مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال بیست و یکم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، صفحات ۹۲-۸۳

اثر سم‌زدایی آنزیم لاکاز و تکنولوژی پلاسمای سرد با ستون لایه ریزان برای کاهش میزان پاتولین در آب سیب

سارا اسداله مطلق[۱]، خدیجه عبدالملکی[۲]، موسی الرضا تسلیخ[۳]، فردین جوانمردی[۴]، فاطمه محمودیان[۵]، حسین عباسی[۶]، معین بشیری[۷]

۱- کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی ، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۳- استادیار گروه علوم صنایع غذایی، مرکز تحقیقات سم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی آجا، تهران، ایران

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۵- دانشجو دکتری، گروه فیزیک و انرژی، دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۶- استاد گروه فیزیک و انرژی، دانشکده فیزیک و مهندسی انرژی دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران

۷- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

پست الکترونیکی: Moeinbashiry@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: آنزیم‌ها به‌ویژه آنزیم لاکاز و فناوری‌های نوین مانند پلاسمای سرد امروزه برای بهبود ایمنی مواد غذایی اهمیت ویژه‌ای یافته‌اند. این روش‌ها قادرند سموم مضر مانند پاتولین را که عمدتاً توسط قارچ‌ها در میوه‌هایی مانند سیب و فراورده‌های آن تولید می‌شود، حذف کنند. استفاده از این رویکردها به دلیل اثرگذاری قابل توجه و حفظ ویژگی‌های حسی ماده غذایی، مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. هدف این پژوهش بررسی اثر تکی و ترکیبی آنزیم لاکاز و فناوری پلاسمای سرد با ستون لایه‌ریزان بر کاهش میزان پاتولین در آب سیب است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، نمونه‌های شبیه‌ساز و واقعی آب سیب با غلظت ۱۰ میکروگرم بر کیلوگرم پاتولین اسپایک شدند. آنزیم لاکاز افزوده شد و انکوبه‌گذاری در زمان‌های ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت انجام شد و میزان سم‌زدایی ارزیابی گردید. سپس تاثیر پلاسمای سرد اتمسفریی با ستون لایه ریزان و عملکرد ترکیبی این فناوری نو ظهور با آنزیم لاکاز بررسی شد. شناسایی سم پاتولین با دستگاه کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فرابنفش و تجزیه و تحلیل نتایج با نرم‌افزار آماری STATA انجام پذیرفت.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که آنزیم لاکاز موجب کاهش موثر سم پاتولین از همان لحظات اولیه می‌شود ($p<0.05$). بررسی اثر توامان آنزیم لاکاز و پلاسمای سرد حاکی از تقویت اثر سم‌زدایی این دو فناوری و کاهش حدود ۹۰ درصدی سم در زمان کمتر نسبت به تیمارهای منفرد است. این نتایج گویای اثربخشی بالای روش ترکیبی و پتانسیل عملی آن برای بهبود ایمنی آب سیب است.

نتیجه‌گیری: پلاسمای سرد و آنزیم لاکاز، به طور منفرد یا همزمان، روشی موثر و امیدبخش برای تخریب پاتولین در آب سیب محسوب می‌شود و می‌تواند جهت ارتقا ایمنی و کیفیت محصول مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: پاتولین، مایکوتوکسین، فناوری‌های نوین، آنزیم لاکاز، پلاسمای سرد اتمسفری با ستون لایه ریزان

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

پیام‌های اصلی

- آنزیم لاکاز یک آنزیم قارچی است که پتانسیل بالایی در افزایش ایمنی مواد غذایی دارد.
- آنزیم لاکاز توانایی کاهش و حذف پاتولین را در آب سیب دارد.
- پلاسمای سرد به عنوان یک روش غیرحرارتی و ارزان توانایی حذف پاتولین را دارد.
- اعمال همزمان پلاسمای سرد و آنزیم لاکاز در آب سیب اثر هم افزایی در کاهش پاتولین در آب سیب دارد.

• مقدمه

مایکوتوکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه قارچی با وزن مولکولی پایین (در حدود ۷۰۰ دالتون) هستند که ترکیب شیمیایی و آثار فیزیولوژیک متفاوتی دارند و یکی از مهم‌ترین معضلات ایمنی غذا در سال‌های اخیر محسوب می‌شوند (۱). امروزه بیش از ۴۰۰ نوع مایکوتوکسین شناسایی شده است‌که شش گروه از بین آن‌ها شایع‌ترین سموم قارچی در غذای انسان و خوراک حیوانات هستند و به ترتیب شامل آفلاتوکسین‌ها، اکراتوکسین‌ها، فومونیسین‌ها، زیرالنون، پاتولین و تریکوتسن‌ها می‌باشند (۲, ۳). در این میان پاتولین ماده حاصل از فعالیت برخی از کپک‌ها و یا متابولیت سمی آن‌ها با فرمول شیمیایی $C_7H_6O_4$ و نام علمی 4-hydroxy-4-H-furo[3,2-c]pyran-2[6H]-one می‌باشد (۴). پاتولین (α, β-unsaturated-γ-lactone) در حالت خالص یک ماده کریستالی سفید رنگ، با نقطه ذوب ۱۱۱-۱۱۰ °C و وزن مولکولی ۱۵۴ دالتون است. این سم قارچی مقاوم به حرارت و اسید بوده ولی در محیط قلیایی ناپایدار است. همچنین در متانول، اتانول و آب محلول است (۵, ۶)

پاتولین یک متابولیت ثانویه میکروبی است که توسط حداقل ۶۰ قارچ رشته‌ای مختلف از جمله *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم*، *پنی‌سیلیوم کلاووم* و *آسپرژیلوس کلاواتوس* تولید می‌شود. این مایکوتوکسین در بسیاری از میوه‌ها مانند سیب، گلابی، انگور، کیوی، زغال اخته، هلو و محصولات آن‌ها مانند آب‌میوه و یا مربا شناسایی شده است. در سیب، تولید پاتولین معمولا با فساد نرم توسط *پنی‌سیلیوم اکسپانسوم* ایجاد می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده، مشخص شده است که پاتولین می تواند باعث سمیت ژنتیکی، سمیت جنینی، سمیت سلولی، سمیت عصبی، نقص ایمنی و سرطان‌زایی شود (۷).

