Archive of SID

اثر استفاده از گاز ازن بر کاهش افلاتوکسین موجود در بلغور ذرت دندان اسبی (*Zea mays var. indentata*)

نوشین فرهادیه[a]، اورنگ عیوض زاده[b]*، بابک غیاثی طرزی[c]

[a] *دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران*
[c] *دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۱۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

چکیده

مقدمه: آفلاتوکسین ها متابولیت های ثانویه برخی از قارچ ها می باشند. آفلاتوکسین ها به ویژه آفلاتوکسین B_1 به شدت سمی هستند و ممکن است خطرات جدی برای سلامت انسان و حیوان ایجاد نمایند. در این تحقیق تأثیر فرایندهای ازناسیون بر روی میزان آفلاتوکسین بلغور ذرت بررسی گردیده است.

مواد و روش‌ها: در فرایند ازناسیون، بلغورذرت تلقیح شده با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (۲×۱۰^{۷}CFU/ ml)، تحت تأثیر ازن با غلظت‌های ۷ و ۹ میلی گرم بر لیتر و مدت زمان‌های ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه قرار گرفت و اثر فرایند ازناسیون بر روی مقادیرآفلاتوسین B_1، B_2، G_1 و G_2، مورد بررسی قرار گرفت. سنجش آفلاتوکسین با استفاده از دستگاه HPLC انجام شد و میزان آفلاتوکسین مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که فرایند ازناسیون به‌طور معنی‌داری، باعث کاهش میزان آفلاتوکسین B_1، گردید ($P\leq۰/۰۵$) و در تمامی تیمارها (به جز تیمار شاهد آلوده شده) کمتر از میزان مجاز آن در استاندارد ملی ایران (۵ ppb) بوده است. کاهش آفلاتوکسین تحت تاثیر غلظت و زمان در معرض قرارگیری ازن بود ($P\leq۰/۰۵$) و کمترین مقادیر آفلاتوکسین B_1 در بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه مشاهده شد ($P\leq۰/۰۵$). در ارتباط با سایر آفلاتوکسین‌ها (B_2، G_1 و G_2)، بیشترین میزان آفلاتوکسین در تمامی موارد مربوط به نمونه شاهد بود، تحت تاثیر فرایند ازناسیون مقادیر آن‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P\leq۰/۰۵$). در مجموع با وجودی که سایر آفلاتوکسین‌ها تحت تأثیر ازن قرار گرفته‌اند اما کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تاثیر از روند منظمی پیروی نمی‌کرد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج به نظر می‌رسد، ازوناسیون روشی موثر، سریع و بی‌خطر برای کاهش آفلاتوکسین‌ها به ویژه آفلاتوکسین B_1 در بلغور ذرت می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: *آفلاتوکسین B1، بلغور ذرت، سمیت، گاز ازن*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: orang_eyvazzadeh@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

غلات از مهم‌ترین گیاهان غذایی و تامین کننده بیش از ۷۰٪ غذای مردم کره زمین می‌باشد. ذرت سومین محصول زراعی مورد کشت بعد از گندم و برنج است، از لحاظ تغذیه‌ای نیز گیاه ارزشمندی است و تنها مشکل آن کمبود اسید آمینه های ضروری لیزین و تریپتوفان است. اهمیت اقتصادی ذرت که کشت آن از دیر باز رواج داشته است به دلیل استفاده کلیه قسمت های آن اعم از دانه و شاخ و برگ و حتی چوب بلال و کاکل آن و نیز مصارف ذرت در تغذیه انسان (۲۵-۲۰٪)، تغذیه دام ها و طیور (۷۰ – ۷۵٪)، داروسازی و صنعت (۵٪) می‌باشد (Mirhadi, 2001). براساس آمار منتشره توسط وزارت جهاد کشاورزی طی سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۹۴ متوسط تولید سالیانه ذرت دانه‌ای درکشور ۱/۷ میلیون تن بوده است. در این بازه زمانی بیشترین تولید در سال ۱۳۸۶ با ۲/۳ میلیون تن و کمترین تولید در سال ۱۳۸۰ با ۱/۰۶میلیون تن صورت گرفته است. میزان تولید ذرت با توجه به وضعیت منابع آب در کشور و براساس برنامه‌ریزی وزارت جهاد کشاورزی بعد از سال ۱۳۹۳ کاهش یافته است (Mirbagheri *et al*, 2016). ذرت دارای ارقام مختلفی می‌باشد که در نوع ذرت دندان اسبی بوته‌های ذرت بزرگ (Dent Corn-Zea mays indentata) بوده و بعنوان علوفه کشت می‌شود. دانه‌ها پس از رسیدن و تکمیل دارای فرورفتگی می‌شود که به آن ذرت دندان اسبی می‌گویند. ذرت دندان اسبی دارای ارزش غذایی بالا بوده و بالاترین مقدار ویتامین A را در میان غلات دانه‌ای دارد. نوع سفید این نوع ذرت در درجه اول برای مصرف در تغذیه انسان می‌باشد (Haggani, 2011). به دلیل متنوع بودن محصولات حاصل از ذرت، این محصول گیاه با ارزشی تلقی می‌شود. یکی از مهم‌ترین محصولات آن بلغور ذرت می باشد.

