

توسعه سامانه ترکیبی جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری هوا- آرگون به روش تخلیه مانع دی‌الکتریک و بررسی اثر آن بر آفلاتوکسین‌های B_1 , B_2 , G_1 و G_2 پسته

زهرا اسمعیلی^۱، بهرام حسین‌زاده سامانی^{۲*}، فیروزه نظری^۳، سجاد رستمی^۴ و علیرضا نعمتی^۵

چکیده

پسته یکی از محصولات صادراتی ایران است که از نظر استراتژیکی از جایگاه خاصی در بین تولیدات کشاورزی برخوردار است. آلودگی میوه پسته به انواع آفلاتوکسین‌ها باعث شده است که صادرات این محصول با ارزش، با محدودیت روبرو گردد. پلاسمای سرد (CP) یکی از فن‌آوری‌های غیرحرارتی است که به خوبی قادر است علاوه بر سترون‌سازی قارچ‌ها و توکسین‌های مواد غذایی، کیفیت مواد غذایی را حفظ نماید. در این پژوهش با استفاده از روش (DBD, Dielectric Barrier Discharge) سامانه‌ای جهت تولید پلاسمای سرد با استفاده از گازهای هوا و آرگون ساخته شد. سپس مشخصه‌یابی پلازما انجام گرفت. برای ارزیابی توانایی سیستم، تأثیر پلاسمای سرد بر کاهش آفلاتوکسین کل (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) در پسته بررسی شد. متغیرهای مستقل برای کاهش آفلاتوکسین شامل زمان قرار گرفتن در معرض پلازما (۵-۱۰-۱۵ دقیقه)، فاصله نمونه از نازل (۱-۱/۵-۲ سانتی‌متر)، نسبت ترکیب هوا و گاز آرگون (هوا + آرگون) (% ۵۰-۱۰۰) هستند. نتایج حاصل از تیمارها در سیستم پلاسمای سرد فشار اتمسفری نشان داد که افزایش زمان اعمال پلازما بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفلاتوکسین (B_1 , B_2 , G_1 , G_2) نسبت به سایر متغیرها دارد. پس از آن به ترتیب فاصله نمونه از نازل و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا بیشترین تأثیر را در کاهش آفلاتوکسین B_1 , B_2 و G_1 و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا و سپس فاصله نمونه از نازل به ترتیب بیشترین تأثیر را در کاهش آفلاتوکسین G_2 داشته‌اند. با توجه به نقاط بهینه به دست آمده در کاهش سم آفلاتوکسین، زمان اعمال پلازما ۱۳/۶۲ دقیقه، فاصله نمونه از نازل ۱/۳۷ سانتی‌متر و میزان ترکیب گاز آرگون و هوا ۵۰/۶۸ درصد، بیشترین مقدار کاهش سم را موجب می‌شود. بنابراین، این روش می‌تواند برای کاهش و یا از بین بردن سم آفلاتوکسین استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: پلاسمای سرد، آفلاتوکسین کل، پسته، تخلیه مانع دی‌الکتریک.

ارجاع: اسمعیلی ز.، حسین‌زاده سامانی ب.، نظری ف.، رستمی س. و نعمتی ع. ۱۴۰۰. توسعه سامانه ترکیبی جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری هوا- آرگون به روش تخلیه مانع دی‌الکتریک و بررسی اثر آن بر آفلاتوکسین‌های B_1 , B_2 , G_1 و G_2 پسته. نشریه پژوهش‌های مکانیک ماشین‌های کشاورزی. ۱۱۰-۹۵: ۲۱.

۱- دانشجوی دکتری گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲- دانشیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۳- دانش‌آموخته دکتری، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۴- دانشیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۵- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

* نویسنده مسئول: b.hosseinzadehsamani@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶

مقدمه

پسته یکی از محصولات صادراتی ایران است که به عنوان طلای سبز شهرت جهانی دارد و از نظر استراتژیک از جایگاه خاصی در بین تولیدات کشاورزی برخوردار است (Karbasi & Tawhidi, 2014). آلودگی میوه پسته به انواع آفات توکسین‌ها باعث شده است که صادرات این محصول با ارزش با محدودیت روبرو گردد (Bui-Klimke *et al.*, 2014).

آفات توکسین‌ها، متابولیت‌های ثانویه سرطان‌زایی هستند که عمدتاً توسط قارچ‌های آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس روی محصولات مختلف کشاورزی و فرآورده‌های آن‌ها تولید می‌شوند. میزان استاندارد آفات توکسین در اروپا 4 ppb است که این مقدار طبق قوانین معاونت غذا و داروی آمریکا برابر با 20 ppb است. میزان آفات توکسین در پسته ایرانی در بیش از 16% از نمونه‌ها بالاتر از استانداردهای اتحادیه اروپا است و به علت رقابت بسیار زیاد در بازار جهانی پسته، هر نوع آلودگی بیش از میزان استانداردهای تعیین شده منجر به جایگزینی پسته سایر کشورها با پسته ایرانی می‌شود (Jalili, 2016).