سازمان بهداشت جهانی بیشترین غلظت مجاز پاتولین در آب سیب را ۵۰ میکروگرم در لیتر و اتحادیه اروپا بیشترین غلظت مجاز این سم را در محصولات جامد سیب ۲۵ میکروگرم در کیلوگرم و در مواد غذایی کودکان و نوزادان ۱۰ میکروگرم در کیلوگرم تعیین کرده است (۸). طبق توصیه کمیسیون اروپا و بر اساس سطح تعیین شده پاتولین (۴۳ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن)، حداکثر مصرف روزانه قابل تحمل پاتولین ۰/۴ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن تعیین شد. این سطح با تجزیه و تحلیل‌های ارزیابی خطر سلامت انجام شده به دست آمده است (۹). شواهد نشان می‌دهد عوارض جانبی دریافت پاتولین عمدتاً در طولانی مدت مشاهده می‌شود (۱۰). قرار گرفتن شدید در معرض سطوح بالای این مایکوتوکسین سبب ایجاد بیماری‌های دستگاه گوارش نیز می‌شود (۱۱). همچنین باعث ایجاد آسیب مزمن کبد، کلیه و سیستم ایمنی بدن می‌گردد و در سلول‌های کبد، سنتز RNA و پروتئین را کاهش می‌دهد. بنابراین حذف و کاهش پاتولین در محصولات غذایی یک امر ضروری به نظر می‌رسد و تاکنون روش‌های متنوعی از جمله روش فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای کنترل پاتولین ارائه شده است. مطالعات نشان می‌دهد که چندین روش فیزیکی مثل اشعه UV و الکترومغناطیس، مایکروویو، نور پالسی و فشار هیدروستاتیک بالا مورد بررسی قرار گرفته است. این روش‌ها اثر منفی روی برخی ویژگی‌های کیفی فرآورده‌های غذایی مثل: pH، رنگ، میزان قندها و بریکس محصول داشته‌اند (۵, ۱۲). روش‌های شیمیایی شامل: آمونیفیکاسیون، سولفیکاسیون، افزودن ویتامین‌ها و پتاسیم پرمنگنات برای قابلیت تخریب پاتولین بررسی شد. استفاده از روش‌های شیمیایی و فیزیکی به علت کارایی ضعیف در جذب پاتولین، سمیت نسبی‌شان و از بین رفتن مواد مغذی محدود شده است (۵, ۱۲, ۱۳). اخیرا روش بیولوژیکی با استفاده از انواع میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌های مختلف رایج شده است. به عنوان مثال استفاده از مخمر یکی از روش‌های موثر در کاهش سم پاتولین است (۱۴). در مطالعه ای گزارش شد که مخمر *Pichia ohmeri 158* می تواند سطوح پاتولین را در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تا ۸۳٪ و ۹۹٪ پس از ۲ و ۵ روز کاهش دهد. کاهش پاتولین توسط *pichia ohmeri 158* یک فرآیند فعال است و به دلیل متابولیسم مخمر است. *Pichia ohmeri* پارامترهای کیفی آب میوه مانند وزن، فرم میوه، اسید اسکوربیک و اسیدیته را تغییر نداد در نتیجه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

روش‌های بیولوژیکی مانند استفاده از آنزیم‌ها یا انواع میکروارگانیسم‌ها گزینه‌ی مناسبی هستند (۱۵).

لاکازها از دسته آنزیم‌های اکیسدوردوکتاز هستند که برای فعالیت به فلز مس احتیاج دارند و اکسیداسیون چندین هیدروکربن آروماتیک چند حلقه‌ای، ترکیبات فنولی و آمین‌های معطر به سایر ترکیبات کمتر سمی یا غیرسمی را انجام می دهند (۱۶). این آنزیم به صورت کلی درگیاهان، قارچها، باکتری‌ها و حشرات یافت شده‌اند که عملکردهای فیزیولوژیکی مختلفی را انجام می‌دهند (۱۷). مطالعات مختلف نشان داده است که آنزیم لاکاز می تواند با اکسیداسیون برخی از ترکیبات مانند انواع توکسین‌ها در افزایش ایمنی مواد غذایی نقش داشته باشد. در این میان آنزیم‌های قارچی بیشترین استفاده را دارند که شرایط فعالیت آنزیم‌های لاکاز قارچی از گونه ای به گونه ی دیگر تفاوت دارد. اکثر لاکازهای قارچی که تا به امروز مشخص شده‌اند نشان داده شده است که در دمای زیر ۵۰ درجه سلسیوس پایدار هستند (۱۸). اما در مورد pH می‌توان گفت که pH فعالیت لاکازها به شدت به سوبسترا و میکروارگانیسم تولید کننده آن وابسته است. به عنوان مثال وقتی از ABTS (2,20 $^{1-}$-azino-bis-[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود، pH محیط اسیدی و در محدوده‌ی ۳/۵ است. در این حالت pH بهینه فعالیت انزیم ۴ است. همچنین لاکاز تولید شده توسط *ترامتس مودستا* در pH=۴ به طور کامل فعال و در pH=۴/۵ بسیار پایدار است ولی نیمه ی عمر آن به ۱۲۵ دقیقه در pH=۳ کاهش می یابد (19). در حالی که pH اپتیمم فعالیت انزیم لاکاز حاصل از *آگاریکوس هتروسیستیس* (*Agaricus heterocystis*) در محدوده ۵/۵ است (۲۰).

از کاربرد لاکازها میتوان به شفاف سازی و تثبیت آبمیوه‌ها و کاهش کدورت اشاره کرد که در این میان بیشتر از لاکازهای قارچی در صنعت آب‌میوه استفاده شده است (۱۷). هم چنین مطالعات نشان داده‌اند که لاکازها پتانسیل بسیار زیادی در اصلاح و تصفیه آب یا خاک آلوده دارند، مانند رنگ‌زدایی رنگ‌ها و تخریب آفت‌کش‌ها و چندین محصول دارویی و بهداشتی. اخیراً استفاده از لاکاز در تجزیه و حذف آنتی‌بیوتیک‌ها گزارش شده است و راندمان حذف در برخی از این گزارش‌ها بسیار بالا است (۲۱).

پلاسمای سرد یک فناوری جدید در فرآوری و نگهداری مواد غذایی به صورت غیر حرارتی است که از گازهای پرانرژی و واکنش‌گر برای غیرفعال کردن ترکیبات شیمیایی و آلودگی‌های میکروبی در محصولاتی مانند گوشت، مرغ، میوه و سبزی استفاده می‌شود (۲۲). پلاسمای سرد با تحریک مولکول‌های گاز از طریق استفاده از تخلیه الکتریکی تولید می‌گردد. با توجه به فرکانس مورد استفاده برای تحریک گاز، منابع پلاسمای اتمسفر سرد را می‌توان به تخلیه جریان مستقیم (Direct current discharge) و تخلیه فرکانس پایین (Low frequency discharge)، تخلیه فرکانس رادیویی (Radio frequency discharge) و تخلیه مایکروویو (Microwave discharge) طبقه بندی کرد. اثر ضد میکروبی پلاسمای سرد نتیجه عمل ذرات باردار و گونه‌های فعال موجود در پلاسما است که می تواند باعث آسیب به غشا سلول شود که می‌تواند منجر به نفوذ بیشتر گونه های فعال به داخل سلول، آسیب DNA و شکستن مواد شیمیایی گردد. حتی اگر مکانیسم تعامل بین گونه‌های پلاسما و میکروارگانیسم هنوز مشخص نشده باشد، یون‌های پلاسما می‌توانند واکنش‌هایی مانند اکسیداسیون و پراکسیداسیون را که در داخل سلول و در محیط خارجی اتفاق می‌افتد کاتالیز کنند (۲۳). به طور کلی، کاربرد پلاسمای سرد در صنایع غذایی برای آلودگی‌زدایی مواد غذایی، غیرفعال سازی آنزیم، حذف سم، غیرفعال کردن میکروارگانیسم ها گزارش شده است (۲۴). در میان دستگاه های مورد استفاده بیشتر برای محصولات جامد یا پودری کاربردی بود. در نتیجه نیاز به دستگاهی که به طور اختصاصی برای محصولات مایع طراحی شده باشد نمایان میشود. در نتیجه ستون لایه ریزان (Falling film column) به منظور افزایش کارایی دستگاه پلاسمای سرد در محصولات مایع مانند شیر یا انواع اب‌میوه‌ها طراحی شد (۲۵).