غلات، (از جمله ذرت) مستعدترین محصولات برای آلودگی به قارچ بوده و درعین حال مناسب‌ترین بستر طبیعی برای رشد قارچ‌های آفلاتوکسین زا به شمار می‌آیند. آفلاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط گونه‌های مختلف کپک آسپرژیلوس به ویژه گونه‌های *فلاووس* و *پارازیتیکوس* تولید شده و به شدت سمی و سرطان زا بوده و در عین حال جهش زا شناخته شده است. آلودگی طیف وسیعی از محصولات غذایی انسان و دام به آفلاتوکسین‌ها امروزه به‌عنوان یک معضل اقتصادی و تهدید جدی برای سلامت بشر در دنیا شناخته می‌شود. از میان چهار گروه عمده آفلاتوکسین‌ها (B_1، B_2، G_1و G_2) آفلاتوکسین B_1 دارای بیشترین میزان سمیت در انسان و حیوانات می‌باشد (Moosavian *et al*., 2016).

براساس آمار منتشره توسط وزارت جهاد کشاورزی در بین سال‌های ۱۳۸۰ تا ۱۳۹۴ سالیانه و به‌طور متوسط حدود ۳/۴ میلیون تن ذرت وارد ایران شده است، بیشترین میزان واردات مربوط به سال ۱۳۹۴ با ۶/۲ میلیون تن و کمترین آن مربوط به سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ با ۱/۷ میلیون تن می‌باشد. در همین بازه زمانی و در مجموع حدود ۱۳/۵ میلیارد دلار ارز برای واردات ذرت صرف شده است (Mirbagheri *et al*., 2016). براساس بررسی‌های به عمل آمده ۹ شرکت دولتی حدود ۵۰۰ هزار تن ذرت آلوده به قارچ آفلاتوکسین در سال ۱۳۹۵ وارد ایران شد. استفاده از ذرت آلوده و محصولات تهیه شده از آن (حتی با غلظت بسیار کم آفلاتوکسین) ممکن است آسیب جدی به سلامت انسان و حیوان وارد کند. متاسفانه، با وجود پیشرفت مداوم در خشک کردن، ذخیره‌سازی و فرآوری مواد غذایی، آلودگی آفلاتوکسین در صنایع غذایی اجتناب ناپذیر است چرا که آفلاتوکسین در بسیاری از شرایط تولیدو فرآیند مواد غذایی بسیار پایدار است. بنابراین، یافتن روش و ابزاری کارآمد برای از بین بردن آفلاتوکسین در مواد غذایی بسیار مهم است. بسیاری از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای از بین بردن آفلاتوکسین در مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین به کار رفته است (Farzaneh *et al*., 2012; Magnoli *et al*., 2008; Saalia & Phillips, 2010; Wu *et al*., 2009). با این وجود هر کدام از روش‌ها دارای معایب خاصی از قبیل کاهش ارزش تغذیه-ای، کاهش امتیاز حسی و هزینه بالای تجهیزات مورد استفاده، می‌باشد که این معایب سبب کاربرد عملی کمتر این روش‌ها شده است (Luo *et al*., 2014a).

ازن یک گاز طبیعی است که در اتمسفر زمین یافت می‌شود و به عنوان یک عامل ضدعفونی کننده برای صدها سال استفاده می شده که برای اولین بار در قرن ۱۹ برای ضدعفونی آب آشامیدنی استفاده شده و در سال ۱۹۹۷ توسط وزارت غذا و دارو آمریکا به عنوان یک ضدعفونی کننده غذا تصویب شد. ازن سریعا به اکسیژن تبدیل

www.SID.ir

Archive of SID

می‌شود و هیچ گونه باقیمانده خطرناک از خود بر جای نمی‌گذارد (Cullen *et al*., 2009). این ماده یکی از قوی-ترین مواد اکسید کننده طبیعی است که به عنوان یک ترکیب گندزدا و بوگیر شناخته شده است. ازن یا اکسیژن فعال مواد خطرناک از جمله سموم قارچی، ویروس‌ها، باکتری‌ها، مخمرها و جلبک‌ها را در سطح مولکولی از بین می‌برد و با اکسید کردن و حذف مواد خطرناک مانند نیترات ها، اوره، آمین‌ها، سیانیدها و سموم کشاورزی و فلزاتی مانند منگنز، آهن کار آمد و فعال است با این حال مطالعات اندکی در ارتباط با از بین بردن آفلاتوکسین با استفاده از ازن موجود می‌باشد (De Alencar *et al*., 2012; Mc Donough *et al*., 2011).

