تعیین باقی مانده هیدروژن پراکساید در نمونه شیرهای فرا دما در بازار شهر اصفهان

محمد باقر ملجایی[1]، آذین پور خلیلی[2]، مریم میرلوحی[3]*

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد علوم بهداشتی در تغذیه، مرکز تحقیقات امنیت غذایی و گروه تغذیه جامعه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲. دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات امنیت غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

***نویسنده مسئول:** M_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲ تاریخ پذیرش:۱۳۹۴/۹/۱۹

چکیده

هیدروژن پراکساید در سترون سازی سطوح در تماس با غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد و در صنعت شیر، باقی مانده آن موجود گسترش فرایند اکسایشی در شیر می‌شود. تا کنون گزارشی از بررسی میزان آلودگی مواد غذایی با این ماده در ایران مشاهده نشده است، هدف از این مطالعه، بررسی توزیع فراوانی آن در نمونه‌های شیر فرا دما توزیع شده در شهر اصفهان در سال ۹۲ می‌باشد. تعداد ۲۰ نمونه شیر فرا دما بسته شده در بسته‌های تترا پک با حجم ۲۵۰ میلی لیتر از ۷ شرکت تولید کننده صنعتی از سطح شهر جمع‌آوری شد. برای اندازه‌گیری میزان هیدروژن پر اکسید در نمونه‌های شیر روش رنگ سنجی بر مبنای واکنش آنزیم کاتالاز و اندازه‌گیری جذب نوری در ۴۰۰ نانومتر اعمال گردید. بقایای هیدروژن پر اکسید در کلیه نمونه‌های مورد مطالعه مشاهده شد. بقایای به هیدروژن پر اکسید در ۱۵ نمونه(۷۵٪) بالاتر از بیشنیه رواداری این ماده (۰/۵ppm) تعیین شده توسط سازمان‌های بین المللی بود. بر همین اساس، نتایج آزمونt تک نمونه‌ای نشان داد، میانگین غلظت تعیین شده هیدروژن پر اکسید در نمونه‌های شیر بالاتر از حدود استاندارد مذکور می‌باشد. با توجه به بقایای نمونه‌های شیر استریل در این مطالعه و خلاء قوانین کنترل این ماده در آزمایشات کنترل کیفیت در کشور ما تدوین استاندارد مربوطه و معرفی روشی با حساسیت بالا به این منظور می‌تواند در افزایش کیفیت محصولات و سلامت مصرف کنندگان موثر باشد.

واژگان کلیدی: هیدروژن پر اکسید، آلودگی، شیر فرا دما، ایران

مقدمه

هیدروژن پراکساید (Hydrogen Peroxide) با فرمول شیمیایی H_2O_2 به عنوان یک افزودنی رایج در بسیاری از شاخه‌های علوم از قبیل صنایع غذایی، علوم دارویی، دندانپزشکی، محیط زیست و شناخته شده است (Demirkol, Cagri-Mehmetoglu et al, 2008). .در صنایع غذایی کاربردهای شناخته شده صنعتی هیدروژن پراکسید شامل استرلیزاسیون تجهیزات و وسایل مربوط به حمل و نقل، مخلوط کننده‌ها، انبارها و بسته بندی مواد غذایی می‌باشد(Hsu, Chang et al, 2008). استفاده از این ماده به عنوان افزودنی غذایی اگرچه در بسیاری از نقاط جهان غیر قانونی است، اما در برخی کشورهای اروپایی، کاربرد قانونمند آن برای حفاظت شیر خام در برابر باکتری‌ها پذیرفته شده است (Asse, 2007).

کاهش جمعیت اولیه باکتری در شیر خام بخصوص حفاظت شیر از باکتری مسمومیت زای استافیلوکوکوس اورئوس از اولین نتایج افزودن هیدروژن پراکسید به شیر خام می‌باشد. براساس مطالعات بین المللی، این عامل باعث شده است تا در سال‌های اخیر تمایل به استفاده از هیدرژن در فراورده‌های صنعتی شیر مخصوصا در شیر مورد استفاده در پنیر سازی که قابلیت انتقال استافیلوکوکوس اورئوس از طریق آن بالاست افزایش یابد (Asse, 2007).