در این مطالعه با توجه به تاثیر دو فرایند نوظهور در صنعت غذا یعنی استفاده از آنزیم‌ها (آنزیم لاکاز) و پلاسمای سرد در کاهش و حذف انواع آلاینده‌ها مانند مایکوتوکسین‌ها از یک سو و شناسایی پاتولین در آب سیب از سوی دیگر، بر آن شدیم تا میزان کاهش هر کدام از این روش‌ها به صورت تنها و توامان را در افزایش ایمنی آب سیب مورد ارزیابی قرار دهیم. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی اثر سم‌زدایی آنزیم لاکاز و تکنولوژی پلاسما سرد با ستون لایه ریزان طراحی شده برای مواد غذایی مایع در جهت کاهش میزان پاتولین در آب سیب است.

• مواد و روش‌ها

در این مطالعه، کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز شامل سم پاتولین (کاووش شیمی، ایران)، آنزیم لاکاز از گونه *Aspergillus sp.* (سیگما، دانمارک)، آب سیب (سن‌ایچ، ایران)، اسید سیتریک، سدیم هیدروکسید، اتانول، آب و استونیتریل گرید HPLC (مرک، آلمان)، آب دیونیزه (اطلس شیمی، ایران) و فیلتر سرسرنگی با قطر منفذ ۰/۴۵ میکرومتر (سیگما، آمریکا) تهیه گردید. مهمترین تجهیزات آزمایشگاهی مورد استفاده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

شامل دستگاه HPLC-UV (KNAUER) آلمان، دستگاه پلاسما سرد تخلیه سد دی‌الکتریک (Dielectric-Barrier-Discharge (DBD) آتمسفری با ستون لایه‌ریزان دانشکده فیزیک دانشگاه امیرکبیر، ایران، انکوباتور (پارس‌آزما، ایران)، و سانتریفوژ (Universal) آلمان بود.

این پژوهش در سه فاز طراحی و اجرا شد.

فاز اول: در این مرحله، فعالیت آنزیم لاکاز در زمان‌های مختلف در محیط شبیه‌سازی شده آب سیب بررسی شد. شبیه‌سازی با تنظیم pH آب مقطر به محدوده ۴ تا ۴/۵ توسط اسید سیتریک و افزودن ۱۰µg/kg پاتولین تهیه گردید. سپس ۱۰ گرم بر لیتر آنزیم لاکاز به محلول افزوده و نمونه‌ها در بازه‌های زمانی ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت انکوبه شدند. پس از پایان انکوباسیون، نمونه‌ها برای اندازه‌گیری میزان پاتولین باقی‌مانده مورد آنالیز قرار گرفتند .

فاز دوم: در مرحله بعد تاثیر آنزیم بر حذف سم پاتولین در نمونه‌های واقعی آب سیب بررسی شد. نمونه‌ها مشابه مرحله اول تهیه شدند (میزان سم اضافه شده۱۰ µg/kg و زمان بررسی اثر انزیم ۸، ۱۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت بود).

فاز سوم: در این مرحله، تأثیر پلاسما سرد لایه ریزان (۱۳ ولتاژ کیلوولت، دبی ۴ لیتر بر دقیقه)، آنزیم لاکاز و ترکیب این دو فناوری بر حذف پاتولین از آب سیب مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها به سه گروه تقسیم شدند: تیمار با پلاسما سرد (۱۰ دقیقه)، ترکیب پلاسما (۱۰ دقیقه) و انکوباسیون با آنزیم (۸ ساعت)، ترکیب پلاسما (۱۵ دقیقه) و انکوباسیون با آنزیم (۸ ساعت). در پایان، تمامی نمونه‌ها از نظر میزان پاتولین باقی‌مانده با دستگاه کرماتوگرافی مایع با عملکرد بالا و آشکارساز فرابنفش مورد آنالیز قرار گرفتند.

استخراج پاتولین از نمونه‌ها

برای جدا کردن پاتولین ،۱۰ میلی‌لیتر از نمونه را با ۲۰ میلی‌لیتر استات اتیل مخلوط به مدت یک دقیقه تکان داده شد. پس از جداسازی فازها، فازهای بالا و پایین در ارلن‌های جداگانه جمع‌آوری گردید. فاز آلی مجدداً با ۲۰ میلی‌لیتر استات اتیل استخراج شد و پس از جداسازی، فاز بالایی با ۵ میلی‌لیتر استات اتیل شسته شد. برای حذف ترکیبات اسیدی مزاحم، ۴ میلی‌لیتر محلول کربنات سدیم به قیف جداکننده حاوی ۶۵ میلی‌لیتر استات اتیل افزوده شد. پس از تکان دادن و جداسازی فازها، محلول زیرین دوباره استخراج و فاز آلی نهایی پس از عبور از سولفات سدیم جمع‌آوری شد. سپس محلول استخراجی صاف‌شده در بشر منتقل و در حمام آب گرم ۴۰ درجه و جریان گاز نیتروژن تا حجم تقریبی ۳ میلی‌لیتر تغلیظ شد. محلول باقیمانده با ۳ میلی‌لیتر استات اتیل شسته شد. پس از تبخیر کامل حلال در جریان نیتروژن، باقیمانده نمونه با ۱ میلی‌لیتر آب مقطر با pH=۴ حل و به‌مدت ۳۰ ثانیه با همزن برقی مخلوط شد. در نهایت، محلول حاصل از صافی سرسرنگی ۰،۴۵ میکرومتری عبور داده و برای آنالیز به دستگاه HPLC-UV تزریق گردید. کلیه ازمایشات با دو بار تکرار انجام شد (۲۶).