تاکنون روش‌های متعددی مانند انواع روش‌های فیزیکی، استفاده از مواد شیمیایی، روش‌های مکانیکی و یا بیولوژیکی برای کاهش تولید و یا حذف آفات توکسین‌ها استفاده و آزمایش شده‌اند که هر کدام از این روش‌ها مزایا و البته محدودیت‌ها و مضرات زیادی نیز دارند (Moradi & Hokmabadi, 2011). فرآوری حرارتی مواد غذایی بیش از دو قرن است که در حال استفاده است و هنوز هم روش اصلی پردازش مواد غذایی است که در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pankaj, 2015). استفاده از گرمای شدید منجر به اثرات نامطلوب مانند تغییر رنگ، بافت، از بین رفتن مواد مغذی و غیره می‌شود و محققان را به دنبال گزینه‌های غیر حرارتی برای فرآوری مواد غذایی تشویق می‌کند.

پلاسمای سرد (CP, Cold Plasma) یکی از فن‌آوری‌های غیر حرارتی است که از این نظر قابلیت قابل توجهی را برای این منظور نشان داده است. پلاسمای سرد، CP با استفاده از غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و جلوگیری از فساد مواد غذایی می‌تواند منجر به ماندگاری طولانی مدت محصولات غذایی گردد (Fernandez *et al.*,

2013). همچنین روش پلاسمای سرد به خوبی قادر است علاوه بر سترون‌سازی قارچ‌ها و توکسین‌های مواد غذایی، کیفیت مواد غذایی را حفظ نماید (Radhakrishnan *et al.*, 2016).

از آنجایی که برای تولید پلاسمای سرد فشار اتمسفری شرایط پیچیده‌ای مورد نیاز نیست، این نوع پلاسمای مناسب استفاده در صنایع مختلف هستند (Moreau *et al.*, 2008).

تطبیق‌پذیری منابع تولید پلاسمای سرد، طرح‌های بی نظیری را ارائه می‌دهد که با تجهیزات فعلی صنایع غذایی سازگار است. معمولاً در فرآوری مواد غذایی از تخلیه سد دی الکتریک و پلاسمای جت استفاده می‌شود. دستگاه‌های تخلیه مانع دی الکتریک (DBD, Dielectric barrier discharge) از دو الکترود فلزی تشکیل شده‌اند که حداقل یکی از این الکترودها با یک سد دی الکتریک پوشانده شده است. موانع دی الکتریک به عنوان یک ماده تثبیت کننده عمل کرده و از هرگونه انتقال قوس جلوگیری می‌کنند و همچنین ایجاد تعداد زیادی ریزتخلیه برای تیمارهای همگن کمک کننده‌اند. همچنین دستگاه‌های پلاسمای جت از دو الکترود متمرکز تشکیل شده‌اند، جایی که الکترود داخلی به طور معمول به یک فرکانس رادیویی در فرکانس بالا متصل و باعث یونیزاسیون گاز می‌شود که از نازل خارج شده و ظاهری مانند جت را نشان می‌دهد (Pankaj & Keener, 2017).

از میان انواع مختلف این پلاسمای جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد خود در کاربردهای صنعتی و زیستی بسیار متداول شده است. علاوه بر مزیت‌های کلی پلاسمای سرد فشار اتمسفری، این پلاسمای توانایی انتشار به فواصل دور از فاصله الکترودی را دارد. همچنین استفاده از آرگون به عنوان گاز زمینه باعث کاهش هرچه بیشتر دما در این پلاسمای می‌شود و آن را برای کار با سطوح حساس به گرما بیش از پیش مطلوب می‌کند (Sohbatzadeh *et al.*, 2016).

با توجه به اینکه آلودگی میوه پسته به قارچ آسپرژیلوس فلاووس و سم آفات توکسین چالش اصلی صادرات این محصول برای کشور ایران به عنوان یکی از بزرگ‌ترین تولیدکننده‌های پسته در دنیا است، توسعه سامانه‌ای جهت از بین بردن قارچ آسپرژیلوس فلاووس و آفات توکسین به نحوی که باعث کاهش کیفیت و خواص

اعمالی در ایجاد پلاسما و در طول جت بسیار مؤثر است (Sohbatzadeh *et al.*, 2010). معمولاً از گازهای نجیب مانند هلیوم یا آرگون به عنوان گاز ورودی استفاده می‌شود. زیرا تمایل گازهای نجیب برای شرکت در واکنش‌های شیمیایی بسیار کم است. همچنین، این گازها تک اتمی بوده و در مقایسه با گازهای دو یا چند اتمی انرژی کمتری برای یونیزه کردن آن‌ها نیاز است. از طرفی انرژی یونیزاسیون گاز آرگون (15.67 eV) از انرژی یونیزاسیون گاز هلیوم (24.28 eV) کمتر است و پلاسمای گاز آرگون راحت‌تر از گاز هلیوم تشکیل می‌شود (Li *et al.*, 2006). همچنین، هزینه تولید پلاسما با گاز آرگون کمتر از هزینه پلاسمای گاز هلیوم است. بر این اساس، از گاز آرگون به عنوان گاز اولیه برای تولید پلاسما استفاده شد. با توجه به اینکه هوا شامل اکسیژن و نیتروژن بوده که از گازهای تأثیرگذار در تولید پلاسما است و از سوی دیگر منبعی رایگان و در دسترس محسوب می‌گردد، در این پژوهش ترکیب نسبت‌های مختلف هوا و آرگون برای تولید پلاسما مورد بررسی قرار گرفت و جت مورد نظر با توجه به شدت انرژی یونیزاسیون هوا و آرگون طراحی شد. پس از انتخاب گاز ورودی، مرحله بعدی تعیین ولتاژ لازم برای ایجاد پلاسما است.