علاوه بر اثر حفاظت میکروبی، تغییرات شیمیایی مخرب که موجب کاهش کیفیت تغذیه‌ای شیر می‌گردد نیر به مصرف هیدروزن پر اکسید نسبت داده شده است. یکی از این تغییرات، تخریب فولیک اسید می‌باشد(Haddadin, Ibrahim et al, 1996) علاوه بر این عوارض نامطلوب دریافت خوراکی هیدروژن پراکسید بر سلامت انسان نیز از جمله مضرات استفاده از آن به عنوان افزودنی غذایی شناخته شده است. از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به آسیب‌های پوستی و برخی سرطان‌ها اشاره کرد(Toyoda, Ito et al, 1982 ,Chen, Yu et al, 2007. Wei and Guo, 2007.)

با توجه به اهمیت تشخیص H_2O_2، همواره یافتن روش‌های تشخیص کمی و کیفی بسیار مورد توجه بوده است. از جمله روش‌های ابتدایی معرفی شده برای تشخیص باقی مانده H_2O_2 در شیر، استفاده از قابلیت اکسایش آن، احیاء ید و واکنش با نشاسته توسط *Subramanian* و *Olson* می‌باشد. حداقل مقدار H_2O_2 که می‌توان با این روش اندازه‌گیری ۱۰ µg/mlمی‌باشد (Subramanian and Olson, 1968). علاوه بر این روش، روش‌های دیگری مورد بررسی قرار گرفته‌اند اما هیچکدام قادر به تشخیص مقادیر کمتر از ۱۰ µg/mlنبوده اند؛ همچنین برخی روش‌ها نیز علاوه بر حساسیت کم، دارای ضریب خطای بالا و یا عدم ثبات بوده‌اند (Subramanian and Olson, 1968).

پس از آن، روشی تحت عنوان روش *Arnold-Mantzel* مورد بررسی قرارگرفت. در این روش از شاخص حساس وانادیک اسید استفاده شد که قادر بود مقادیر اندک H_2O_2 در حد ppm۸۰ را در شیر تشخیص دهد(Akhtar and Husain, 2006). روش دیگری براساس جذب نوری توسط Amin و Olson مورد بررسی قرار گرفت که در آن از تیتانیم تتراکلراید به عنوان معرف استفاده شد. این روش قادر بود مقادیر H_2O_2 در محدوده ۳۳-۵۵۰ µg/ml را شناسایی کند(Amin and Olson, 1967). برخی دیگر از محققان استفاده از آنزیم پراکسیداز و قابلیت اکسایشی هیدروژن پراکسید را در اندازه‌گیری دقیق آن موثر دانستند. در این گروه از واکنش‌ها، از معرف‌هایی استفاده می‌شود که واجد لیگاندهای دهنده هیدروژن می‌باشند و در واکنش با هیدرژن پراکسید، اکسیده شده و جذب نوری متفاوتی نشان می‌دهند. در چنین روش‌هایی ماهیت کیفی روش‌های به اندازه‌گیری کمیت تغییر یافته و اندازه‌گیری باقیمانده هیدروژن پراکسید با حساسیت قابل قبولی امکان پذیر است. (Gilliland, Luck, 1956 1969).

لازم به ذکر است که برخی روش‌های کنترل کیفی H_2O_2 نیز در سیستم‌های استاندارد تعریف شده است که از مهمترین آن‌ها اندازه‌گیری گایاکل اشباع و روش *SodiumOrthovanadate* می‌باشد اما به ندرت در کارخانجات استفاده می‌گردد (فرخنده ۱۳۷۳).