Luo و همکاران (2014b) به بررسی تاثیر گاز ازون بر مقادیر آفلاتوکسین در آرد ذرت پرداختند. آنها اعلام نمودند با افزایش غلظت ازن و افزایش زمان در معرض قرار گیری گاز ازن، تخریب آفلاتوکسین افزایش می‌یابد. به طوریکه مقادیر آفلاتوکسین در تیمارهای با غلظت ۷۵ میلیگرم/ لیتر ازن و زمان ۶۰ دقیقه به ترتیب برای B_1، G_1و B_2، از مقادیر ۵۳/۶۰، ۱۲/۰۸ و ۲/۴۲ میکروگرم/ کیلوگرم به مقادیر ۱۱/۳۸، ۳/۳۷ و ۰/۷۱ میکروگرم/ کیلوگرم کاهش یافت به طوریکه از مقادیر استاندارد حد مجاز افلاتوکسین (۲۰ میکروگرم/ کیلوگرم) نیز کمتر بود.

Mirabalftahi و همکاران (2018) به بررسی امکان استفاده از گاز اوزون برای کاهش آلودگی پسته به آفلاتوکسین و قارچ‌های مولدآن پرداختند، در مطالعه آنها اوزون‌دهی با استفاده از دستگاه اوزون ژنراتور با دبی ورودی اکسیژن ۱۵ لیتر در ساعت و با ظرفیت ۱۰ گرم در ساعت معادل ۶۶۷ گرم بر متر مکعب یا ppm ۱/۳۱ اوزون و در طی مدت‌های ۱۵ و ۱۰ دقیقه در شرایط همراه با آب و خشک توانست آلودگی پسته به قارچ مولد آفلاتوکسین را ۹۲- ۹۰ در صد و میزان آلودگی کلی به آفلاتوکسین‌های B_1,B_2, G_1, G_2 را به میزان ۴۵- ۷۰ در صد کاهش دهد که کاربرد ازون با مقادیر و مدت فوق را برای کاهش آلودگی قابل توصیه می کند.

Li و همکاران (2019) به بررسی تاثیر گاز ازون و اشعه UV بر مقادیر آفلاتوکسین در بادام زمینی پرداختند. بدین منظور ابتدا بادام‌ها به آفلاتوکسین B_1 با غلظت ppm ۵۰۰ و آفلاتوکسین B_2، G_1 و G_2 با غلظت ppm ۲۵۰ آلوده نمودند. سپس در معرض اشعه UV و گاز ازون با غلظت-های ۳، ۵ و ۷ میلی‌گرم/ لیتر و زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. آنها اعلام نمودند با افزایش زمان و غلظت قرارگیری در معرض ازون تخریب آفلاتوکسین‌ها نیز افزایش یافت، به طوریکه در بالاترین غلظت و زمان میزان آفلاتوکسین B_1 به میزان ۷۹/۰۱٪ و آفلاتوکسین کل به میزان ۶۷/۲۴٪ کاهش یافت. همچنین تاثیر منفی بر پلی فنل‌ها و مقادیر اسیدهای چرب بادام نداشت.

در مجموع با توجه به موارد بیان شده در این مطالعه به بررسی تاثیر گاز ازن بر کاهش آفلاتوکسین B_1 در بلغور ذرت پرداخته شد.

مواد و روش ها

- مواد اولیه

بلغور ذرت از شرکت گندم کوب، واقع در هشتگرد- البرز تهیه شد. آمپول لیوفلیزه اسپور قارچ آسپرژیلوس فلاووس (PTCC ۵۰۰۴) که قادر به تولید آفلاتوکسین B1 بود، از کلکسیون قارچ‌های صنعتی ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی) تهیه شدند. سموم آفلاتوکسین استاندارد B1 و محیط کشت سابرو دکسترو براث از شرکت شیمیایی سیگماوایبرسکو تهیه شدند.

- آلوده کردن مصنوعی بلغور ذرت

برای فعال کردن اسپور قارچ، طبق دستورالعمل ارائه شده از طرف شرکت تولیدکننده، به محتوای آمپول لیوفلیزه قارچ یک دو قطره از محلول محیط کشت مایع SD اضافه شده سپس مایع در یک ارلن مایر حاوی ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت سابرو دکسترو براث استریل، وارد شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲±۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰-۸۵٪ در آون آنکوبه شده تا اسپورها فعال شوند. این محیط کشت فعال شده، به ۹۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت مایع اضافه و مخلوط شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت سه روز، قرار گرفت تا قارچ های آسپرژیلوس رشد کنند. تعداد قارچ‌هایی که در محیط کشت فعال شده در واحد میلی لیتر شمارش شد (۲×۱۰^{۷}CFU/ ml) و از محیط کشت فعال شده به نسبت ۰/۳٪با محلول سالین جهت تلقیح به بلغور ذرت ریز شده فاقد افلاتوکسین (شاهد اولیه) استفاده شد، بلغور ذرت تلقیح شده به مدت ۸ روز در

www.SID.ir

Archive of SID

گرمخانه ۲±۲۳ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۰-۸۵٪ قرار گرفت بدین وسیله قارچ ها رشد کرده و سموم قارچی تولید شد (Ribeiro *et al*., 2011).