تعیین ولتاژ شکست

کمینه ولتاژ لازم که باید برای شکست گاز و تشکیل پلاسما به کار گرفته شود، ولتاژ شکست (V_B) نامیده می‌شود (Misra *et al.*, 2016). می‌توان ولتاژ شکست گازهای مختلف را بر حسب فاصله الکترودها از هم و فشار محیط تشکیل پلاسما به دست آورد و منحنی آن‌ها را رسم نمود. این منحنی‌ها که به منحنی پاشن معروف هستند برای گازهای مختلف ترسیم شده‌اند و در دسترس هستند (شکل ۱). از این رو در این پژوهش ولتاژ شکست به کمک منحنی پاشن تعیین شد.

همان‌طور که بیان شد گاز استفاده شده در این پژوهش، آرگون خالص، هوای خالص و یا ترکیبی از آرگون و هوا است. هوا به طور عمده از دو عنصر نیتروژن (۷۸٪) و اکسیژن (۲۱٪) تشکیل شده است (Shah *et al.*, 2018). از طرفی نیتروژن یک گاز دو اتمی است که بین اتم‌های آن پیوند کووالانسی قوی وجود دارد. برای یونیزه کردن نیتروژن، این پیوند باید شکسته شود. انرژی لازم برای

پسته نشود ضرورت پیدا می‌کند. مطالعاتی در این زمینه انجام شده است که می‌توان نتیجه گرفت روش پلاسمای سرد می‌تواند در کاهش سم آفلاتوکسین مؤثر باشد (Gavahian & Cullen, 2020; Devi *et al.*, 2017; Siciliano *et al.*, 2016; Wielogorska *et al.*, 2019). از آنجایی که پلاسمای سرد فشار اتمسفری و کاربردهای آن یک علم نوپا است، این مطالعات کافی نیستند و نیاز به بررسی بیشتری دارند. به همین علت در این پژوهش یک سیستم ترکیبی پلاسمای سرد توسعه داده شد تا بهترین عملکرد و حداقل اثرات منفی را بر محصولات داشته باشد. روش تخلیه مانع دی‌الکتریک دارای مزایای زیادی از جمله نداشتن پسماندهای گازی، هزینه کم، عدم نیاز به خلاء، محافظت الکترودها در برابر خوردگی بخاطر وجود دی‌الکتریک، تولید این نوع تخلیه در دامنه وسیعی از فشار، غیرتعادلی بودن این پلاسما و درنهایت پایین بودن دمای آن و همچنین، هندسه انعطاف‌پذیر تخلیه‌های مانع دی‌الکتریک است (Misra *et al.*, 2016). به همین علت در این مطالعه از سیستم ترکیبی جت پلاسمای سرد هوا - آرگون فشار اتمسفری به روش تخلیه مانع دی‌الکتریک برای کاهش یا حذف آفلاتوکسین پسته بدون دخالت میدان الکتریکی استفاده شد. همچنین ارزیابی این سیستم از اهداف این مطالعه بود.

مواد و روش‌ها

طراحی و ساخت سامانه پلاسمای سرد

ویژگی‌های پلاسما، تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله ساختار هندسی سامانه تولید پلاسما، شکل و نحوه قرارگیری الکترودها، ولتاژ اعمال شده، فرکانس اعمال شده، جریان الکتریکی و خواص ذاتی و سیالی گاز قرار دارند (Li *et al.*, 2009). در این پژوهش جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری با روش تخلیه مانع دی‌الکتریک برای تولید پلاسما طراحی شد. پیکربندی سامانه ساخته شده شامل دو الکترود هم‌محور بود.

انتخاب نوع گاز

اولین مرحله در ساخت سامانه‌های تولید پلاسما، انتخاب گاز ورودی است. از گازهای مختلفی همچون آرگون، نیتروژن، اکسیژن و ترکیب آن‌ها در تولید جت پلاسما استفاده می‌شود. نوع گاز، میزان سرعت شارش گاز و ولتاژ

(*al.*, 2010). منبع تغذیه با ولتاژ - فرکانس متغیر و با قابلیت تنظیم ولتاژ در محدوده صفر تا ۲۰ kV و فرکانس در محدوده ۶ تا ۲۰ kHz بود. این منبع تغذیه دارای یک کلید تنظیم ولتاژ و یک کلید تنظیم فرکانس است. همچنین، برای نمایش ولتاژ و فرکانس خروجی منبع تغذیه، از یک مولتی متر استفاده شد که توسط کابل به منبع تغذیه متصل است و اعداد متناسب با ولتاژ و فرکانس تنظیمی را با دقت ۰/۱ نشان می دهد. منبع تغذیه دارای دو کابل خروجی بوده که یکی از آن ها به الکتروود مرکزی به عنوان الکتروود قدرت و دیگری به الکتروود حلقوی به عنوان الکتروود زمین متصل شدند. آنچه سبب تشکیل پلاسمای می شود اختلاف پتانسیل بین این دو الکتروود است. نسبت ورود گاز آرگون و هوا توسط فلومتر تنظیم شد. برای قرار دادن نمونه زیر جت پلاسمای، یک پایه مدرج دارای صفحه نگهدارنده قابل تنظیم در دستگاه تعبیه شد. شکل های ۲- الف و ۲- ب به ترتیب طرح واره ای از دستگاه سامانه تولید پلاسمای سرد فشار اتمسفری و شکل واقعی دستگاه را نشان می دهند.

