

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

نوشین فرهادیه<sup>a</sup>، اورنگ عیوض زاده<sup>b\*</sup>، بابک غیائی طرزی<sup>c</sup>

<sup>a</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>b</sup> استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

<sup>c</sup> دانشیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۹/۰۳/۱۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۸/۰۸/۱۷

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20080123.1400.18.3.3.1>

۳۳

## چکیده

**مقدمه:** افلاتوکسین ها متابولیت های ثانویه برخی از قارچ ها می باشند. افلاتوکسین ها به ویژه افلاتوکسین B<sub>1</sub> 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 افلاتوکسین بلغور ذرت بررسی گردیده است.

**مواد و روش ها:** در فرایند ازناسیون، بلغور ذرت تلقیح شده با قارچ *آسپرژیلوس فلاووس* (۲×۱۰<sup>۷</sup>CFU/ml)، تحت تأثیر ازن با غلظت های ۷ و ۹ میلی گرم بر لیتر و مدت زمان های ۱۲۰ و ۱۸۰ دقیقه قرار گرفت و اثر فرایند ازناسیون بر روی مقادیر افلاتوکسین B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> مورد بررسی قرار گرفت. سنجش افلاتوکسین با استفاده از دستگاه HPLC انجام شد و میزان افلاتوکسین مورد مقایسه قرار گرفت.

**یافته ها:** نتایج نشان داد که فرایند ازناسیون به طور معنی داری، باعث کاهش میزان افلاتوکسین B<sub>1</sub>، گردید (P≤۰/۰۵) و در تمامی تیمارها (به جز تیمار شاهد آلوده شده) کمتر از میزان مجاز آن در استاندارد ملی ایران (۵ ppb) بوده است. کاهش افلاتوکسین تحت تأثیر غلظت و زمان در معرض قرارگیری ازن بود (P≤۰/۰۵) و کمترین مقادیر افلاتوکسین B<sub>1</sub> در بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه مشاهده شد (P≤۰/۰۵). در ارتباط با سایر افلاتوکسین ها (G<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، G<sub>2</sub>)، بیشترین میزان افلاتوکسین در تمامی موارد مربوط به نمونه شاهد بود، تحت تأثیر فرایند ازناسیون مقادیر آنها به طور معنی داری کاهش یافت (P≤۰/۰۵). در مجموع با وجودی که سایر افلاتوکسین ها تحت تأثیر ازن قرار گرفته اند اما کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تأثیر از روند منظمی پیروی نمی کرد.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج به نظر می رسد، ازناسیون روشی موثر، سریع و بی خطر برای کاهش افلاتوکسین ها به ویژه افلاتوکسین B<sub>1</sub> در بلغور ذرت می باشد.

**واژه های کلیدی:** افلاتوکسین B<sub>1</sub>، بلغور ذرت، سمیت، گاز ازن

## 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 آمینه‌های ضروری لیزین و تریپتوفان است. اهمیت اقتصادی ذرت که کشت آن از دیر باز رواج داشته است به دلیل استفاده کلیه قسمت‌های 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 دام‌ها 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 در کشور 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 ۱/۰۶ میلیون 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 می‌باشد.

غلات، (از جمله ذرت) مستعدترین محصولات برای آلودگی به قارچ بوده و درعین حال مناسب‌ترین بستر طبیعی برای رشد قارچ‌های آفاتوکسین‌زا به شمار می‌آیند. آفاتوکسین‌ها متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که توسط گونه‌های مختلف کپک اسپرئیلوس به ویژه گونه‌های فلاووس و پارازیتیکوس تولید شده و به شدت سمی و سرطان‌زا بوده و در عین حال جهش‌زا شناخته شده است. آلودگی طیف وسیعی از محصولات غذایی انسان و دام به