- آماده سازی تیمارها و عملیات تیمار کردن آن‌ها با ازن

تعداد ۵ تیمار به صورت زیر تهیه گردید:

تیمار ۱: نمونه شاهد (T1)

تیمار ۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه (T2)

تیمار ۳: بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه (T3)

تیمار ۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه (T4)

تیمار ۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه (T5)

فرایند ازناسیون در محفظه شیشه ای که بدین منظور طراحی گردید و دارای ابعاد (۳۰×۳۰×۵۰) بود، انجام گردید. محفظه شیشه ای دارای یک صفحه مشبک بود که نمونه-های بلغور بر روی آن به صورت یک لایه نازک قرار گرفت و گاز ازن پس از تولید در ژنراتور با غلظت‌های ۷ و ۹ میلی گرم بر لیتر، وارد محفظه شیشه ای شد و از صفحه مشبک عبور و در نهایت از لوله خروجی محفظه خارج گردید (Rahimi, 2014).

- اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها

۵۰ گرم از هر تیمار با ترازویی به حساسیت ۰/۱ گرم در یک ارلن مایر در دار ۵۰۰ میلی لیتری وزن گردید. ۵ گرم کلرور سدیم و ۳۰۰ میلی لیتر مخلوط متانول- آب (نسبت ۸ حجم متانول ۲ حجم آب) به آن اضافه می‌شود. سپس ۱۰۰ میلی لیتر، هگزان به منظور حذف چربی داخل ارلن مایر ریخته می‌شود. محتویات ارلن به مخلوط‌کن با دور بالا منتقل و به مدت ۳ دقیقه مخلوط می گردد. عصاره استخراجی را از کاغذ صافی واتمن عبور داده و ۲۰ میلی لیتر از عصاره صاف شده با ۱۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و با کاغذ صافی سلولزی صاف گردید. سپس ۷۰ میلی لیتر از عصاره صاف شده با سرعت ۲ تا ۳ میلی‌لیتر در دقیقه بدون فشار خارجی از ستون ایمونوافینیتی عبور داده شد. ۱۵۰۰ میکرو لیتر متانول داخل ستون ریخته و در انتها محتویات داخل ویال با ۱۵۰۰ میکرولیتر آب HPLC مخلوط شد.

منحنی کالیبراسیون، به طوری که روی محور عرض ها تغییرات مربوط به غلظت سم استاندارد برحسب نانوگرم در میلی لیتر و روی محور طول‌ها تغییرات مربوط به سطح زیر منحنی و یا ارتفاع پیک باشد، رسم گردید.

میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره نمونه به دستگاه HPLC تزریق و پیک‌های حاصل را از نظر زمان بارداری با پیک‌های استاندارد مقایسه گردید و در نهایت نوع و میزان آلودگی با استفاده از منحنی کالیبراسیون محاسبه گردید (ISIRI, 2010).

میزان آفلاتوکسین‌ها با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

فرمول ۱:

$$Wsmp=\frac{signalsmp-b}{a}$$

که در آن Wsmp: میزان آلودگی نمونه برحسب نانوگرم که از نمودار کالیبراسیون به دست آمد.

Signal smp: سیگنال مربوط به آنالیت در نمونه (مساحت پیک آنالیت)

b: عرض از مبدأ منحنی کالیبراسیون

a: شیب منحنی کالیبراسیون

- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌ها در سه تکرار و در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 18 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن با سطح احتمال خطای ۵٪ انجام شد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2013 انجام پذیرفت.

یافته‌ها

- آفلاتوکسین B1 در تیمارهای مختلف ذرت

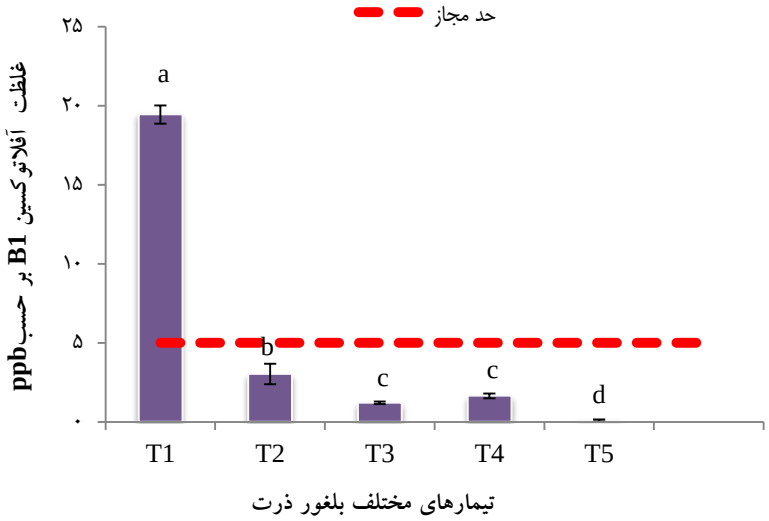
میانگین مقادیر آفلاتوکسینB_1 نمونه شاهد و نمونه-های تیمار شده با فرایند ازن، در نمودار ۱ داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری، بیشترین میزان آفلاتوکسین B_1 مربوط به نمونه شاهد بود (۱۹/۴۴ ppb) در تیمارها تحت تاثیر فرایند ازناسیون مقدار آفلاتوکسینB_1 به طور