پارامترهای مورد نیاز جهت توسعه سامانه براساس اصول طراحی و روابط حاکم تعیین شدند. قدرت غیر فعال سازی و یا حذف سم آفلاتوکسین تابعی از یون های تولید شده به وسیله سیستم تولید پلاسمای است. میزان یون های تولیدی نیز تابعی از شدت میدان الکتریکی تولید شده در فضای بین الکتروودها و در سطح الکتروودها است. میدان الکتریکی تولید شده در سطح الکتروودها و در فضای بین آن ها از معادلات (۱) تا (۳) محاسبه گردید (*Misra et al.*, 2016). بنابراین از این معادلات به منظور توسعه سامانه تولید پلاسمای استفاده شد.

$$E_d = \frac{V \varepsilon_g}{2l_d \varepsilon_g + l_g \varepsilon_d} \quad (1)$$

$$E_g = \frac{V \varepsilon_d}{2l_d \varepsilon_g + l_g \varepsilon_d} \quad (2)$$

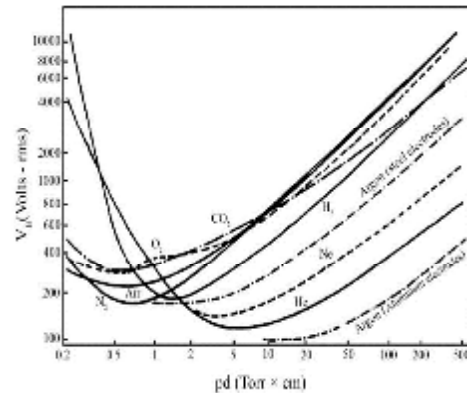
$$V = 2l_d E_d + l_g E_g \quad (3)$$

معادله بین متوسط شدت میدان الکتریکی در دی الکتریک و شدت میدان الکتریکی شکاف تخلیه پلاسمای طبق معادله (۴) بیان می شود.

$$E_d/E_g = \varepsilon_g/\varepsilon_d \quad (4)$$

در معادلات (۱)، (۲)، (۳) و (۴)، E_d متوسط شدت میدان الکتریکی در دی الکتریک بر حسب kV/cm، E_g شدت میدان الکتریکی شکاف تخلیه بر حسب kV/cm،

تفکیک اتم های نیتروژن ۱/۹ eV و انرژی لازم برای یونیزه کردن آن ها ۵۳/۱۴ eV است (*Gyr et al.*, 2019). مجموع این انرژی ها بیشتر از انرژی لازم برای یونیزه کردن اکسیژن و آرگون است. بنابراین، در این پژوهش از ولتاژ شکست نیتروژن به عنوان ولتاژ شکست ترکیب گازهای هوا و آرگون استفاده شد و مقدار آن با محاسبه $(V=pd)$ از شکل ۱ به دست آمد. p در این پژوهش برابر با ۱ atm و مقدار d برابر با ۶ mm هستند.



شکل ۱- منحنی پاشن برای چند گاز مختلف (Chen, 2016)

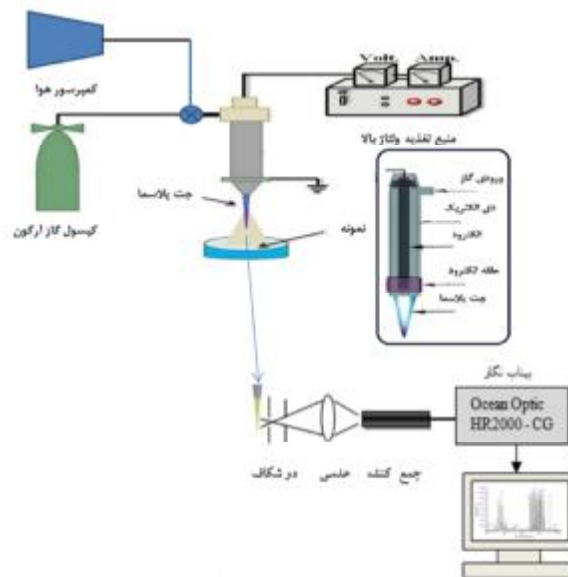
توسعه جت هوا/آرگون پلاسمای بر پایه تخلیه سد دی الکتریک