اثر استفاده از گاز ازن بر کاهش آفاتوکسین موجود در بلغور ذرت دندان اسبی

آفاتوکسین‌ها امروزه به‌عنوان یک معضل اقتصادی و تهدید جدی برای سلامت بشر در دنیا شناخته می‌شود. از میان چهار گروه عمده آفاتوکسین‌ها ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $G_1$  و  $G_2$ ) آفاتوکسین  $B_1$  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 آفاتوکسین در سال ۱۳۹۵ وارد ایران شد. استفاده از ذرت آلوده و محصولات تهیه شده از آن (حتی با غلظت بسیار کم آفاتوکسین) ممکن است آسیب جدی به سلامت انسان و حیوان وارد کند. متأسفانه، با وجود پیشرفت مداوم در خشک کردن، ذخیره‌سازی و فرآوری مواد غذایی، آلودگی آفاتوکسین در صنایع غذایی اجتناب‌ناپذیر است چرا که آفاتوکسین در بسیاری از شرایط تولید فرآیند مواد غذایی بسیار پایدار است. بنابراین، یافتن روش و ابزاری کارآمد برای از بین بردن آفاتوکسین در مواد غذایی بسیار مهم است. بسیاری از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای از بین بردن آفاتوکسین در مواد غذایی آلوده به آفاتوکسین 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 تغذیه‌ای، 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 می‌شده 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 سریعاً به اکسیژن تبدیل

نمودند. سپس در معرض اشعه UV و گاز ازن 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 ازن تخریب آفلاتوکسین‌ها نیز افزایش یافت، به طوری که در بالاترین غلظت و زمان میزان آفلاتوکسین B<sub>1</sub> 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<sub>1</sub> در بلغور ذرت پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

### - 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 B<sub>1</sub> بود، از کلکسیون قارچ‌های صنعتی ایران (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی) تهیه شدند. سموم آفلاتوکسین استاندارد B<sub>1</sub> و محیط کشت سابرو دکسترو برات از شرکت شیمیایی سیگماوایرسکو 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 برات استریل، وارد شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۳±۲ 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 قارچ‌های آسپرژیلوس رشد کنند. تعداد قارچ‌هایی که در محیط کشت فعال شده در واحد میلی لیتر شمارش شد ( $2 \times 10^7$  CFU/ml) و از محیط کشت فعال شده به نسبت ۰/۳٪ با محلول سالین جهت تلقیح به بلغور ذرت ریز شده فاقد آفلاتوکسین (شاهد اولیه) استفاده شد، بلغور ذرت تلقیح شده به مدت ۸ روز در

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 نیترات‌ها، اوره، آمین‌ها، سیانیدها و سموم کشاورزی و فلزاتی مانند منگنز، آهن کار آمد و فعال است با این حال مطالعات اندکی در ارتباط با ازن بر 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 ازن 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 طوری که مقادیر آفلاتوکسین در تیمارهای با غلظت ۷۵ میلی‌گرم/لیتر ازن و زمان ۶۰ دقیقه به ترتیب برای B<sub>1</sub>، G<sub>1</sub> و B<sub>2</sub>، 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 طوری که از مقادیر استاندارد حد مجاز آفلاتوکسین (۲۰ میکروگرم/کیلوگرم) نیز کمتر بود.

Mirabalfthahi و همکاران (2018) به بررسی امکان استفاده از گاز اوزون برای کاهش آلودگی پسته به آفلاتوکسین و قارچ‌های مولد آن پرداختند، در مطالعه آنها اوزون دهی 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 ۱/۳۱ ppm 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 درصد و میزان آلودگی کلی به آفلاتوکسین‌های G<sub>1</sub>، G<sub>2</sub>، B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub> را به میزان ۴۵-۷۰ درصد کاهش دهد که کاربرد ازن با مقادیر و مدت فوق را برای کاهش آلودگی قابل توصیه می‌کند.

Li و همکاران (2019) به بررسی تاثیر گاز ازن و اشعه UV بر مقادیر آفلاتوکسین در بادام زمینی پرداختند. بدین منظور ابتدا بادام‌ها به آفلاتوکسین B<sub>1</sub> با غلظت ۵۰۰ ppm و آفلاتوکسین B<sub>2</sub>، G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> با غلظت ۲۵۰ ppm آلوده

اثر استفاده از گاز ازن بر کاهش آفاتوکسین موجود در بلغور ذرت دندان اسبی

۱۵۰۰ میکرو لیتر متانول داخل ستون ریخته و در انتها محتویات داخل ویال با ۱۵۰۰ میکرو لیتر آب HPLC مخلوط شد.