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و آشکارساز فرابنفش (HPLC-UV)

آنالیز پاتولین با استفاده از دستگاه HPLC مدل AZURA شرکت KNAUER انجام پذیرفت. آشکارسازی با آشکارساز UV در طول موج ۲۷۶ نانومتر و جداسازی بر روی ستون (C18 ۵ میکرومتر، ۴،۶ × ۲۵۰ میلی‌متر) انجام شد. فاز متحرک شامل مخلوط استونیتریل/آب (۹۰:۱۰ به نسبت حجمی) با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و حجم نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود. قبل از شروع هر روز کاری، ستون با آب HPLC و سپس با فاز متحرک شستشو داده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. تفاوت معنی‌دار میانگین‌ها با آزمون ANOVA در سطح معنی‌داری ۰/۰۵ ارزیابی شد. آزمون‌های t تک نمونه‌ای و t مستقل نیز برای مقایسه میانگین‌ها به کار رفتند. تمام آنالیز ها با نرم‌افزار Stata نسخه ۱۷ انجام شد.

• یافته‌ها

در این پژوهش، به‌منظور بررسی کارایی آنزیم لاکاز و فناوری پلاسمای سرد در حذف سم پاتولین از آب سیب شبیه‌سازی‌شده و واقعی، ابتدا معتبرسازی روش استخراج با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و آشکارساز فرابنفش در شناسایی پاتولین بررسی شد. در این میان محدوده خطی (Linearity Range)، حد تشخیص (Limit of detection) و حد تعیین مقدار (Limit of quantification) بررسی شد. منظور از محدوده خطی رابطه متناسب بین پاسخ آشکارساز و غلظت آنالیت را در یک محدوده غلظتی مشخص نشان می‌دهد. این امر تعیین دقیق مقدار نمونه‌های مجهول را از طریق منحنی‌های کالیبراسیون که پاسخ آشکارساز را در برابر غلظت‌های استاندارد شناخته شده رسم می‌کنند، تضمین می‌کند. حد تشخیص عبارت است از کمترین مقدار آنالیت مورد نظر که توسط روش مورد استفاده، با دقت و صحت قابل قبول، تشخیص داده می‌شود و با استفاده از رابطه $LOD = \frac{3S_{y/x}}{m}$ محاسبه می‌شود. $S_{y/x}$ انحراف استاندارد شاهد برای هر پیک

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

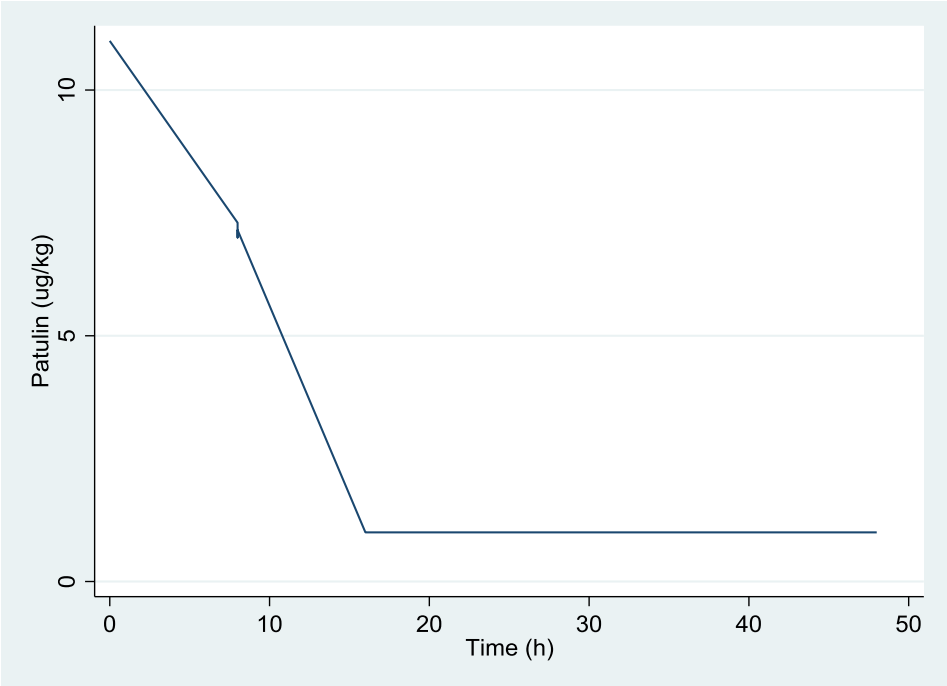
آنالیت مورد نظر در کروماتوگرافی معادل با یک پنجم مقدار تفاضل حد بالایی و پایینی نویزهای اطراف پیک آن آنالیت است و m شیب مربوط به معادله رگرسیون منحنی کالیبراسیون آنالیت مورد نظر است. حد تعیین مقدار عبارت است از کمترین مقدار آنالیت مورد نظر که توسط روش آنالیز مورد بررسی، با دقت و صحت قابل قبول، تعیین مقدار می‌شود. حد اندازه‌گیری با استفاده از رابطه $LOQ = \frac{10S_{y/x}}{m}$ محاسبه میشود (۲۷). نتایج نشان داد که روش استفاده شده از دامنه خطی مناسبی برخوردار است و در محدوده غلظتی ۵ تا ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم به صورت خطی است (R^2 >۰/۹۹) . همچنین LOD وLOQ به‌ترتیب برابر µg/kg ۱/۲و ۳/۸ تعیین شد. این نتایج نشان‌دهنده حساسیت، دقت و صحت مناسب روش در آنالیز پاتولین بودند.

پتانسیل سم‌زدایی آنزیم لاکاز

در فاز نخست، تأثیر مدت زمان حضور آنزیم لاکاز در آب سیب شبیه‌سازی شده بر کارایی حذف سم پاتولین مورد مطالعه قرار گرفت. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، نتایج نشان می‌دهد که آنزیم لاکاز قادر است به‌طور مؤثر پاتولین را در نمونه شبیه‌سازی‌شده حذف کند، به‌گونه‌ای که غلظت اولیه سم از ۱۰µg/kg به صفر بعد از ۱۶ ساعت کاهش یافت. آزمون آماری ANOVA و آزمون تعقیبی توکی(Tukey) نشان دادند که کاهش غلظت در بازه‌های زمانی مختلف از نظر آماری معنی‌دار است ($p<0.05$) . همچنین در زمان‌های طولانی‌تر (۲۴ تا ۴۸ ساعت) تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، زیرا آنزیم موفق به حذف کامل سم شده بود. شکل ۱ میزان کاهش سم پاتولین تحت تاثیر آنزیم لاکاز را در طول زمان نشان می‌دهد.