هدف از این مطالعه، اندازه‌گیری H_2O_2 و بررسی توزیع فراوانی آن در نمونه‌های شیر فرا دما توزیع شده در شهر اصفهان در سال ۹۲ می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری به صورت کاملا تصادفی از ۵ مرکز عرضه کننده شیر در شهر اصفهان از اواخر پاییز ۱۳۹۱ تا اوایل بهار ۱۳۹۲ انجام شد. کلیه نمونه‌ها نمونه‌های شیر ساده با حجم ۲۵۰

میلی لیتر بود و کمتر از ۱ ماه از تاریخ تولید، مورد آزمایش قرار گرفتند. جدول ۱، فراوانی نمونه و نام شرکت‌های تولید کننده شیرهای مورد استفاده در این مطالعه را نشان می‌دهد.

جدول ۱: فراوانی نمونه و شرکت‌های تولید کننده شیرهای مورد استفاده در این مطالعه

شرکت تولید کننده	فراوانی نمونه
پگاه	۵
میهن	۵
مکث	۳
کاله	۴
چوپان	۱
دامداران	۱
آلیش	۱

نمونه‌های شیر صنعتی بسته بندی شده در شرایط سترون به محل آزمایشگاه منتقل شده و پس از نمونه گیری در شرایط استریل، باقی مانده نمونه‌ها دور ریخته شد.

روش انجام این مطالعه، روش آنزیمی اندازه‌گیری هیدروژن هیدروژن پراکساید بر گرفته از روش Gilliland می‌باشد. در این روش، ابتدا نمونه‌های شیر ساعتی در دمای معمول اتاق قرار گرفت. سپس مقدار ۱۰ میلی لیتر از نمونه در لوله آزمایش ریخته شد و اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال به صورت قطره قطره، به آن افزوده شد تا pH نمونه به ۴/۵ برسد. سپس مقدار ۲ میلی لیتر بافر استات ۰/۱ مولار اضافه شد و با اضافه کردن آب مقطر، حجم نمونه به ۲۰ میلی لیتر رسید. نمونه بدست آمده از کاغذ صافی عبور داده شد تا نمونه صاف شده استخراج گردد. در ادامه دو لوله آزمایش مهیا کرده و در هر کدام از لوله‌ها، مقدار ۲/۵ میلی لیتر از نمونه استخراج شده و پس از آن ۰/۱میلی لیتر محلول رنگزا اضافه گردید. در مرحله بعدی در یکی از لوله‌ها مقدار ۱ میلی لیتر آب مقطر و در لوله دیگر، بجای آب مقطر، ۱ میلی لیتر آنزیم کاتالاز اضافه شد. سپس هر دو لوله به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفت. در این حالت، در لوله‌ای که آنزیم کاتالاز وارد شده است، این آنزیم در صورت وجود هیدروژن پراکساید با آن واکنش می‌دهد و موجب افزایش رنگ نمونه می‌شود. در پایان به هر دو نمونه مقدار ۰/۲ میلی لیتر محلول اسیدکلریدریک ۴ نرمال وارد کرده و پس از مخلوط کردن نمونه‌ها، مقدار جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۴۰۰ نانومتر بررسی شد.(Gilliland, 1969).

معتبر سازی روش

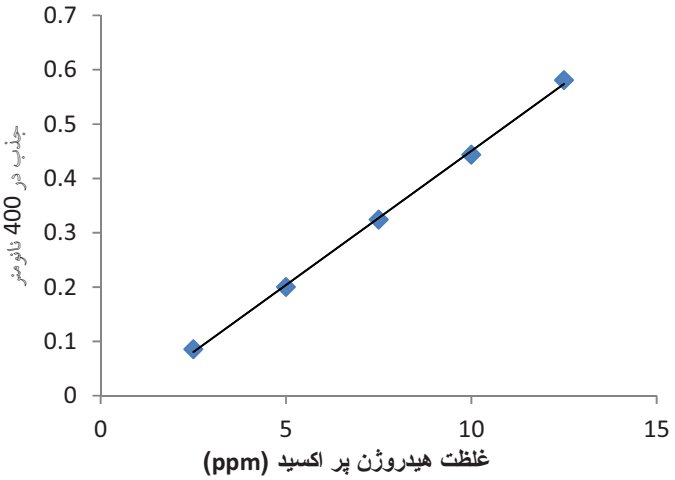
تهیه منحنی استاندارد

آماده سازی استاندارد:

استانداردها شامل غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر هیدروژن پراکساید در بافر ۰/۱ مولار استات (pH=۴/۵) آماده شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از هر استاندارد با ۱۰ میلی‌لیتر بافر در لوله جداگانه رقیق سازی شد. سپس از هریک از استانداردهای رقیق شده، ۵ میلی لیتر به ۵ لوله که حاوی ۱ میلی لیتر پراکسیداز ppm۰/۱ و ۰/۱ میلی لیتر محلول دیازینیداز بود افزوده شد.

محتویات هر کدام از ۵ لوله که شامل ۵ میلی لیتر بافر استات دارای غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ میکروگرم در میلی لیتر هیدروژن پراکساید، ۱ میلی لیتر پراکسیدار و ۰/۱ میلی لیتر

دیازینیداز بود بخوبی مخلوط گشت و به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۲۳-۲۶ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری شد. پس از ۱۰ دقیقه، جهت ثبات رنگ محلول، به هر کدام از لوله‌ها ۰/۲ میلی لیتر اسید کلریدریک ۴ نرمال اضافه گشت.پس از ۵ دقیقه، جذب نوری هر کدام از لوله‌ها در ۴۰۰ نانومتر خوانده و منحنی استاندارد بصورت جذب نوری براساس غلظت هیدروژن پرکساید رسم شد. نمودار ۱، منحنی استاندارد رسم شده می‌باشد.



نمودار ۱، منحنی استاندارد؛ جذب نوری غلظت‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ppm هیدروژن پراکسید در ۴۰۰ نانومتر

براساس این نمودار، ضریب r^2 معادل۰/۹۹ و حداکثر ضریب CV در دو تکرار اندازه گیری نمونه‌های استاندارد معادل ۳/۴ ٪ نشان دهنده شرایط مناسب تهیه منحنی استاندارد از نظر تکرار پذیری منحنی استاندارد بود.

همچنین معادله $y = 0.049 x - 0.042$ به خوبی با ضریب همبستگی $r^2=0.999$ رابطه غلظت هیدروژن پر اکسید را براساس تغییرات جذب نور توجیه می‌نماید.

روش تجزیه و تحلیل نتایج

در تحلیل نتایج از آزمون‌های توصیفی و شاخص‌های پراکندگی با محدود اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. علاوه بر این آزمون t تک نمونه‌ایی برای مقایسه نتایج بدست آمده با مقدار استاندارد ذکر شده توسط سازمان‌های بین المللی مورد استفاده قرار گرفت.

آنچه سازمان غذا و داروی آمریکا به عنوان حداکثر میزان مجاز هیدروژن پراکساید باقی مانده اعلام کرده است ۰/۵ ppm می‌باشد(Özkan, Kırca et al, 2004)