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

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

میزان آفاتوکسین ها با استفاده از فرمول ذیل محاسبه شد:

$$W_{smp} = \frac{\text{signalsmp} \cdot b}{a} \quad \text{فرمول ۱:}$$

که در آن  $W_{smp}$ : میزان آلودگی نمونه بر حسب 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

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

### یافته ها

- آفاتوکسین B1 در تیمارهای مختلف ذرت - میانگین مقادیر آفاتوکسین B1 نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با فرایند ازن، در نمودار ۱ داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری، بیشترین میزان آفاتوکسین B1 مربوط به نمونه شاهد بود (۱۹/۴۴ ppb) در تیمارها تحت تاثیر فرایند ازناسیون مقدار آفاتوکسین B1 به طور

گرمخانه  $23 \pm 2$  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 آن ها با ازن

تعداد ۵ تیمار به صورت زیر تهیه گردید:

تیمار ۱: نمونه شاهد (T1)

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

تیمار ۳: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه (T3)

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

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

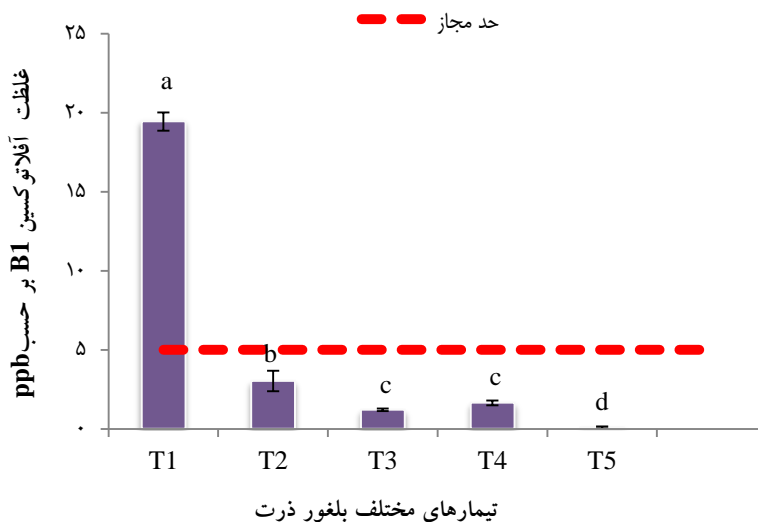
فرایند ازناسیون در محفظه شیشه ای که بدین منظور طراحی گردید و دارای ابعاد (۵۰×۳۰×۳۰) بود، انجام گردید. محفظه شیشه ای دارای یک صفحه مشبک بود که نمونه های بلغور بر روی آن به صورت یک لایه نازک قرار گرفت و گاز ازن پس از تولید در ژنراتور با غلظت های ۷ و ۹ میلی گرم بر لیتر، وارد محفظه شیشه ای شد و از صفحه مشبک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

### - اندازه گیری آفاتوکسین ها

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 می شود. سپس ۱۰۰ میلی لیتر، هگزان به منظور حذف چربی داخل ارلن مایر ریخته می شود. محتویات ارلن به مخلوط کن 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 میلی لیتر آب مقطر مخلوط و با کاغذ صافی سلولزی صاف گردید. سپس ۷۰ میلی لیتر از عصاره صاف شده با سرعت ۲ تا ۳ میلی لیتر در دقیقه بدون فشار خارجی از ستون ایمونوآفینیتی عبور داده شد.