سامانه ساخته شده شامل دو الکتروود هم محور است که یکی از آن ها به صورت یک سیم راست در مرکز قرار دارد. با توجه به اینکه دمای ذوب تنگستن بیش از ۳۰۰۰C است و با اتصال آن به ولتاژ بالا، ذوب نمی شود (*Guroi et al.*, 2012). جنس الکتروود مرکزی از تنگستن انتخاب شد. قطر این الکتروود برابر با ۲ mm و طول آن ۸/۵ cm است. به فاصله مشخص از این الکتروود، الکتروود حلقوی قرار دارد. الکتروود حلقوی به صورت یک حلقه مسی به ضخامت ۱ mm و طول ۱ cm و شعاع داخلی ۶ mm و هم محور با الکتروود مرکزی بر روی یک لوله سد دی الکتریک قرار گرفته است. با توجه به ظرفیت الکتریکی بالای سرامیک و مقاومت آن در برابر شکست الکتریکی ناشی از اعمال ولتاژ بالا و خصوصیات عایق بودن آن، جنس سد دی الکتریک از سرامیک انتخاب شد. در این پژوهش از یک منبع تغذیه AC ولتاژ متغیر و فرکانس متغیر استفاده شد. زیرا تولید پلاسمای سرد با استفاده از منبع تغذیه DC در مقایسه با منبع AC سبب تخریب بیشتر مواد مغذی موجود در محصولات غذایی می شود (*Korachi et*

با استفاده از یک فلومتر نسبت ترکیب هوا و آرگون کنترل می‌شد. همچنین برای تنظیم فاصله نمونه از نازل، پایه نگهدارنده دستگاه درجه‌بندی و صفحه‌ای با قابلیت جابجایی برای نگهداری نمونه در زیر جت پلاسما تعبیه گردید. در این پژوهش جهت اطمینان از اینکه یونیزاسیون به طور کامل انجام گیرد، شدت توان در محدوده ایجاد پلاسما 43 W/cm^2 در نظر گرفته شد. همچنین حداقل توان منبع تغذیه به کار گرفته شده 175 W است. به این ترتیب همه پارامترهای مربوط به ساخت نازل تعیین شدند.



(ب)



(الف)

شکل ۲- الف) طرحواره سامانه تولید پلاسما ب) دستگاه پلاسما

پلاسما به کامپیوتر، توسط طیف‌سنج از فیبر نوری متصل به آن استفاده شد. برای این کار فیبر نوری طیف‌سنج به صورت عمود بر محور نازل و در فاصله افقی 2 cm از جت پلاسما و $1/5 \text{ cm}$ از خروجی نازل قرار داده شد.

ارزیابی اثر پلاسما در کاهش یا حذف سم آفاتوکسین

به منظور بررسی اثر پلاسما بر کاهش یا حذف سم آفاتوکسین در محصول پسته، فاصله نمونه از نازل، نوع گاز و مدت زمان اعمال پلاسما بررسی شدند. در این پژوهش اثر ۲ نوع گاز هوا و آرگون و ترکیب این ۲ گاز، فاصله نمونه از نازل ($1/5-2$) سانتی‌متر و تأثیر ۳ زمان

ولتاژ منبع تغذیه برای تولید پلاسما بر حسب kV ، ϵ_g ثابت هدایت الکتریکی گاز مورد استفاده برای تشکیل پلاسما ($\epsilon_g = 1$)، ضریب دی‌الکتریک، l_g فاصله بین الکترودها و l_d ضخامت دی‌الکتریک بر حسب cm هستند. ضخامت لایه دی‌الکتریک 9 mm در نظر گرفته شد. به انتهای دی‌الکتریک یک سه راهی متصل است، که از آن برای ورود گاز به نازل، ورود سیم اتصال به الکتروود مرکزی و نگه داشتن دی‌الکتریک استفاده شد. الکتروودها به وسیله یک کابل فشار قوی به منبع تغذیه متناوب متصل شدند. از یک دبی سنج با دقت $1 \frac{L}{min}$ برای تنظیم دبی گاز ورودی استفاده شد.

طیف‌سنجی نوری

روش طیف‌سنجی نوری یکی از روش‌های رایج برای تعیین برخی پارامترهای پلاسما از قبیل چگالی گونه‌های عناصر مختلف حاصل از پلاسما است. اساس این روش بررسی طیف‌های تابش نوری منتشر شده توسط مولکول‌ها یا اتم‌های برانگیخته یا در حالت پایه است. همچنین، از این روش برای شناسایی گونه‌های موجود در پلاسما استفاده می‌شود (Han et al., 2010). در این پژوهش برای شناسایی گونه‌های حاصل از پلاسما از طیف‌سنج Ocean Optic مدل HR2000 + CG ساخت کشور انگلستان استفاده شد. این طیف‌سنج طول موج‌های 200 تا 900 نانومتر را ثبت می‌کند. برای انتقال طیف نوری حاصل از

هوا به مدت ۵ تا ۱۰ ثانیه خشک گردید. جهت شستشوی آفلاتوکسین‌ها از ستون، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول (MeOH- HPLC) به ستون اضافه و در یک ویال جمع آوری گردید و پس از آن ۱/۵ میلی‌لیتر آب مخصوص HPLC به ویال اضافه و پس از ورتکس کردن و عبور از صافی ۴۵ میکرومتر مقدار ۱۰۰ میکرو لیتر از آن به دستگاه HPLC تزریق گردید. برای تخمین کمی آفلاتوکسین‌ها از منحنی استاندارد (مخلوط آفلاتوکسین Sigma, Germany) با غلظت‌های مختلف و پس از احتساب ضریب رقت و بازیافت استفاده گردید.