جدول۱. اثر افزودن آنزیم لاکاز در زمان‌های مختلف بر روی حذف میزان پاتولین اسپایک شده در آب سیب شبیه‌سازی شده

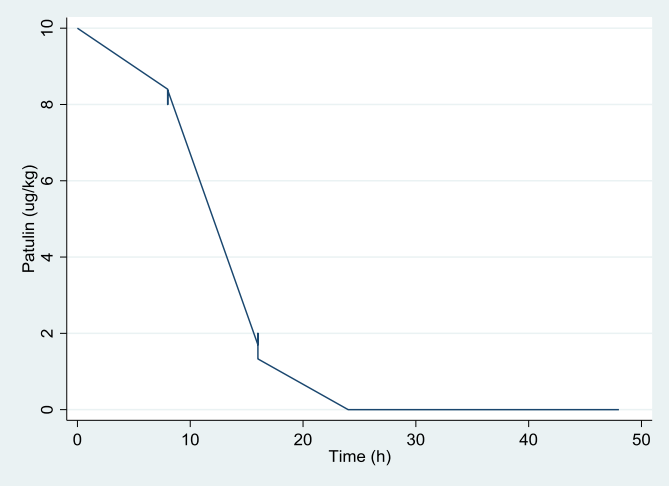
نمونه	زمان (ساعت)	۰	۸	۱۶	۲۴	۴۸
شبیه ساز آب سیب (µg/Kg)		۱۰ ^{a}	۰,۱±۶,۱۵ ^{b}	۰ ^{c}	۰^{d}	۰
آب سیب (µg/Kg)		۱۰ ^{a}	۰,۳۴±۸,۳۸ ^{f}	۱±۱,۳۳ ^{g}	۰	۰



شکل۱. کاهش سم پاتولین تحت تاثیر آنزیم لاکاز را در زمان‌های متفاوت در آب سیب شبیه‌سازی شده.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

در نمونه آب‌سیب واقعی نیز روند مشابهی مشاهده شد؛ هرچند به‌دلیل تفاوت در ترکیب ماتریکس و حضور ترکیبات مزاحم، سرعت کاهش اندکی کمتر بود. پس از ۱۶ ساعت، حدود ۸۶ درصد از پاتولین حذف شد و در پایان ۲۴ ساعت، غلظت سم به صفر رسید. این موضوع بیانگر توانایی بالای آنزیم لاکاز در سم‌زدایی از محیط‌های غذایی پیچیده است. شکل ۲، میزان کاهش سم پاتولین تحت تاثیر آنزیم لاکاز را در طول زمان نشان می‌دهد همانطور که مشاهده می‌شود با کاهش شدید میزان سم در ساعات اولیه برخورد آنزیم سوبسترا مواجه هستیم.



شکل۲. کاهش شدید میزان سم در ساعات اولیه برخورد آنزیم لاکاز با سوبسترا در آب سیب

جدول۲. اثر افزودن غلظت های مختلف آنزیم لاکاز در۱۶ ساعت بر روی حذف میزان پاتولین اسپایک شده در آب سیب

میزان سم (ug/kg)	۱۰	۲۰
آب سیب	۱±۱,۳۳	۱,۵±۵,۸۹

همچنین برای ارزیابی نقش غلظت آنزیم، تیمارها با سطوح مختلف آنزیم در مدت زمان ثابت ۱۶ ساعت انجام شد. با توجه به جدول ۲، نتایج نشان داد که در هر دو غلظت اولیه پاتولین (۱۰µg/kg و۲۰)، میزان کاهش سم معنی‌دار بود ($p<0.05$). در غلظت بالاتر نیز حدود ۷۰ درصد از سم حذف شد. این نتایج نشان می‌دهند که افزایش میزان آنزیم تا حد مشخصی می‌تواند موجب بهبود راندمان حذف پاتولین گردد.

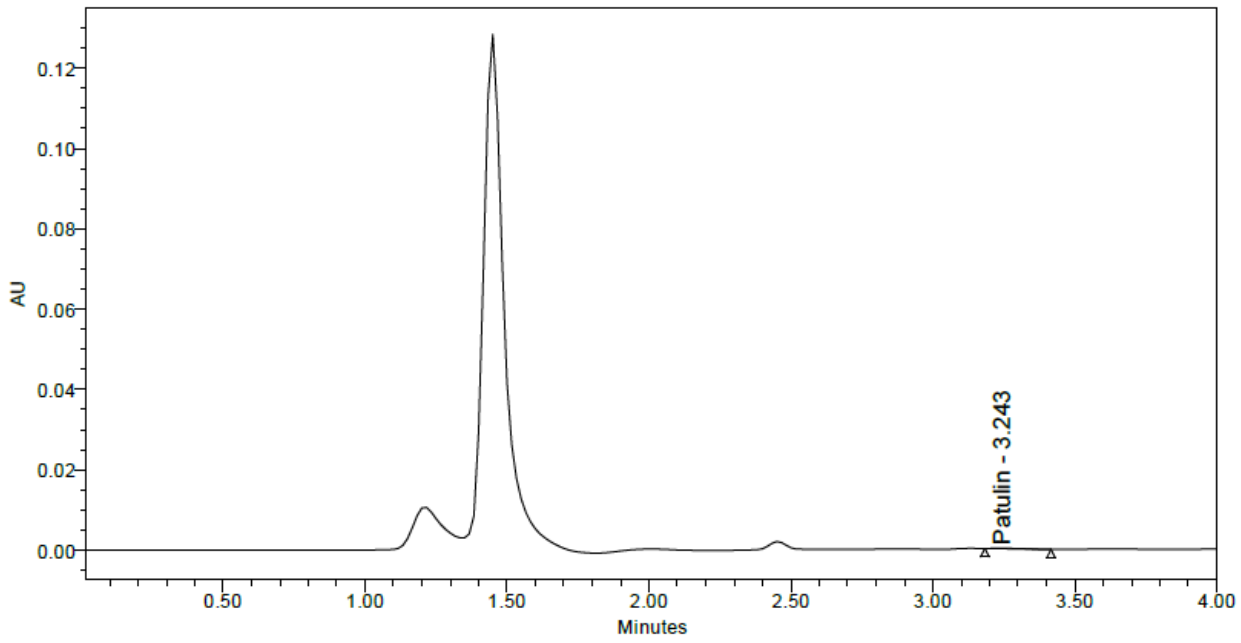
در مرحله اخر نیز پتانسیل سم‌زدایی فناوری پلاسمای سرد با ستون لایه ریزان (مخصوص مواد غذایی مایع) به تنهایی و به صورت ترکیب با آنزیم لاکاز مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ها به سه گروه تقسیم شدند: (۱) اعمال پلاسما به نمونه‌های آب سیب به مدت ۱۰ دقیقه، (۲) تیمار نمونه‌های آب سیب با پلاسمای سرد به مدت ۱۰ دقیقه و انکوباسیون با آنزیم لاکاز به مدت ۸ ساعت، و (۳) تیمار نمونه‌های آب سیب با پلاسمای سرد به مدت ۱۵ دقیقه و انکوباسیون با آنزیم لاکاز به مدت ۸ ساعت. نتایج نشان داد که تیمار پلاسمای سرد به‌تنهایی میتواند غلظت پاتولین را کاهش دهد اما این کاهش در ۱۰ دقیقه بالا نیست و برای سمزدایی بالاتر احتیاج به اختصاص زمان بیشتر است. باتوجه به این موضوع که فناوری پلاسما و همچنین انزیم در زمان بالاتر احتمال آسیب مواد غذایی را بالا میبرد. در نتیجه برای بالا بردن پتانسیل سم‌زدایی احتیاج به ترکیب ان با فناواری های دیگر است. نتایج ما نشان داد (جدول ۳) ترکیب پلاسما با آنزیم لاکاز باعث افزایش قابل توجه راندمان حذف پاتولین شد. نتایج نشان داد که ترکیب پلاسما به مدت ۱۰ دقیقه و آنزیم به مدت ۸ ساعت می‌تواند حدود ۹۰ درصد از سم را حذف کند، در حالی‌که با افزایش زمان فناوری پلاسمای سرد تا ۱۵ دقیقه منجر به حذف کامل پاتولین شد. این نتایج نشان‌دهنده وجود اثر هم‌افزایی مثبت میان دو فناوری آنزیم و پلاسما سرد است. مکانیسم احتمالی این هم‌افزایی به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در پلاسما نسبت داده می‌شود که ساختار مولکولی پاتولین را تضعیف کرده و دسترسی آن را برای تخریب آنزیمی تسهیل می‌نماید.