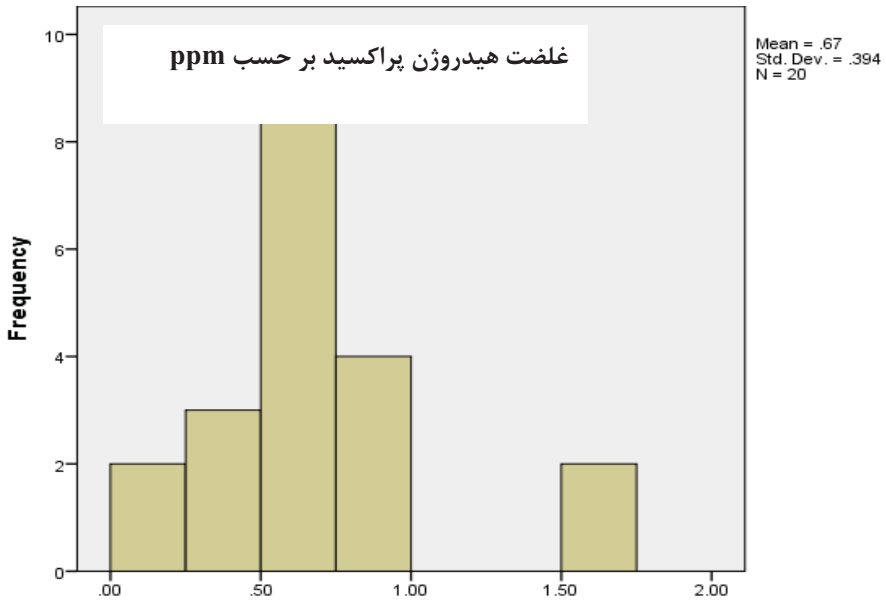
نتایج

در جدول ۲، توزیع چارک‌های غلظت هیدروژن پر اکسید (ppm) در نمونه‌های مورد آزمایش نشان داده شده است. علاوه بر این میانگین غلظت هیدروژن پراکساید در کلیه نمونه‌ها ۰/۶۶ppm با انحراف استاندارد ۰/۳۹ بدست آمد. مقایسه میانگین بدست آمده با میزان استاناداد تعیین شده توسط سازمان غذا و داروی امریکا با استفاده از ازمون t تک نمونه‌ای، با فرض برابر بودن میانگین هیدروژن پراکساید نمونه‌ها با مقدار استاندارد نشانگر عدم برابری بود ($p>0.05$).همچنین

تنها ۲۵ درصد ازکل نمونه‌ها کمتر از حد استاندرد و ۷۵ درصد از آنها بالاتر حدود استاندارد حاوی هیدروژن پر اکساید بودند. براساس نتایج ارائه شده در جدول ۲ و نمودار ۲ که توزیع فراوانی غلظت هیدروژن پراکسید را در نمونه‌ها نشان می‌دهد، کمترین و بیشترین آلودگی در محدوده ۰/۱۴ -۱/۶۲مشاهد شد. همچنین توزیع غلظت در نمونه‌های مورد بررسی نرمال بوده و میانه غلظت در صدک ۵۰ با میانگین نزدیکی زیادی نشان داد. علاوه براین مشاهده یک مورد (۵٪) تجاوز از حدود مجاز به میزان ۳ برابر از آن نتیجه قابل توجه در این مطالعه بود.

جدول ۱: توزیع فراوانی غلظت هیدرورن پراکسید(ppm) در نمونه‌های شیر فرا دما با قابلیت ماندگاری بالا

چارک نمونه‌های مورد بررسی	اول	دوم	سوم	چهارم
غلظت هیدروژن پر اکسید	۰/۱۴-۰/۳۹	۰/۳۹-۰/۶۰	۰/۶۰-۰/۸۰	۰/۸-۱/۶۲
تعداد نمونه	۵	۵	۵	۵



نمودار ۲- توزیع فراوانی هیدروژن پر اکسید در نمونه‌های مورد آزمایش

بحث

نتایج مطالعه حاضر با بررسی ۲۰ نمونه شیر استرلیزه صنعتی از شرکت‌های تولید محصولات لبنی مختلف نشان داد حدود ۷۵ درصد از نمونه‌های مورد بررسی، مقدار باقیمانده H_2O_2فراتر از حداکثر مجاز تعریف شده از سوی سازمان غذا و داروی آمریکا دارد؛ نکته قابل توجه این است که این مقدار در برخی از نمونه‌های مورد بررسی، بیش از سه برابر مقدار استاندارد بود .