روش تحلیل، مدل‌سازی و بهینه‌سازی آزمایش

در این بخش با استفاده از روش سطح پاسخ شرایط بهینه جهت کاهش یا حذف سم آفلاتوکسین در نمونه‌ها و کمینه کردن زمان فرآیند تعیین شدند. روش سطح پاسخ مجموعه‌ای از فنون ریاضی و آماری است که برای توسعه، پیشبرد و بهینه‌سازی فرآیندهایی به کار می‌رود که در آن‌ها سطح مورد نظر تحت تأثیر متغیرهای بسیاری قرار داشته و هدف، بهینه کردن پاسخ مزبور است. به‌کارگیری روش سطح پاسخ برای مشخص کردن روابط بین پاسخ و متغیرهای مستقل در یک پروژه، شامل سه مرحله زیر است (Hosseinzadeh Samani *et al.*, 2020):

مرحله اول: تعیین متغیرهای مستقل، سطوح مورد آزمایش و نوع طرح آزمایش؛ مرحله دوم: پیش‌بینی و تحقیق صحت معادله مدل و مرحله سوم: به دست آوردن نمودار منحنی‌های هم پاسخ و نقشه خطی پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل و نیز تعیین نقاط بهینه. به منظور به‌دست آوردن مقدار بهینه، از حل معادله (۵) استفاده شد (Hosseinzadeh Samani *et al.*, 2020).

$$Y_i = \beta_0 + \sum B_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (5)$$

که در آن، β_0 ، β_i و β_{ii} ضرایب ثابت، X_i و X_{ij} متغیرهای مستقل در فرآیند و ε خطای تصادفی هستند. در این آزمایش از طرح باکس بنکن با پنج نقطه مرکزی، مدل درجه دو و ۱۷ آزمایش استفاده شد. با توجه به منابع موجود دامنه تغییرات متغیرهای مستقل در آزمایش مطابق جدول ۱ انتخاب شدند (Hosseinzadeh Samani *et al.*, 2020).

(۵-۱۰-۱۵) دقیقه بر کاهش و یا حذف سم آفلاتوکسین B_1, B_2, G_1, G_2 در دوز ثابت ۲۰ ppb و ولتاژ ثابت ۲۰ kV بررسی شدند.

تهیه و تلقیح سم

قبل از تلقیح سم، به طور تصادفی ۵۰ گرم از پسته‌های تهیه شده انتخاب و بررسی آفلاتوکسین توسط HPLC^۱ بر روی آن انجام شد تا از سالم بودن نمونه‌ها اطمینان حاصل شود. سم آفلاتوکسین کل از شرکت Sigma تهیه شد. جهت تعیین اثر پلاسمای بر کاهش سم آفلاتوکسین پسته، نمونه‌ها با دوز مناسبی (۲۰ ppb) از سم آفلاتوکسین تلقیح شدند تا پس از اعمال فرآیند مورد نظر میزان کاهش مقدار آن توسط HPLC تعیین شود.

روش بررسی آفلاتوکسین به روش HPLC

اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین با روش HPLC و خالص‌سازی با ستون ایمینوآفینیتی و بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۶۸۷۲ و به شرح ذیل انجام شد (Anonymous, 2011).

عصاره‌گیری: پسته خام خشک شده مورد استفاده در این تحقیق از رقم اکبری در سال ۱۳۹۸ از شهرستان رفسنجان در استان کرمان تهیه شد. پسته‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی (Roemer < Canada) آسیاب شدند و سپس از الک مشبک سایز ۲۰ عبور داده شدند. ۱۰ عدد پسته به وزن ۱۰ گرم انتخاب شد و همه اعداد استاندارد بر ۵ تقسیم شدند. به ۱۰ گرم نمونه خمیر شده، ۱ گرم NaCl، ۲۴ میلی‌لیتر متانول خالص و ۲۰ میلی‌لیتر آن‌هگزان اضافه و به مدت ۳ دقیقه با سرعت بالاتوسط لرزاننده آزمایشگاهی مخلوط گردید. پس از جداسازی جزء آن‌هگزان از عصاره حاصل به مقدار ۴ میلی‌لیتر از عصاره فیلتر شده ۲۴ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و از کاغذ صافی عبور داده شد. پس از رساندن ستون ایمینوآفینیتی به دمای آزمایشگاه، مقدار ۲ میلی‌لیتر بافر (PBS, Phosphate Buffer Solution) از آن عبور داده شد. سپس ۱۴ میلی‌لیتر از عصاره رقیق شده از ستون، با سرعت یک قطره در ثانیه عبور داده شد. در مرحله بعد ستون با ۳ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده شد و با عبور فشار ملایم

اتم‌های آرگون در محدوده طول‌موج ۹۵۰-۶۵۰ نانومتر قابل مشاهده هستند. از آنجایی که تولید پلاسما در هوای محیط انجام شد، اثر گونه‌های حاصل از پلاسمای آرگون بر عناصر تشکیل دهنده هوا و برخورد بین آن‌ها سبب تولید گونه‌هایی مانند NOx در محدوده UV، N₂ (nm) ۳۳۶/۹، N⁺ (nm) ۳۵۷/۶، N₂⁺ (nm) ۳۷۵/۴ و OH (nm) ۳۰۵-۳۱۲ گردید. طیف‌های مربوط به اتم‌های عناصر سازنده هوا در محدوده طول موج ۲۰۰-۹۰۰ نانومتر در شکل ۳-ب قابل مشاهده است.