www.SID.ir

Archive of SID

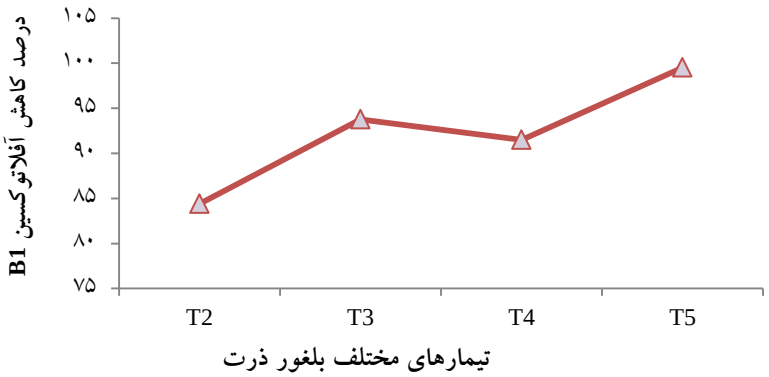
معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$) مقادیر آفلاتوکسین B_1 تحت تاثیر غلظت ازن و همچنین زمان در معرض قرار گری ازن بود، به طوریکه با افزایش غلظت و زمان مقادیر آفلاتوکسین B_1 به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P\leq۰/۰۵$). کمترین مقادیر آفلاتوکسین B_1 در تیمار T5 مشاهده شد (۰/۰۹ ppb). همچنین مقادیر آفلاتوکسین B_1 در تیمارهای T3 و T4 اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند ($P\geq۰/۰۵$). (به ترتیب ۱/۲۱ ppb، ۱/۶۵). میزان حد مجاز آفلاتوکسین B_1 در استاندارد ملی ایران (۵ ppb) (ISIRI, 2010) می‌باشد. که بر این اساس (نمودار ۱) تنها T1 در محدوده مجاز استاندارد نمی باشد. مطابق نمودار ۱ تمامی تیمارهایی که در معرض ازن قرار گرفته‌اند مقادیر آفلاتوکسین B_1 کمتر از ۵ ppb را دارا می‌باشند.

درصد کاهش مقادیر آفلاتوکسینB_1 در تیمارهای قرار گرفته در معرض ازن نسبت به تیمار شاهد، در نمودار ۲ نشان داده شده است. درصد کاهش برای تیمار T2 برابر با ۸۴/۴۱ درصد، تیمار T3 برابر با ۹۳/۷۷ درصد، T4 برابر با ۹۱/۵۱ درصد و تیمار T5 برابر با ۹۹/۵۳ درصد بوده است.



نمودار ۱- مقایسه میانگین آفلاتوکسین B1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت

{T1 (نمونه شاهد)، T2 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه)، T3 (بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)، T4 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه) T5 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)}



نمودار ۲- مقادیر کاهش آفلاتوکسین B1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت نسبت به تیمار شاهد

{T2 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه)، T3 (بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)، T4 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه) T5 (بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)}

www.SID.ir

Archive of SID

- سایر آفلاتوکسین‌ها در تیمارهای مختلف ذرت

میانگین مقادیر آفلاتوکسین B_2، G_1 و G_2، نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با فرایند ازن، به ترتیب در جدول‌ها و نمودارهای ۱، ۲و ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری، بیشترین میزان آفلاتوکسین در تمامی موارد مربوط به نمونه شاهد بود، تحت تاثیر فرایند ازناسیون مقادیر آن‌ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵). مقادیر آفلاتوکسین در اکثر موارد تحت تاثیر غلظت ازن و همچنین زمان در معرض قرار گیری ازن بود، به طوریکه با افزایش غلظت و زمان مقادیر آفلاتوکسین به‌طور معنی-داری کاهش یافت ($P\leq$۰/۰۵) در تیمار T5 هیچ یک از آفلاتوکسین‌های مذکور وجود نداشت. در مجموع با وجودی که سایر آفلاتوکسین تحت تأثیر ازن قرار گرفته اند اما، کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تاثیر از روند منظمی پیروی نمی کرد.

بحث

غلات و دانه‌های روغنی با درصد کربوهیدارت و چربی بالا از مستعدترین محصولات برای آلودگی و بعنوان مناسب‌ترین بستر طبیعی برای قارچ‌های آفلاتوکسین‌زا در جهان شناخته شده‌اند (Tavakolipour *et al.*, 2012). آفلاتوکسین یک ترکیب شیمیایی بسیار پایدار است که حتی در دمای بالا هم تغییر چندانی نمی‌کند. مقاومت این، سم در مقابل گرما به عوامل دیگری از جمله میزان رطوبت، pH

جدول ۱- مقایسه میانگین آفلاتوکسین B_2 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت

تیمار	علامت اختصاری	میانگین (ppb)
۱: نمونه شاهد	T1	۰/۹±۰/۰۰۷[a]
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	۰/۵±۰/۰۲[c]
۳: بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	۰/۳±۰/۰۲[d]
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	۰/۷±۰/۰۲[b]
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	۰/۰±۰/۰[e]