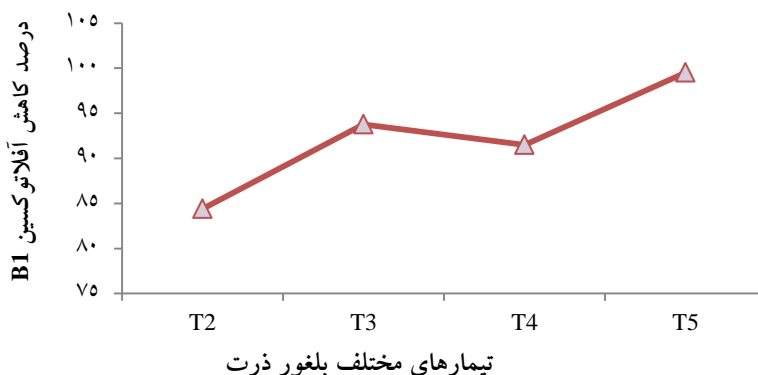
معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) مقادیر آفلاتوکسین  $B_1$  تحت تاثیر غلظت ازن و همچنین زمان در معرض قرار گیری ازن بود، به طوری که با افزایش غلظت و زمان مقادیر آفلاتوکسین  $B_1$  به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P \leq 0.05$ ). کمترین مقادیر آفلاتوکسین  $B_1$  در تیمار T5 مشاهده شد ( $0.09$  ppb). همچنین مقادیر آفلاتوکسین  $B_1$  در تیمارهای T3 و T4 اختلاف معنی‌داری باهم نداشتند ( $P \geq 0.05$ ). (به ترتیب ۱/۲۱، ۱/۶۵). میزان حد مجاز آفلاتوکسین  $B_1$  در استاندارد ملی ایران (۵ ppb) (ISIRI, )

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 آفلاتوکسین  $B_1$  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 از ناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه)، T3 (بلغور از ناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)، T4 (بلغور از ناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه) T5 (بلغور از ناسیون 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 از ناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه)، T3 (بلغور از ناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)، T4 (بلغور از ناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه) T5 (بلغور از ناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه)}

اثر استفاده از گاز ازن بر کاهش آفلاتوکسین موجود در بلغور ذرت دندان اسبی

که سایر آفلاتوکسین تحت تأثیر ازن قرار گرفته اند اما، کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تأثیر از روند منظمی پیروی نمی کرد.

### بحث

غلات و دانه‌های روغنی با درصد کربوهیدرات 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 نمی کند. مقاومت این سم در مقابل گرما به عوامل دیگری از جمله میزان رطوبت، pH

- سایر آفلاتوکسین‌ها در تیمارهای مختلف ذرت میانگین مقادیر آفلاتوکسین  $G_1$ ،  $B_2$  و  $G_2$ ، نمونه شاهد و نمونه های تیمار شده با فرایند ازن، به ترتیب در جدول‌ها و نمودارهای ۱، ۲ و ۳ نشان داده شده است. با توجه به نتایج آنالیز آماری، بیشترین میزان آفلاتوکسین در تمامی موارد مربوط به نمونه شاهد بود، تحت تأثیر فرایند ازناسیون مقادیر آنها به طور معنی داری کاهش یافت ( $P \leq 0.05$ ). مقادیر آفلاتوکسین در اکثر موارد تحت تأثیر غلظت ازن و همچنین زمان در معرض قرار گیری ازن بود، به طوری که با افزایش غلظت و زمان مقادیر آفلاتوکسین به طور معنی - داری کاهش یافت ( $P \leq 0.05$ ) در تیمار T5 هیچ یک از آفلاتوکسین‌های مذکور وجود نداشت. در مجموع با وجودی

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

تیمار	علامت اختصاری	میانگین (ppb)
۱: نمونه شاهد	T1	$0.9 \pm 0.07^a$
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	$0.5 \pm 0.02^c$
۳: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	$0.3 \pm 0.02^d$
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	$0.7 \pm 0.02^b$
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	$0.0 \pm 0.0^e$

(۱) همه اعداد بر حسب میانگین  $\pm$  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	$3.0 \pm 0.07^a$
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	$2.0 \pm 0.02^b$
۳: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	$1.3 \pm 0.03^d$
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	$1.78 \pm 0.03^c$
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	$0.0 \pm 0.0^e$