H_2O_2 امروزه جزء مهم و غیر قابل انکاری در صنایع غذایی شده است بطوریکه کلیه فرایندهای مربوط به استرلیزاسیون غذا و تجهیزات، مخلوط کردن، حمل و نقل و بسته بندی با استفاده از H_2O_2 صورت می‌پذیرد. ماهیت اکساینده و سمی

این ترکیب باعث شده است تا همواره نگرانی خاصی از امکان باقی ماندن H_2O_2 بر روی سطح داخلی بسته بندی و نشت آن به مواد غذایی وجود داشته باشد. و روش‌های اندازه گیری مناسب و دقیق برای تعیین مقدار باقیمانده آن در مواد غذایی و همچنین حذف مقادیر باقیمانده از غذا مورد توجه محققین بوده است. (Hsu, Chang et al, 2008)

اگرچه در برخی موارد افزودن H_2O_2 به شیر خام باهدف افزایش ماندگاری و کاهش بار میکروبی آن مجاز شناخته شده، اما درصورت باقیماندن بقایای آن در شیر، نمی‌توان از اثرات منفی آن بر بر کیفیت شیر و سلامتی مصرف کننده چشم پوشی کرد؛ موضوعی که موجب برخی نگرانی‌ها در بین مصرف کننده‌ها شده است به همین دلیل وجود H_2O_2 در هر غلظتی در شیر، در برخی کشورها مانند برزیل، تقلب محسوب می‌شود(Andrigueto, 2002)

از سوی دیگر بررسی‌ها نشان می‌دهد آزمایشات معمول کنترل کیفیت جهت بررسی وجود H_2O_2 در تولیدات شیر استرلیزه در برخی از کشورها ازجمله ایران انجام نمی شود؛ علاوه بر این، تا کنون دستورالعملی برای اندازه گیری و تعیین مقدار مجاز این ماده در استانداردهای منتشره از سازمان تحقیقات و استاندارد صنعتی ایران (ISIRI) در شیر یا سایر محصولات لبنی تدوین نشده است.

مطالعه حاضر به عنوان اولین گزارش از بررسی باقیمانده H_2O_2 در نمونه‌های شیر استرلیزه در ایران می‌باشد که با استفاده از روش آنزیمی با حساسیت بالا انجام شده است(Luck, 1956)

روش آنزیمی اندازه گیری H_2O_2 به عنوان یکی از حساس‌ترین روش‌های کمی اندازه گیری H_2O_2 می‌باشد که در مقایسه با سایر روش‌های رایج، مقادیر ناچیز H_2O_2 را می‌توان با استفاده از این روش و جذب نوری نمونه ها تعیین کرد.

بررسی منابع نشان می‌دهد که مطالعات قبلی صورت گرفته در این زمینه معمولا براساس روش‌های کیفی بوده و یا روش‌های مورد استفاده به دلیل عدم حساسیت کافی به وجود غلظت‌های کم H_2O_2، قادر به تعیین مقادیر پایین آن در نمونه‌های شیر نبوده‌اند. به عنوان مثال، روش استفاده از وانادینیک اسید، که به عنوان روش کنترل کیفیت شیر برای بررسی وجود H_2O_2 در کشور هندوستان تعریف شده است، حساسیت کمی برای اندازه‌گیری این ماده در شیر دارد بطوریکه نمونه‌های آلوده به مقادیر کمتر از ppm۸۰ با استفاده از این روش قابل تشخیص نیستند (Umali-Deininger and Sur, 2007).

اگر چه تعدادی از مطالعات گذشته به بررسی و ارزیابی روش‌های مناسب برای اندازه‌گیری H2o2 ادر شیر پرداخته‌اند، مطالعات بسیار اندکی تقلب در شیر یا وجود H_2O_2 در نمونه‌های مختلف شیر را به عنوان هدف اصلی مورد مورد نظر قرار دادند.