۱) همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند ($p<0.05$)

جدول ۲- مقایسه میانگین آفلاتوکسین G_1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت

تیمار	علامت اختصاری	میانگین (ppb)
۱: نمونه شاهد	T1	۳/۰±۰/۰۰۷[a]
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	۲/۰±۰/۰۳[b]
۳: بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	۱/۳±۰/۰۴[d]
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	۱/۷۸±۰/۰۳[c]
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	۰/۰±۰/۰[e]

۱) همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند ($p<0.05$)

جدول ۳- مقایسه میانگین آفلاتوکسین G_2 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت

تیمار	علامت اختصاری	میانگین (ppb)
۱: نمونه شاهد	T1	۱/۵۰±۰/۰۱[a]
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	۰/۰±۰/۰[b]
۳: بلغور ازناسیون شده باغلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	۰/۰±۰/۰[b]
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	۰/۰±۰/۰[b]
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	۰/۰±۰/۰[b]

۱) همه اعداد بر حسب میانگین ± انحراف از معیار بیان شده اند

۲) اعداد در یک ستون با حروف متفاوت اختلاف معنی دار دارند ($p<0.05$)

www.SID.ir

Archive of SID

بستگی دارد اما به هرحال پختن وگرم کردن شیوه قابل اطمینانی برای ازبین بردن این سم نیست. امروزه در پی افزایش مقاومت میکروبی و هزینه های سنگین درمان بیماری همراه با فشار مصرف کنندگان به تولید فرآورده‌های عاری از دارو و محدودیت استفاده از این فرآورده‌ها در بسیاری از کشورها محققین بدنبال ترکیباتی هستند که بتوان از آن‌ها در کاهش تولید آفلاتوکسین استفاده کرد. برای جلوگیری از رشد قارچ و تولید سم روش‌های مختلفی ارائه شده است. ازن فرم سه اتمی اکسیژن می‌باشد، قوی‌ترین اکسید کننده و ضدعفونی کننده تجاری موجود است که بعد از تأثیر گذاری هیچ باقیمانده‌ای از خود بر جای نگذاشته و به سرعت به اکسیژن دواتمی تبدیل می‌شود. گاز ازن پس از تأثیر بر روی ماده غذایی از بین رفته و هیچ تأثیر منفی بر روی انسان و محیطزیست ندارد (De Alencar *et al.*, 2012). بنابراین در این مطالعه به بررسی روش های ازناسیون در میزان آفلاتوکسین B_1 در بلغور ذرت پرداخته شده است.

نتایج مربوط به مقادیر آفلاتوکسین B_1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت نشان داد، که ازن تاثیر معنی‌داری بر میزان آفلانوکسین داشت به طوریکه افزایش غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن تاثیر مستقیم بر کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 داشت. این کاهش مربوط به خاصیت اکسیدکنندگی گاز ازن می‌باشد که بر روی پیوند دو گانه ۹=۸ حلقه فوران تاثیر گذاشته و قادر است در مدت زمان کمی آفلاتوکسین را به طور کامل تجزیه کند. همچنین در غلظت بالاتر و زمان‌های بالاتر، عامل اکسید کننده بیشتری در محیط وجود دارد و زمان بیشتری نیز فراهم می باشد، بنابر این امکان واکنش با عوامل اکسید شونده (پیوندهای دو گانه آفلاتوکسین) افزایش می‌یابد (Bashiri, 2011). Luo و همکاران (۲۰۱۴a) به بررسی تاثیر ازن بر روی آفلاتوکسین ذرت پرداختند. آنها نیز اعلام با افزایش غلظت ازن و زمان غوطه‌وری در ازن، تخریب آفلاتوکسین افزایش یافت. که نتایج آنها با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. همچنین Akbas و Ozdemir (۲۰۰۶) در ارتباط با اثر غلظت‌های متفاوت ازن گازی و زمان در معرض قرار گیری را بر روی تخریب آفلاتوکسین مغز پسته، De Alencar و همکاران (۲۰۱۲) در ارتباط با اثر غلظت های متفاوت ازن گازی و زمان در معرض قرارگیری برای سم زدایی بادام زمینی و Inan و همکاران (۲۰۰۷) در ارتباط با اثر غلظت‌های متفاوت ازن گازی و زمان در معرض قرارگیری بر سم‌زدایی بر فلفل قرمز خرد شده، Rahimi (۲۰۱۴) در ارتباط با تاثیر دو فرایند ازناسیون بر روی آفلاتوسین B_1 پسته نتایج مشابهی اعلام نمودند.

در صد کاهش آفلاتوکسین B_1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت مابین ۸۴/۴۱ تا ۹۹/۵۳ درصد بوده است.

مقدار آفلاتوکسین B_1 در کل نمونه‌های بلغور ذرت که تحت تأثیر فرایند ازناسیون قرار گرفتند کمتر از میزان حد مجاز آن در استاندارد ملی ایران (۵ ppb) بوده است (ISIRI, 2011).