(۱) همه اعداد بر حسب میانگین  $\pm$  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	$1.50 \pm 0.01^a$
۲: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T2	$0.0 \pm 0.0^b$
۳: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۷ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T3	$0.0 \pm 0.0^b$
۴: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۲۰ دقیقه	T4	$0.0 \pm 0.0^b$
۵: بلغور ازناسیون شده با غلظت ۹ میلی گرم بر لیتر به مدت ۱۸۰ دقیقه	T5	$0.0 \pm 0.0^b$

(۱) همه اعداد بر حسب میانگین  $\pm$  انحراف از معیار بیان شده اند

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

بستگی دارد اما به هرحال پختن و گرم کردن شیوه قابل اطمینانی برای از بین بردن این سم نیست. امروزه در پی افزایش مقاومت میکروبی و هزینه های سنگین درمان بیماری همراه با فشار مصرف کنندگان به تولید فرآورده های عاری از دارو و محدودیت استفاده از این فرآورده ها در بسیاری از کشورها محققین دنبال ترکیباتی هستند که بتوان از آن ها در کاهش تولید آفاتوکسین استفاده کرد. برای جلوگیری از رشد قارچ و تولید سم روش های مختلفی ارائه شده است. ازن فرم سه اتمی اکسیژن می باشد، قوی ترین اکسید کننده و ضد عفونی کننده تجاری موجود است که بعد از تأثیر گذاری هیچ باقیمانده ای از خود بر جای نگذاشته و به سرعت به اکسیژن دواتمی تبدیل می شود. گاز ازن پس از تأثیر بر روی ماده غذایی از بین رفته و هیچ تأثیر منفی بر روی انسان و محیط زیست ندارد (De Alencar et al., 2012). بنابراین در این مطالعه به بررسی روش های ازناسیون در میزان آفاتوکسین B<sub>1</sub> در بلغور ذرت پرداخته شده است.

نتایج مربوط به مقادیر آفاتوکسین B<sub>1</sub> در تیمارهای مختلف بلغور ذرت نشان داد، که ازن تأثیر معنی داری بر میزان آفاتوکسین داشت به طوری که افزایش غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن تأثیر مستقیم بر کاهش میزان آفاتوکسین B<sub>1</sub> داشت. این کاهش مربوط به خاصیت اکسیدکنندگی گاز ازن می باشد که بر روی پیوند دو گانه ۸=۹ حلقه فوران تأثیر گذاشته و قادر است در مدت زمان کمی آفاتوکسین را به طور کامل تجزیه کند. همچنین در غلظت بالاتر و زمان های 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 آفاتوکسین) افزایش می یابد (Bashiri, 2011). Luo و همکاران (۲۰۱۴a) به بررسی تأثیر ازن بر روی آفاتوکسین ذرت پرداختند. آنها نیز اعلام با افزایش غلظت ازن و زمان غوطه وری در ازن، تخریب آفاتوکسین افزایش یافت. که نتایج آنها با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. همچنین Ozdemir و Akbas (۲۰۰۶) در ارتباط با اثر غلظت های متفاوت ازن گازی و زمان در معرض قرار گیری را بر روی تخریب آفاتوکسین مغز پسته، De Alencar و همکاران (۲۰۱۲) در ارتباط با اثر غلظت های متفاوت ازن گازی و زمان در معرض قرار گیری برای سم زدایی بادام زمینی و Inan و همکاران (۲۰۰۷) در ارتباط با اثر غلظت های متفاوت ازن

گازی و زمان در معرض قرار گیری بر سم زدایی بر فلفل قرمز خرد شده، Rahimi (۲۰۱۴) در ارتباط با تأثیر دو فرایند ازناسیون بر روی آفاتوکسین B<sub>1</sub> پسته نتایج مشابهی اعلام نمودند.

در صد کاهش آفاتوکسین B<sub>1</sub> در تیمارهای مختلف بلغور ذرت مابین ۸۴/۴۱ تا ۹۹/۵۳ درصد بوده است. مقدار آفاتوکسین B<sub>1</sub> در کل نمونه های 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 ازن با غلظت های ۵ میلی گرم / لیتر و زمان ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. مقادیر آفاتوکسین B<sub>1</sub> کمتر از حد مجاز بوده است.