یکی از مطالعات که اخیرا در بنگلادش با هدف بررسی تقلبات شیر و با بررسی نمونه‌های شیر خام انجام شده است، وجود H_2O_2 را در نمونه‌های مورد بررسی نشان نداده است؛ اگرچه روش اندازه‌گیری H_2O_2 همان روش استفاده از وانادینیک اسید است که حساسیت بسیار کمی به وجود هیدروژن پراکساید دارد(Bari, Hoque et al, 2015)

برخی روش‌های دیگر اندازه گیری H_2O_2 که از نظر حساسیت می‌تواند مورد توجه باشد، روش‌های فلورومتریک و آمپرومتریک می‌باشد(Abbas, Luo et al, 2010. Ping, Mao et al, 2010)

در روش فلورومتریک با استفاده از عوامل اکسیدان و تولید رادیکال هیدروکسیل که رابطه مستقیمی با مقدار H_2O_2 نمونه دارد، می‌توان مقادیر H_2O_2 در حدود 10^{-9} ۵ * مول در لیتر را اندازه گیری کند که بسیار قابل توجه است؛ با این حال این

روش بسیار پیچده بوده و بسیار زمان بر می‌باشد. (Abbas, Luo et al, 2010)

روش حساس دیگری که برای اندازه گیری H_2O_2 در نوشیدنی‌ها و مواد غذایی پیشنهاد شده است، روش آمپرومتریک می‌باشد که براساس الکترودهای تعبیه شده و واکنش الکتروکاتالیک این الکترودها در مجاورت H_2O_2 می‌تواند مقادیر اندک هیدروژن پراکساید را در حدود ۰/۸ میکرومول تا ۰/۱۲ میلی مول اندازه گیری کند. (Ping, Mao et al, 2010)

با این وجود، به نظر می‌رسد روش کنونی علاوه بر حساسیت مناسب، از نظر آماده‌سازی روش و انجام نسبتا مناسب بوده و می‌تواند روش مناسبی برای تشخیص کمی H_2O_2 با روش آنزیمی و استفاده از آنزیم کاتالاز باشد. بنابراین روش کنونی می‌تواند روش مناسبی برای کنترل کیفیت محصولات استرلیزه از جمله شیرهای صنعتی برای بررسی وجود هیدروژن پراکساید بوده و مورد توجه سازمان‌های استاندارد کشور قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

این نوشتار حاصل طرح تحقیقاتی کد ۲۹۴۰۹۷ مصوب مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد. نویسندگان لازم می‌دانند مراتب تشکر و قدردانی خود را از شورای پژوهشی مرکز تحقیقات امنیت غذایی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ابراز نمایند.

منابع

۱. فرخنده، عباس. (۱۳۷۳). روش‌های آزمایش شیر و فرآورده‌های آن، انتشارات دانشگاه تهران.

2. Abbas, ME., Luo, Wei., Zhu, Lihua., Zou, Jing., and Tang, Heqing. 2010. Fluorometric determination of hydrogen peroxide in milk by using a Fenton reaction system. *Food chemistry*. 120: 327-331.
3. Akhtar, S., and Husain, Q. 2006. Potential applications of immobilized bitter gourd (Momordica charantia) peroxidase in the removal of phenols from polluted water. *Chemosphere.* 65: 1228-1235.
4. Amin, V.M., and Olson, N.F. 1967. Spectrophotometric determination of hydrogen peroxide in milk. *Journal of Dairy Science.* 50:461-464.
5. Andrigueto, José Rozalvo. 2002. Marco legal da producao integrada de frutas do Brasil .
6. Asse, Union Risk. 2007. European Union Risk Assessment Report .
7. Bari, L., Hoque, MR., Reza, MSA., Hossain, MA., and Islam, A. 2015. Adulteration of Raw Milk in Selected
8. Regions of Tangail District of Bangladesh. *Journal of Environmental Science and Natural Resources*. 8:41-44.
9. Chen, H., Yu, H., Zhou, Y., and Wang, Lun. 2007. Fluorescent quenching method for determination of trace hydrogen peroxide in rain water. *Spectrochimica Acta part A: Molecular and biomolecular spectroscopy,* 67:683-686.
10. Demirkol, O., Cagri-Mehmetoglu, A., Qiang, Zh., Ercal, N., and Adams, Craig. 2008. Impact of food disinfection on beneficial biothiol contents in strawberry. *Journal of agricultural and food chemistry.* 56: 10414-10421.