Li و همکاران (۲۰۱۹) نیز اعلام نمودند هنگامی که بادام زمینی ها در معرض گاز ازون با غلظت‌های ۵ میلی‌گرم/ لیتر و زمان ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. مقادیر آفلاتوکسین B1 کمتر از حد مجاز بوده است.

Rahimi (۲۰۱۴) نیز اعلام نمودند هنگامی که پسته‌ها در معرض ازن زنی با دز ۷ میلی‌گرم بر لیتر و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتند. مقادیر آفلاتوکسین B1 کمتر از حد مجاز بوده است.

در بررسی حاضر تاثیر ازن بر روی سایر آفلاتوکسین‌ها نیز بررسی شد با وجودی که سایر آفلاتوکسین تحت تأثیر ازن قرار گرفته‌اند که به دلیل عدم وجود پیوند دوگانه در حلقه فوران، کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تاثیر از روند منظمی پیروی نمی‌کرد. بنابر این در این مطالعه تنها تاثیر گاز ازن بر آفلاتوکسین B_1 گزارش شده است، در برخی از مطالعات نیز، حتی در صورت استفاده از آفلاتوکسین‌های B_2 و G_2 و G_1 از ذکر نتیجه در مورد آن‌ها پرهیز شده زیرا همانند مطالعه حاضر تاثیرپذیری آنها نسبت به عوامل اکسید کننده، از روند منظمی پیروی ننمود (De Alencar *et al.*, 2012; Inan *et al.*, 2007).

نتیجه‌گیری

تا بحال مطالعه ای در ارتباط با تاثیر گاز ازن بر بلغور ذرت در ایران انجام نشده و اخیرا بحث آلودگی ذرت مطرح است، بنابراین در مطالعه حاضر به بررسی تاثیر گاز ازن بر تخریب افلاتوکسین B_1 بلغور ذرت پرداخته شد تا اینکه بتوان محصولی سالم را بدست مصرف کنندگان رساند. تیمارهای مورد مطالعه شامل تیمار شاهد و بلغورهای ذرت تحت غلظت-های ۷ و ۹ میلی‌گرم بر لیتر گاز ازن و مدت زمان (۱۲۰ و

www.SID.ir

Archive of SID

۱۸۰ دقیقه) بوده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمامی تیمارها تحت تأثیر ازناسیون می‌باشند، بطوری که میزان افلاتوکسین B_1 بلغور در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بوده است در صد کاهش آفلاتوکسین B_1 در تیمارهای مختلف بلغور ذرت مابین ۸۴/۴۱ تا ۹۹/۵۳ درصد بوده است و مقادیر آفلاتوکسین B_1 در تمامی آنها از حد مجاز کمتر بوده است. همچنین کاهش آفلاتوکسین تحت تاثیر غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن بود به طوریکه افزایش غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن تاثیر مستقیم بر کاهش میزان آفلاتوکسین B_1 داشت و کمترین مقادیر در تیمار T5 مشاهده شد. با توجه به نتایج مطالعه حاضر که تمامی تیمارها (به جز تیمار شاهد) از محدوده مجاز استاندارد برخوردار بود، با در نظر گرفتن صرفه در زمان و هزینه، تیمار ازناسیون با غلظت ۷ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه، به منظور افزایش کیفیت ذرت توصیه می‌شود.

منابع

Anon. (2011). Human and Animal Feed - Measurement of group B and G aflatoxins by high-efficiency liquid chromatography and immunoafinite purification. Publications of Iran Institute of Standards and Industrial Research, Standard No. 6872.

Bashiri, P. (2011). Investigate the reduction of pistachio aflatoxin using ozone. PhD Thesis in Food Science and Technology. Mashhad Ferdowsi University [In persian].

Cullen, P., Tiwari, B., O'Donnell, C. & Muthukumarappan K. (2009). Modelling approaches to ozone processing of liquid foods. Trends in Food Science & Technology, 20(3-4),125-36.

De Alencar, E. R., Faroni, L. R. D., Soares, N. D. F., da Silva, W. A. & Carvalho, M. C. D. (2012). Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92, 899-905.

Farzaneh, M., Shi, Z. Q., Ghassempour, A., Sedaghat, N., Ahmadzadeh, M. & Mirabolfathy, M. (2012). Aflatoxin B1 degradation by Bacillus subtilis UTBSP1 isolated from pistachio nuts of Iran. Food Control, 23, 100-106.

Haggani, S. (2011). Corn Guide. Internal Journal of Technical Unit of Hazara III Agricultural Development Company, No. 12 [In persian].

Inan, F., Pala, M. & Doymaz, I. (2007). Use of ozone in detoxification of aflatoxin B1 in red pepper. Journal of Stored Products Research, 43(4), 425-429.

Li, H., Xiong, Z. & Gui D. (2019). Effect of ozonation and UV irradiation on aflatoxin degradation of peanuts. Journal of Food Processing and Preservation, 43(4), 13914.