Rahimi (۲۰۱۴) نیز اعلام نمودند هنگامی که پسته ها در معرض ازن زنی با دز ۷ میلی گرم بر لیتر و مدت زمان ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتند. مقادیر آفاتوکسین B<sub>1</sub> کمتر از حد مجاز بوده است.

در بررسی حاضر تأثیر ازن بر روی سایر آفاتوکسین ها نیز بررسی شد با وجودی که سایر آفاتوکسین تحت تأثیر ازن قرار گرفته اند که به دلیل عدم وجود پیوند دو گانه در حلقه فوران، کاهش آنها کم بوده است و همچنین این تأثیر از روند منظمی پیروی نمی کرد. بنابر این در این مطالعه تنها تأثیر گاز ازن بر آفاتوکسین B<sub>1</sub> گزارش شده است، در برخی از مطالعات نیز، حتی در صورت استفاده از آفاتوکسین های B<sub>2</sub> و G<sub>1</sub> و G<sub>2</sub> از ذکر نتیجه در مورد آن ها پرهیز شده زیرا همانند مطالعه حاضر تأثیر پذیری آنها نسبت به عوامل اکسید کننده، از روند منظمی پیروی نمود (De Alencar et al., 2012; Inan et al., 2007).

### نتیجه گیری

تا بحال مطالعه ای در ارتباط با تأثیر گاز ازن بر بلغور ذرت در ایران انجام نشده و اخیراً بحث آلودگی ذرت مطرح است، بنابراین در مطالعه حاضر به بررسی تأثیر گاز ازن بر تخریب آفاتوکسین B<sub>1</sub> 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 میلی گرم بر لیتر گاز ازن و مدت زمان (۱۲۰ و

Luo, X. H., Wang, R., Wang, L., Yongfu, L., Bian, Y. & Chen, Z. X. (2014a). Effect of ozone treatment on aflatoxin B<sub>1</sub> 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].

Mirabolfathi, 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 multiflora 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.

۱۸۰ دقیقه) بوده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد تمامی تیمارها تحت تأثیر ازناسیون می‌باشند، بطوری که میزان افلاتوکسین B<sub>1</sub> بلغور در تیمار شاهد بیشتر از سایر تیمارها بوده است در صد کاهش افلاتوکسین B<sub>1</sub> در تیمارهای مختلف بلغور ذرت مابین ۸۴/۴۱ تا ۹۹/۵۳ درصد بوده است و مقادیر افلاتوکسین B<sub>1</sub> در تمامی آنها از حد مجاز کمتر بوده است. همچنین کاهش افلاتوکسین تحت تأثیر غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن بود به طوری که افزایش غلظت و زمان در معرض قرار گیری ازن تأثیر مستقیم بر کاهش میزان افلاتوکسین B<sub>1</sub> 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 immunoaffinity 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 B<sub>1</sub> 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 B<sub>1</sub> 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.



# The Effect of Ozone Gas on Reducing of Aflatoxin B<sub>1</sub> in Bulgur of Dent Corn (*Zea mays* var. *indentata*)

N. Farhadieh<sup>a</sup>, O. Eyvazzadeh<sup>b\*</sup>, B. Ghiassi Tarzi<sup>c</sup>

<sup>a</sup> M.Sc. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

<sup>b</sup> Assistant Professor of the Department of Food Science, Collage of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Tehran, Iran.

<sup>c</sup> 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

7

**Introduction:** Aflatoxins are the secondary toxic metabolites of some fungi. Aflatoxins, especially aflatoxin B<sub>1</sub>, 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* ( $2 \times 10^7$  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<sub>1</sub> 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<sub>1</sub>, 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<sub>1</sub> observed in ozonated corn bulgur at the concentration of 9 mg/L for 180 minutes ( $P < 0.05$ ). In relation to other aflatoxins (B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub>), 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<sub>1</sub> in corn bulgur.

**Keywords:** Aflatoxins B<sub>1</sub>, Corn Bulgur, Ozone, Toxicity.

\* Corresponding Author: orang\_eyvazzadeh@yahoo.com