از بین می‌برند [۱۷]. در بررسی تزرتزاکیس و چیریزارگریس (۲۰۰۸)روی تاثیر اُزُن دهی بر میوه و سبزیجات بعد از مرحله برداشت، اُزُن میزان نگهداری محصولات را چندین برابر افزایش داد[۱۸]. نتایج بررسی فتحی آچاچلویی و همکاران (۱۳۸٤) روی تاثیر کربن فعال بر کاهش مقدار پاتولین در آب سیب 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 معنی داری کاهش می‌یابد، به طوری که با مصرف ۵ گرم در لیتر از آن صرف نظر از زمان تاثیر (۱۵، ۵ و ۳۰) مقدار پاتولین به صفر می‌رسد. همچنین در غلظت‌های کمتر کربن فعال با افزایش زمان تاثیر کاهش مقدار پاتولین معنی دار بود [۲]. همچنین در ارزیابی میزان پاتولین در لواشک سیب و آب سیب عرضه شده در شهرستان شهرکرد در سال ۱۳۹٤ توسط رحیمی و همکاران نشان داد که پاتولین در ١٤ نمونه لواشک سیب (٤٠ درصد) و ۷ نمونه آب سیب (۲۰ درصد) وجود دارد. میانگین غلظت پاتولین در نمونه‌های لواشک و آب سیب به ترتیب ۲٦/۳ ± ۳٤/۹ و ۱۹/۷ ± ۲٦ میکروگرم در کیلوگرم بود [۱۹] .در تحقیق حاضر نیز نمونه‌های مورد آزمایش دارای درصد پاتولین بالایی بودند.در بررسی اسکندری و همکاران روی تاثیر مراحل مختلف تولید صنعتی لواشک بر میزان کاهش سم پاتولین نتایج نشان داد که حداکثر کاهش پاتولین به مقدار ٢٤/٦٠ و ۱۸/۲۰ درصد به ترتیب در مراحل فرمولاسیون و تغلیظ صورت گرفت، در حالی که بعد از مراحل خشک کردن، فیلتراسیون و پخت مقدماتی، میزان کاهش سم پاتولین به ترتیب ۸/۵۸، ۳/۸۲ و ۲/٤۸ درصد بود. نتایج نشان داد که در محصول نهایی بیش از ٤٠ درصد مقدار اولیه پاتولین باقی می‌ماند [۲۰].

بررسی حاضر نشان داد با به کارگیری گاز اُزُن به همراه زغال فعال می‌توان در کارخانجات تولید آبمیوه و کنسانتره میزان پاتولین را در حدقابل قبولی کاهش داد و با روش‌های مناسب کشاورزی (GAP) گامی موثر در سلامت جامعه و صادرات آبمیوه و کنسانتره برداشت.

۵- سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد صنایع غذایی مصوب دانشگاه ازاد واحد خوی می‌باشد. نویسندگان از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه تشکر و قدردانی مینمایند.

هیچگونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد.

٦- منابع

[1] Puel, O., Galtier, P., & Oswald, I. P. (2010). Biosynthesis and toxicological effects of patulin. *Toxins*, *2*(4), 613-631.

[2] FathiAchachloii, B., Ahmadi Zonooz, A., Asadi, y., Hesari, J., Asgari Zakaria, R., (2002). Effect of active carbon on patulin reduction at apple juice. Master Thesis – Tabriz University (Ministry of Science, Research, and Technology). In Persian

[3] Poostforoushfard, A., Pishgar, A. R., Berizi, E., Nouraei, H., Sobhani, Z., Mirzaie, R., &Zomorodian, K. (2017). Patulin contamination in apple products marketed in Shiraz, Southern Iran. *Current Medical Mycology*, *3*(4), 32.

[4] Tavakkoli, R., Mohammadi, A., Attaran, A., (2011). Determination of the amount of patulin in apple juice using micro-extraction method with dispersed solvent drops with high-performance liquid chromatography. Master Thesis - Payame Noor University of Markazi Province (Ministry of Science, Research, and Technology). In persin.

[5] Miller, F. A., Silva, C. L., &Brandão, T. R. (2013). A review on ozone-based treatments for fruit and vegetables preservation. *Food Engineering Reviews*, *5*(2), 77-106

[6] Diao, E., Wang, J., Li, X., Wang, X., Song, H., & Gao, D. (2019). Effects of ozone processing on patulin, phenolic compounds and organic acids in apple juice. *Journal of Food science and Technology*, *56*(2), 957-965.