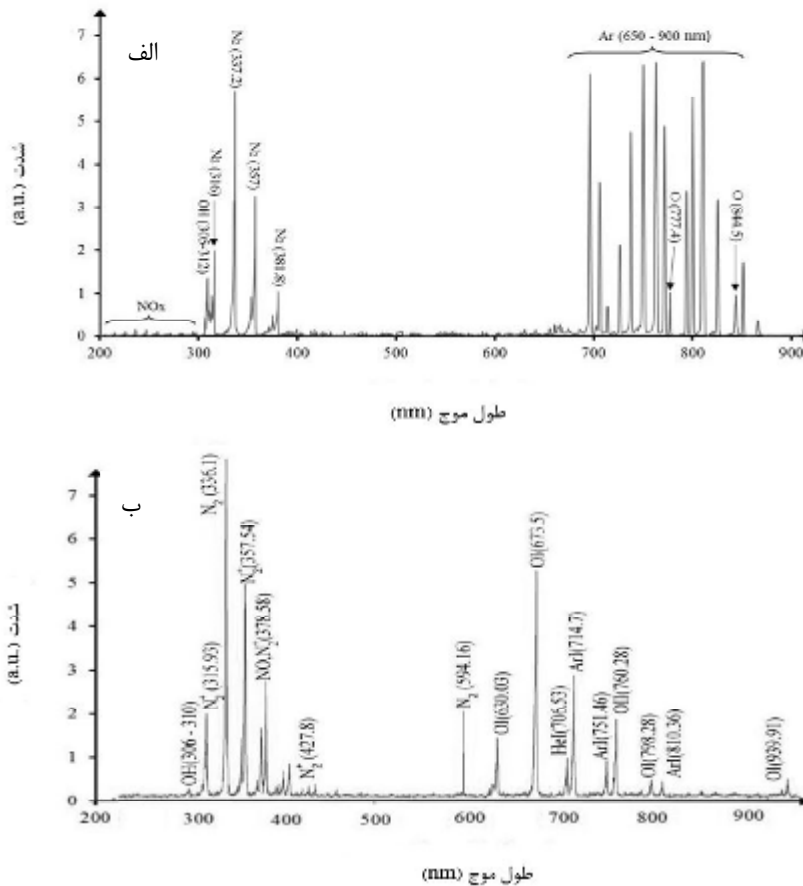
جدول ۱- سطوح متغیرهای مستقل انتخاب شده در روش

سطح پاسخ برای سم آفلاتوکسین			
متغیرهای مستقل	سطوح کدبندی		
	-۱	۰	۱
زمان اعمال پلاسما (دقیقه)	۵	۱۰	۱۵
فاصله نمونه از نازل (سانتی‌متر)	۱	۱/۵	۲
نسبت هوا به گاز ترکیبی (هوا+آرگون)	۰	۰/۵	۱

نتایج و بحث

نتایج طیف سنجی جت پلاسما

نتایج طیف‌سنجی آرگون و پلاسمای هوا در شکل ۳ نشان داده شده است. با توجه به این شکل، طیف‌های مربوط به



شکل ۳- طیف سنجی نوری پلاسمای حاصل از گازهای الف) آرگون و ب) هوا

اثر پلاسمای سرد بر آفلاتوکسین B₁ و B₂

برای ارزیابی تأثیر متغیرهای مستقل فرآیند بر کاهش سم آفلاتوکسین B₁ و B₂ مطابق جدول ۳ و ۴، تأثیر همه عوامل به جز برهم‌کنش نسبت ترکیب گاز Ar ورودی (A)×فاصله نمونه از نازل (C) در سطح احتمال ۱٪

بررسی اثر پلاسمای سرد در کاهش سم آفلاتوکسین

نتایج به دست آمده از تیماردهی پسته‌های تلقیح شده با آفلاتوکسین توسط پلاسمای سرد در جدول ۲ قابل مشاهده است.