11. Gilliland, S. 1969. Enzymatic Determination of Residual Hydrogen Peroxide in Milk 1, 2. Journal of Dairy Science. 52: 321-324.
12. Haddadin, MS., Ibrahim, SA., and Robinson, RK. 1996. Preservation of raw milk by activation of the natural lactoperoxidase systems. *Food Control.* 7: 149-152.
13. Hsu, Ch-L., Chang, Ku-Sh., and Kuo, Ju-Ch. 2008. Determination of hydrogen peroxide residues in aseptically packaged beverages using an amperometric sensor based on a palladium electrode. *Food Control.* 19: 223-230.
14. Luck, H. 1956. *The use of hydrogen peroxide as a dairy preservative.* Paper presented at the Dairy Sci. Abstr.
15. Özkan, M., Kırca, A., and Cemeroğlu, B. 2004. Effects of hydrogen peroxide on the stability of ascorbic acid during storage in various fruit juices. *Food chemistry.* 88: 591-597.
16. Ping, J., Mao, X., Fan, K., Li, D., Ru, Sh., Wu, J., and Ying, Y. 2010. A Prussian blue-based amperometric sensor for the determination of hydrogen peroxide residues in milk. *Ionics.* 16: 523-527.
17. Subramanian, CS., and Olson, NF. 1968. Effect of hydrogen peroxide on activity of lactic cultures in milk. *Journal of Dairy Science.* 51: 517-519.
18. Toyoda, M., Ito, Y., Iwaida, M., and Fujii, M. 1982. Rapid procedure for the determination of minute quantities of residual hydrogen peroxide in food by using a sensitive oxygen electrode. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*30: 346-349.
19. Umali-Deininger, D., and Sur, M. 2007. Food safety in a globalizing world: opportunities and challenges for India. *Agricultural Economics.* 37: 135-147.
20. Wei, Y., and Guo, M. 2007. Hydrogen peroxide triggered prochelator activation, subsequent metal chelation, and attenuation of the fenton reaction. *Angewandte Chemie International Edition,* 46 :4722-4725.

Determination of hydrogen peroxide residue in UHT milk samples distributed in Isfahan market

Mohammad Bagher Maljaie[1], Azin Pourkhalili[2], Maryam Mirlohi[3]

1- MSc student of health sciences in nutrition, Food Security Research Center, Isfahan University of Medical Sciences.

2- MSc in food science and technology, Islamic Azad University of Shahrekord.

3- Assistant professor in food science and technology, food security research center, Isfahan University of Medical Sciences.

***Corresponding author:** M_mirlohi@hlth.mui.ac.ir

Received: 10 December 2015 Accepted: 24 October 2015

Abstract

Hydrogen peroxide is commonly used as disinfectant for sterilization of food contact materials. In dairy industry, contamination of milk with H_2O_2 residue is likely due to its leakage from the disinfected surfaces resulting in development of oxidative spoilage of milk. Since no report has been documented on the prevalence of such contamination in food stuff in Iran, this study aimed to measure the prevalence of H_2O_2 in UHT milk samples, collected from Isfahan market in 2013. A total of 20 tetra-pack UHT milk samples from 7 different brand were randomly collected from the market. All the samples were 250ml in volume. In order to measure the H_2O_2 concentration a colorimetric method was adapted based on catalase reaction and measurement of light absorption at 400nm. H_2O_2 residue was detected in all tested samples ranging from 0.14-1.62 ppm. Fifteen samples (75%) contained H_2O_2 levels greater than its regulated level by international organization (0.5 ppm). Accordingly, the results of one-sample t-test showed that the average amount of detected H_2O_2 concentration in the tested sample is higher than the standard value. Regarding the H_2O_2 contamination in the tested milk samples revealed in this study and due to lack of any regulation limit for H_2O_2 in UHT milk in Iran, presentation and documentation of standards introducing reliable method for detection and monitoring of H_2O_2 in the UHT milk along with its limits is highly recommended.

Keywords: Hydrogen peroxide, Contamination, UHT milk.