[7] Diao, E., Hou, H., Chen, B., Shan, C., & Dong, H. (2013). Ozonolysis efficiency and safety evaluation of aflatoxin B1 in peanuts. *Food and Chemical Toxicology*, *55*, 519-525.

[8] Ashirifie-Gogofio, J., Floros, J. D., &LaBorde, L. F. (2009). Ozone degradation of patulin in model apple juice system. In Annual Meeting & Food Expo, Anaheim, CA: IFT (Vol. 9).

[9] Cataldo, F. (2008). Ozone decomposition of Patulin—a micotoxin and food contaminant. Ozone: Science and Engineering, 30(3), 197-201.

[10] Gökmen, V., Artık, N., Acar, J., Kahraman, N., &Poyrazoğlu, E. (2001). Effects of various clarification treatments on patulin, phenolic compound and organic acid compositions of apple juice. *European Food Research and Technology*, *213*(3), 194-199.

[11] Ekinci, R. (2013). Effect of activated charcoal on some phenolic compounds of apple juice.*Asian Journal of Chemistry,* 25 (5): 2905-2908

[12] Delavar, M., Kamankesh, M., Tavakoli, R., Navabi, A., & Mohammadi, A. 2014. Determination of patulin in apple juice samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography and method optimization using response surface methodology. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 8 (4): 145-154.

[13] Kadakal, C., &Nas, S. (2002). Effect of activated charcoal on patulin, fumaric acid and some other properties of apple juice. *Food/Nahrung*, *46*(1), 31-33.

[14] Huebner, H. J., Mayura, K., Pallaroni, L., Ake, C. L., Lemke, S. L., Herrera, P., & 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.

[15] EnJie, D., Wei, L., Yue, W., JiaRong, H., Fei, W., ChenLin, W., &XiangYang, L. (2018). Design and application of ozone detoxification equipment for patulin in contaminated apple juice. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, *34*(12), 282-287.

[16] Karaca, H., &SedatVelioglu, Y. (2009). Effects of some metals and chelating agents on patulin degradation by ozone. *Ozone: Science &Engineering*, *31*(3), 224-231.

[17] Karaca, H., &Velioglu, Y. S. (2007). Ozone applications in fruit and vegetable processing. *Food Reviews International*, *23*(1), 91-106.

[18] Tzortzakis, N., Singleton, I., & Barnes, J. (2008). Impact of low-level atmospheric ozone-enrichment on black spot and anthracnose rot of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, *47*(1), 1-9.

[19] Rahimi, A., Torkibaghbadrani, Z.,Shakerian., A., (2015). The amount of patulin in apple dish and apple juice offered in Shahrekord city. *Journal of Food Hygiene*, 4(3). In Persian.

[20] Eskandari, M.H. ,Montaseri, H., Mesbahi, Gh. , TaheriYaganeh, A., , Niakousari, M., Karami, S. (2014). Effect of different processing stages of commercial fruit leather on patulin reduction. *Journal of Food Hygiene*, 4(15) In Persian.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of Ozone and Activated Charcoal on Patulin in Apple Concentrate

Bashiri, A. [1], Matini, S. [2*], Armideh, Sh.[3]

1. Master Student, Islamic Azad University, Khoy Branch, Khoy, Iran.
2. Assistant Professor of Food Science Department,Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Khoy Branch, Iran.
3. Associate Professor, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 30
Accepted 2022/ 01/ 23

Keywords:

Mycotoxin,Patulin,
Ozone,
Activated charcoal,
Apple concentrate

DOI: 10.52547/fsct.19.123.189

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.123.21.6

*Corresponding Author E-Mail:
Matinii.sara@gmail.com

ABSTRACT

Patulin is a major human health problem, especially in beverage industrial and concentrate. The global standard of patulin in fruit juices is about 50 ppb. Studies show that using different physical, chemical and biological methods can reduce the amount of patulin.Therefore, the amount of patulin in apple concentrate samples by ozone, activated charcoal and their combined effects were evaluated. One-way analysis of variance to compare the separate effects of the two factors, two-way analysis of variance to the combined effect and the Tukey test was used to compare the means at the 5% probability level.The results of this study showed that there is a direct relationship between increasing the concentration of activecharcoal and time of ozonationwith decreasing the amount of patulin. The highest decrease in patulin concentration was obtained in 0.2 g of activated charcoal and 9 minutes ozonation. The results also showed that there was an interaction between the two variables and the highest decrease in patulin was observed at 8 minutes of ozonation and 1.5 g of activated charcoal.The present study showed that by using ozone along with activated charcoal, it is possible to reduce the amount of patulin in fruit juice and concentrate production factories and take an effective step in community health and export of fruit juice and concentrate.