در مجموع، ترکیب آنزیم لاکاز و پلاسما سرد می‌تواند به‌عنوان یک روش کارآمد، سازگار با محیط زیست و مقرون‌به‌صرفه برای کاهش یا حذف سم پاتولین درفرآورده‌های غذایی به‌ویژه آب‌میوه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. این روش با کاهش زمان فرآیند و افزایش کارایی، چشم‌انداز امیدوارکننده‌ای برای کاربرد صنعتی در بهبود ایمنی و کیفیت مواد غذایی ارائه می‌دهد. شکل ۳، کروماتوگرام مربوط به تشخیص پاتولین در آب سیب را نشان می‌دهد.

جدول۳. اثر افزودن آنزیم در ۸ ساعت و فرایند پلاسما در زمان های مختلف بر روی حذف میزان پاتولین اسپایک شده در آب سیب

نمونه	آب سیب + پلاسما ۱۰	آب سیب + آنزیم	آب سیب + آنزیم + پلاسما ۱۰	آب سیب + پلاسما ۱۵ + آنزیم
میزان سم باقی مانده(µg/kg)	۰,۹۵±۴,۵	۰,۳۴±۸,۳۸	۱,۵۲±۰,۸۲۶	۰

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]



شکل ۳. کروماتوگرام پاتولین در آب سیب با استفاده از HPLC-UV.

• بحث

در این مطالعه، روش کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC)برای تشخیص پاتولین به کار گرفته شد که دارای حساسیت و دقت مناسبی بود (LOD=1.2 و LOQ= ۳/۸ µg/kg). این نتایج در مقایسه با سایر روش‌های گزارش شده در مطالعات قبلی، از جمله طیف سنجی جذب الکترون و کروماتوگرافی مایع مجهز به طیف سنج جرمی، قابل رقابت و در مواردی مشابه است (۲۸-۳۰) . نتایج حاکی از آن بود که روش استفاده شده در این پژوهش قابل اعتماد بوده و می‌تواند در مطالعات آینده نیز کاربرد داشته باشد. مطالعات ما نشان داد که آنزیم لاکاز در کاهش غلظت پاتولین در آب سیب بسیار موثر است و طی ۱۶ ساعت حذف کامل سم انجام می‌شود. این یافته‌ها همسو با نتایج Xiaoshuang Liu و همکاران (۲۰۲۳) است که اظهار داشته‌اند آنزیم‌ها می‌توانند به طور قابل توجهی پاتولین را تخریب کنند (۳۱). در مطالعه‌ای توسط Xiao و همکاران، در سال ۲۰۱۹، از لیپاز پانکراس خوکی (PPL) برای تجزیه مایکوتوکسین پاتولین (PAT) در آب گلابی استفاده شد. در آن پژوهش، نتایج آزمون سمیت سلولی با سلول‌های Caco-2 نشان داد که محصولات حاصل از تجزیه، فاقد سمیت بودند، که بیانگر تخریب کامل یا تبدیل پاتولین به ترکیبات غیرسمی است (۳۲). نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر نیز تا حد زیادی با یافته‌های Xiao و همکاران هم‌راستا است، به‌ویژه از نظر کاهش قابل‌توجه غلظت پاتولین در حضور آنزیم. مکانیسم کاهش سمیت احتمالا ناشی از تخریب ساختار حلقه‌های همی‌استال و لاکتون است که منجر به کاهش سمیت می‌شود (۳۳). همچنین، مطالعات مشابهی توسط Xiaohong Li و همکاران در سال ۲۰۱۷ و Weiwei Huang و همکاران در سال ۲۰۱۸، انجام شد که اثر مثبت آنزیم‌ها را در سم‌زدایی مایکوتوکسین‌ها تایید کرده‌اند، که نشان‌دهنده پتانسیل بالای این رویکرد بیولوژیک در بهبود ایمنی مواد غذایی است (۳۴, ۳۵). همچنین نتایج حاصل از تیمار پلاسمای سرد اتمسفری نیز کاهش معنی‌داری در غلظت پاتولین نشان داد که این کاهش از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و تخریب ساختار مولکولی سم انجام می‌شود. این یافته‌ها با مطالعات متعدد دیگر از جمله شیرازی و همکاران (۲۰۲۵) و Siciliano و همکاران (۲۰۱۶)، هماهنگ است. مزیت کلیدی این روش در سرعت بالا، حفظ کیفیت محصول و قابلیت استفاده صنعتی آن است که می‌تواند به عنوان روشی نوین در کنترل سموم مواد غذایی به کار رود (۳۶, ۳۷) . علاوه بر این، Maja و همکاران (۲۰۲۰)، نیز اثربخشی پلاسما در کاهش مایکوتوکسین‌های تریکوتسن (T-2) و HT2 در آرد جو دوسر را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که پلاسما با فشار کم (DBD) می‌تواند منجر به کاهش چشمگیر این سموم شود (۳۸). به علاوه Basaran و همکاران (۲۰۰۸)، گزارش نمودند که تیمار پلاسما با گاز هوا به مدت ۲۰ دقیقه موجب کاهش حدود ۵۰ درصدی مجموع آفلاتوکسین‌ها (AFB_1، AFB_2، AFG_1 و AFG_2) شد، در حالی که استفاده از گاز هگزافلورید گوگرد (SF_6) در شرایط مشابه تنها حدود ۲۰ درصد کاهش ایجاد کرد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