Luo, X. H., Wang, R., Wang, L., Yongfu, L., Bian, Y& Chen, Z. X. (2014a). Effect of ozone treatment on aflatoxin B1 and safety evaluation of ozonized corn. Food Control, 37, 171-176.

Luo, X. H., Wang, R., Wang, L., Yongfu, L., Wang, Y. & Chen, Z. X. (2014b). Detoxification of aflatoxin in corn flour by ozone. Journal of the Science of Food and Agriculture, 94 (11), 2253-2258.

Magnoli, A. P., Tallone, L., Rosa, C. A. R., Dalcero, A. M., Chlacchiera, S. M. & Sanchez, R. M. T. (2008). Commercial bentonites as detoxifier of broiler feed contaminated with aflatoxin. Applied Clay Science, 40, 63-71.

McDonough, M. X., Campabadal, C. A., Mason, L. J., Maier, D. E., Denvir, A. & Woloshuk, C. (2011). Ozone application in a modified screw conveyor to treat grain for insect pests, fungal contaminants, and mycotoxins. Journal of Stored Products Research, 47, 249-254.

Mirhadi, M. (2001) Corn. Tehran, Agricultural Research and Training Organization [In persian].

Mirabalftahi. M, Karami. R, chit maker. M. (2018). The plan is to use ozone gas to reduce the contamination of pistachios with aflatoxins and fungi that produce them. Agricultural Research, Training and Promotion Organization [In persian].

Mirbagheri, W., Baradaran Nasiri, M., Emami, J. & Hosseini Sabet, M. (2016). Production and trade of basic agricultural products in the period of 1380-1395. Deputy of Infrastructure and Production Research. 15201.

Moosavian, M., Darvishnia. M. & Khosravinia, H. A. (2016). Comparison of Growth of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in Different Conditions of Temperature, Moisture and pH. Journal of Applied researches in Plant Protection. 6 (2), 37-47 [In persian].

Rahimi, M. (2014). Investigating the effect of two processes of roasting and ozonation on the amount of pistachio aflatoxin. Master Thesis in Food Industry. Islamic Azad University, Quds City Branch [In persian].

Ribeiro, J., Cavaglieri, L., Vital, H., Cristofolini, A., Merkis, C., Astoreca, A., Orlando, J., Carú, M., Dalcero, A. & Rosa CAR. (2011). Effect of gamma radiation on *Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus* ultrastructure and mycotoxin production. Radiation Physics and Chemistry, 80, 658–663.

Saalia, F. K. & Phillips, R. D. (2010). Degradation of aflatoxins in aqueous buffer in the presence of nucleophiles. Food Control, 21, 1066-1069.

Tavakolipour, H ., Javanmard, M. & Zirjany, L. (2012). Antiaflatoxigenic activity of pistachio kernel coated by whey protein based edible film incorporated with zataria multiflura essential oil. JFST, 36 (9), 11-19 [In persian].

Wu, Q., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V. & Kuca, K. (2009). Biological degradation of aflatoxins. Drug Metabolism Reviews, 41, 1-7.

www.SID.ir

Archive of SID

The Effect of Ozone Gas on Reducing of Aflatoxin B_1 in Bulgur of Dent Corn (*Zea mays* var. indentata)

N. Farhadieh [a], O. Eyvazzadeh [b *], B. Ghiassi Tarzi [c]

[a] M.Sc. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Assistant Professor of the Department of Food Science, Collage of Agriculture, Varamin−Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran.

[c] Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 8 December 2019 Accepted: 2 June 2020

Abstract

Introduction: Aflatoxins are the secondary toxic metabolites of some fungi. Aflatoxins, especially aflatoxin B_1, are highly toxic and may cause serious risks to human and animal health. In this study, the effects of ozonation processes on aflatoxin content of corn bulgur were investigated.

Materials and Methods: In this investigation, corn bulgur was inoculated with *Aspergillus flavus* (2×10^7 CFU/ ml), was subjected to ozonation process at the concentrations of 7 and 9 mg/ L for 120 and 180 minutes. The effect of ozonation process on aflatoxins B_1 values was investigated. HPLC apparatus was employed as a mean to determines aflatoxin qualitatively and quantity.

Results: The results showed that the ozonation process reduced aflatoxins B_1, and in all treatments (except control) was lower than the permissible limit defined by the national standard of Iran (5 ppb). Decrease of aflatoxin was influenced by the concentration and time of exposure to ozone, and the lowest level of aflatoxin B_1 observed in ozonated corn bulgur at the concentration of 9 mg/ L for 180 minutes ($P<0.05$). In relation to other aflatoxins (B2, G1 and G2), ozonation reduced the concentration significantly quall the highest concentration was detected in control ($P <0.05$). Overall, although other aflatoxins were affected by ozone, their depletion was modest, and this effect did not follow a regular pattern.

Conclusion: According to the results, ozonation an effective, fast, and safe method to reduce aflatoxin B_1 in corn bulgur.

Keywords: *Aflatoxins B_1, Corn Bulgur, Ozone, Toxicity.*

* Corresponding Author: orang_eyvazzadeh@yahoo.com

www.SID.ir