این یافته نشان می‌دهد که نوع گاز مصرفی نقش مهمی در کارایی فناوری پلاسما دارد و وجود اکسیژن در محیط پلاسما می‌تواند در تخریب مولکول‌های سمی مؤثرتر باشد (۳۹). نتایج این پژوهش‌ها در مجموع هم‌راستا با یافته‌های مطالعه حاضر است و تأیید می‌کند که فناوری پلاسما ــ به‌ویژه در شرایط بهینه‌سازی‌شده از نظر نوع گاز، توان و زمان تیمار ــ می‌تواند به عنوان روشی مؤثر و دوستدار محیط‌زیست برای کاهش یا حذف مایکوتوکسین‌ها در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد. نتایج ترکیبی این مطالعه نشان‌دهنده اثر سینرژیستی قابل توجهی بین پلاسمای سرد و آنزیم لاکاز در حذف پاتولین بود. چنین هم‌افزایی ممکن است ناشی از تغییرات ساختاری ناشی از پلاسما باشد که آنزیم‌ها را برای تخریب سم مستعدتر می‌کند. همچنین، شرایط فیزیکوشیمیایی ویژه ایجاد شده توسط پلاسما می‌تواند فعالیت آنزیم‌ها را تقویت کند، که این موضوع با یافته‌های مطالعات دیگر Siciliano و همکاران ۲۰۱۶ و Yasin Sen و همکاران ۲۰۱۹، تطابق دارد (۳۷, ۴۰) . این ترکیب می‌تواند روشی کارآمد، سریع و مقرون‌به‌صرفه برای کاهش مایکوتوکسین‌ها در صنایع غذایی ارائه دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان می‌دهد که استفاده از آنزیم لاکاز در آب سیب به تنهایی می‌تواند سم پاتولین را کاهش دهد (در زمان طولانی قابلیت کاهش ۱۰۰ درصدی). همچنین استفاده از تکنولوژی پلاسما نیز توانایی سم‌زدایی قابل توجهی نشان داد. نتیجه‌گیری جالب توجه اثر ترکیبی این دو تکنیک (یعنی استفاده از آنزیم و پلاسمای سرد) است که توانایی سم‌زدایی را به طور موثری بیشتر می‌کند. اثر هم افزایی این دو فرایند نوظهور با همدیگر باعث کاهش زمان فرایند و در نتیجه کاهش اثرات تخریبی فرایند و حفظ خواص ارگانولپتیک در کنار افزایش ایمنی محصولات می‌شود. پس استفاده از این روش، می‌تواند به عنوان روشی امیدوار کننده در تخریب سم پاتولین یا سایر آلاینده‌های شیمیایی باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ تضاد منافعی را اعلام نمی‌کنند.

قدردانی

نویسندگان از دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به خاطر حمایت مالی از این پروژه (کد: ۴۰۳۰۸۷۹) کمال تشکر را دارند.

References

1. Pleadin J, Frece J, Markov K. Mycotoxins in food and feed. Advances in food and nutrition research. 2019;89:297-345.
2. Carballo D, Moltó J, Berrada H, Ferrer E. Presence of mycotoxins in ready-to-eat food and subsequent risk assessment. Food and chemical toxicology. 2018;121:558-65.
3. Shi H, Li S, Bai Y, Prates LL, Lei Y, Yu P. Mycotoxin contamination of food and feed in China: Occurrence, detection techniques, toxicological effects and advances in mitigation technologies. Food Control. 2018;91:202-15.
4. LAI C-L, FUH Y-M, SHIH DY-C. Detection of mycotoxin patulin in apple juice. Journal of Food and Drug Analysis. 2000;8(2).
5. Ioi JD, Zhou T, Tsao R, F. Marcone M. Mitigation of patulin in fresh and processed foods and beverages. Toxins. 2017;9(5):157.
6. Liu B, Peng X, Chen W, Li Y, Meng X, Wang D, et al. Adsorptive removal of patulin from aqueous solution using thiourea modified chitosan resin. International Journal of Biological Macromolecules. 2015;80:520-8.
7. Wang S, Wang X, Penttinen L, Luo H, Zhang Y, Liu B, et al. Patulin detoxification by recombinant manganese peroxidase from Moniliophthora roreri expressed by Pichia pastoris. Toxins. 2022;14(7):440.
8. Zheng X, Li Y, Zhang H, Apaliya MT, Zhang X, Zhao L, et al. Identification and toxicological analysis of products of patulin degradation by Pichia caribbica. Biological Control. 2018;123:127-36.
9. Commission E. Setting of maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. regulation. 2006;1881:5-24.
10. Saleh I, Goktepe I. The characteristics, occurrence, and toxicological effects of patulin. Food and chemical toxicology. 2019;129:301-11.
11. Zhu R, Feussner K, Wu T, Yan F, Karlovsky P, Zheng X. Detoxification of mycotoxin patulin by the yeast Rhodosporidium paludigenum. Food chemistry. 2015;179:1-5.
12. Luo Y, Zhou Z, Yue T. Synthesis and characterization of nontoxic chitosan-coated Fe3O4 particles for patulin adsorption in a juice-pH simulation aqueous. Food Chemistry. 2017;221:317-23.
13. Burroughs LF. Stability of patulin to sulfur dioxide and to yeast fermentation. Journal of the Association of Official Analytical Chemists. 1977;60(1):100-3.
14. Cao J, Zhang H, Yang Q, Ren R. Efficacy of Pichia caribbica in controlling blue mold rot and patulin degradation in apples. International Journal of Food Microbiology. 2013;162(2):167-73.
15. Coelho AR, Celli MG, Ono EYS, Wosiacki G, Hoffmann FL, Pagnocca FC, et al. Penicillium expansum versus antagonist yeasts and patulin degradation in vitro. Brazilian archives of Biology and Technology. 2007;50:725-33.
16. Kumar V, Bahuguna A, Ramalingam S, Dhakal G, Shim J-J, Kim M. Recent technological

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

advances in mechanism, toxicity, and food perspectives of enzyme-mediated aflatoxin degradation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2022;62(20):5395-412.
17. Bhankar U, Gupta VK. Purification and characterization of an extracellular thermostable laccase from Bacillus cereus UV25 and its potential in enrichment of fruit juices. Lett Appl NanoBioSci. 2023;12:144.
18. Nyanhongo G, Gomes J, Gübitz G, Zvauya R, Read J, Steiner W. Production of laccase by a newly isolated strain of Trametes modesta. Bioresource Technology. 2002;84(3):259-63.
19. Salehizadeh H., Alikhouei M., Salehizadeh M. Laccase: recent progresses and its nano-biotechnological importance. 2012.]in persian].
20. Kumar R, Kaur J, Jain S, Kumar A. Optimization of laccase production from Aspergillus flavus by design of experiment technique: Partial purification and characterization. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2016;14(1):125-31.
21. Ding H, Wu Y, Zou B, Lou Q, Zhang W, Zhong J, et al. Simultaneous removal and degradation characteristics of sulfonamide, tetracycline, and quinolone antibiotics by laccase-mediated oxidation coupled with soil adsorption. Journal of hazardous materials. 2016;307:350-8.
22. Niemira BA. Cold plasma decontamination of foods. Annual review of food science and technology. 2012;3:125-42.
23. Pasquali F, Stratakos AC, Koidis A, Berardinelli A, Cevoli C, Ragni L, et al. Atmospheric cold plasma process for vegetable leaf decontamination: A feasibility study on radicchio (red chicory, Cichorium intybus L.). Food control. 2016;60:552-9.
24. Pankaj SK, Wan Z, Keener KM. Effects of cold plasma on food quality: A review. Foods. 2018;7(1):4.
25. 25. Taslikh M, Abbasi H, Mortazavian AM, Ghasemi JB, Naeimabadi A, Nayebzadeh K. Effect of cold plasma treatment, cross-linking, and dual modification on corn starch. Starch-Stärke. 2022;74(5-6):2200008.
26. Institute of Standards and Industrial Research of Iran . Determination of Patulin in Apple Juice and Its Products by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) — Test Method.1. ISIRI no 7438. 1rd revision, Karaj: ISIRI; 2004 [in Persian].
27. Bashiry M, Yazdanpanah H, Sadeghi E, Mirmoghtadaie L, Mortazavian AM, Mohammadi A, et al. Occurrence of aflatoxins in commercial cereal-based baby foods in Iran: A probabilistic risk assessment to health. Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR. 2021;20(3):31.
28. Shephard GS, Leggott NL. Chromatographic determination of the mycotoxin patulin in fruit and fruit juices. Journal of Chromatography A. 2000;882(1-2):17-22.
29. Murillo M G-PE, Amézqueta S. Determination of patulin in commercial apple juice by micellar electrokinetic chromatography. Food and chemical toxicology. 2008;46(1):57-64.
30. Câmara JS FP, Barros N, Perestrelo R. . Separations. An Improved Analytical Approach Based on µ-QuEChERS Combined with LC-ESI/MS for Monitoring the Occurrence and Levels of Patulin in Commercial Apple Juices. 2023;10(3):149.
31. Liu X, Wang L, Wang S, Cai R, Yue T, Yuan Y, et al. Detoxification of patulin in apple juice by enzymes and evaluation of its degradation products. Food Control. 2023;145:109518.
32. Xiao Y, Liu B, Wang Z, Han C, Meng X, Zhang F. Effective degradation of the mycotoxin patulin in pear juice by porcine pancreatic lipase. Food and Chemical Toxicology. 2019;133:110769.
33. Liu M, Zhang X, Luan H, Zhang Y, Xu W, Feng W, et al. Bioenzymatic detoxification of mycotoxins. Frontiers in Microbiology. 2024;15:1434987.
34. Li X, Peng X, Wang Q, Zuo H, Meng X, Liu B. Effective detoxification of patulin from aqueous solutions by immobilized porcine pancreatic lipase. Food Control. 2017;78:48-56.
35. Huang W, Chang J, Wang P, Liu C, Yin Q, Zhu Q, et al. Effect of the combined compound probiotics with mycotoxin–degradation enzyme on detoxifying aflatoxin B1 and zearalenone. The Journal of toxicological sciences. 2018;43(6):377-85.
36. Shirazi S, Ramezan Y, Moslehishad M, Marzdashti HG, Mirsaeedghazi H. Effects of cold atmospheric plasma on patulin degradation, polyphenol oxidase inactivation and other physicochemical properties of fresh-cut apple slices during storage. Food Chemistry. 2025;465:142017.
37. Siciliano I, Spadaro D, Prelle A, Vallauri D, Cavallero MC, Garibaldi A, et al. Use of cold atmospheric plasma to detoxify hazelnuts from aflatoxins. Toxins. 2016;8(5):125.
38. Kiš M, Milošević S, Vulić A, Herceg Z, Vukušić T, Pleadin J. Efficacy of low pressure DBD plasma in the reduction of T-2 and HT-2 toxin in oat flour. Food chemistry. 2020;316:126372.
39. Basaran P, Basaran-Akgul N, Oksuz L. Elimination of Aspergillus parasiticus from nut surface with low pressure cold plasma (LPCP) treatment. Food microbiology. 2008;25(4):626-32.
40. Sen Y, Onal-Ulusoy B, Mutlu M. Detoxification of hazelnuts by different cold plasmas and gamma irradiation treatments. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2019;54:252-9.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]

Detoxification Effect of Laccase Enzyme and Falling film Column Cold Plasma Technology for Patulin in Apple Juice

Asadollahmotlagh S[1], Abdolmaleki KH[2], Taslikh M[3], Javanmardi F[4], Mahmoodian F[5], Abbasi H[6], Bashiry M[7]*

1- MSc in Food Science and Technology, Dept. of Food Science and Technology, School of Nutrition Sciences and Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- Associated prof, Dept. of Food Science and Technology, School of Nutrition Sciences and Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

3- Assistant prof, of Toxicology Research Center, AJA University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, School of Nutritional Science and Dietetics, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

5- PhD Student, Dept. of Physics and Energy Engineering, Amirkabir University of Technology (Tehran Polytechnic), Tehran, Iran

6- Prof, Dept. of Energy Engineering and physics, Amirkabir University of Technology, Tehran, Iran

*7- *Corresponding author: Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, School of Nutrition Sciences and Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. Email: Moeinbashiry@gmail.com*

Received 17 Oct, 2025 **Accepted 1 Nov, 2025**

Background and Objective: Enzymes, like laccase, and novel technologies such as cold plasma have recently gained special importance in enhancing food safety. These approaches are capable of eliminating harmful toxins like patulin, a mycotoxin predominantly produced by fungi in fruits such as apples and their derived products. Due to their remarkable efficacy and preservation of sensory properties, these methods have attracted significant attention from. This study aimed to evaluate the individual and combined effects of laccase enzyme and falling film column atmospheric cold plasma technology on reducing patulin levels in apple juice.

Materials and Methods: In this study, both model and real apple juice samples were spiked with patulin at a concentration of 10 µg/kg. Laccase enzyme was added, and incubation was performed for 8, 16, 24, and 48 hours, after which the detoxification efficiency was assessed. Subsequently, the effect of falling film column atmospheric cold plasma, as well as its combined with the laccase enzyme, was investigated. Patulin detection was conducted using high-performance liquid chromatography with a UV detector, and data was analysed using STATA software.

Results: The results indicated that the laccase enzyme effectively reduced patulin content from the initial stages ($p<0.05$). The combined application of laccase and falling film column atmospheric cold plasma further enhanced the detoxification effect, achieving approximately 90% toxin reduction in a shorter time compared to individual treatments. These findings highlight the high efficiency and practical potential of the combined approach in improving the safety of apple juice.

Conclusion: Cold plasma and laccase enzyme, either individually or in combination, represent effective and promising methods for patulin degradation in apple juice and could be considered valuable strategies for enhancing product safety and quality.

Keywords: Patulin, Mycotoxin, Novel technologies, Laccase enzyme, Falling film column atmospheric Cold plasma

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-07-01]