نمونه از نازل را در کاهش میزان سم آفلاتوکسین (B_1) و (B_2) نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل ۴- الف و ۵- الف مشخص است با افزایش زمان اعمال پلازما از ۵ به ۱۵ دقیقه، درصد کاهش سم آفلاتوکسین به ترتیب ۷۲/۹۲٪ و ۷۰/۷۳٪ افزایش می‌یابد. همچنین اثر نسبت ترکیب گاز آرگون و هوا بر کاهش سم آفلاتوکسین در نمودار نشان داده شده است. با افزایش مدت زمان اعمال پلازما، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS, Reactive Oxygen Species) تولید می‌شوند. RS عمدتاً از ROS تشکیل می‌شود که عامل اصلی تخریب آفلاتوکسین است. هرچه زمان اعمال پلازما بیشتر باشد، RS بیشتری تولید شده و سم‌زدایی بیشتر اتفاق می‌افتد (Sakudo *et al.*, 2017; Shi, Ilejji, *et al.*, 2017; Wielogorska *et al.*, 2019). تأثیر گاز هوا در کاهش سم آفلاتوکسین B_1 و B_2 نسبت به گاز آرگون بیشتر است. در زمان ۵ دقیقه و فاصله ۱/۵ سانتی‌متر نمونه از نازل، گاز آرگون و هوا به ترتیب سبب کاهش ۲۰ درصد و ۲۲/۳۵ درصد آفلاتوکسین نوع B_1 و B_2 و ۱۹/۸ درصد و ۲۳/۲۵ درصد آفلاتوکسین نوع B_2 شد. هنگامی که به نسبت مساوی از گاز آرگون و هوا (۵۰٪) با هم ترکیب شده‌اند، بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفلاتوکسین B_1 و B_2 داشته‌اند.

معنی‌دار بوده است. با توجه به معنادار شدن مدل در سطح احتمال ۱٪، معنی‌دار نشدن عدم برازش و ضریب تعیین R^2 ۰/۹۹۹۵ مدل از دقت کافی برخوردار بوده است.

بر اساس طرح Box-Behnken و نتایج حاصل از آزمایشات، معادله کدبندی شده برای آفلاتوکسین‌های B_1 و B_2 به ترتیب به صورت زیر به دست آمدند.

$$B_1 = 79.84 - 8.31 \times A + 22.2 \times B - 1.63 \times C - 7.2 \times A \times B - 1.5 \times B \times C - 40.41 \times A^2 + 4.64 \times B^2 - 12.98 \times C^2 \quad (6)$$

$$B_2 = 79.14 - 6.43 \times A + 22.56 \times B - 1.32 \times C - 4.88 \times A \times B - 1.64 \times B \times C - 39.18 \times A^2 + 4.79 \times B^2 - 13.82 \times C^2 \quad (7)$$

در معادلات (۶) و (۷)، (A) درصد ترکیب گاز آرگون و هوا، (B) زمان بر حسب دقیقه و (C) فاصله نمونه از نازل بر حسب (cm) هستند. همچنین پارامترهایی که ضریب همبستگی بالاتری دارند، تأثیرگذاری بیشتری در کاهش سم آفلاتوکسین دارند. با توجه به ضرایب همبستگی معادلات (۶) و (۷)، می‌توان ادعا کرد که زمان اعمال پلازما بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفلاتوکسین B_1 و B_2 داشته است. پس از آن به ترتیب فاصله نمونه از نازل و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا بیشترین تأثیر را در کاهش آفلاتوکسین B_1 و B_2 داشته‌اند. شکل ۴ و ۵ نمودار سه‌بعدی الف) اثر درصد ترکیب گاز ورودی آرگون و هوا و زمان اعمال پلازما و ب) اثر زمان اعمال پلازما و فاصله

جدول ۲- نتایج کاهش مقدار آفلاتوکسین‌های B_1, B_2, G_1, G_2 پس از تیماردهی توسط پلاسمای سرد

شماره آزمایش	فاکتورها			نتایج			
	A:Ar	B:Time	C:distance	G1	G2	B2	B1
۱	۵۰	۵	۲	۴۱	۳۶/۲	۴۸/۴	۵۰
۲	۵۰	۱۵	۱	۸۰/۱	۷۸	۹۵/۱	۹۶
۳	۱۰۰	۱۵	۱/۵	۴۱/۶	۴۶/۷۵	۵۶/۵	۵۱/۴
۴	۰	۵	۱/۵	۱۳	۹/۲۵	۲۲/۲۵	۲۲/۳۵
۵	۵۰	۱۰	۱/۵	۶۸	۶۵/۲	۷۹/۳	۸۰
۶	۱۰۰	۱۰	۲	۱۳/۴	۱۳/۲۵	۱۸/۱	۱۶
۷	۵۰	۱۰	۱/۵	۶۷/۷	۶۴/۹	۷۹	۷۹/۷
۸	۰	۱۰	۱	۲۰/۶	۱۵/۲	۳۳	۳۶
۹	۱۰۰	۵	۱/۵	۱۱/۵	۱۲/۲۵	۱۹/۸	۲۰
۱۰	۵۰	۱۵	۲	۷۳	۷۰	۸۸/۹	۹۰
۱۱	۵۰	۱۰	۱/۵	۶۷/۵	۶۴/۷	۷۸/۸	۷۹/۵
۱۲	۵۰	۱۰	۱/۵	۶۸/۷	۶۵/۹	۸۰	۸۰/۷
۱۳	۵۰	۱۰	۱/۵	۶۷/۳	۶۴/۵	۷۸/۶	۷۹/۳
۱۴	۰	۱۰	۲	۲۰	۱۳/۸	۳۱/۸	۳۳/۴
۱۵	۵۰	۵	۱	۴۱/۲۵	۳۷/۲۵	۴۸/۰۵	۵۰
۱۶	۱۰۰	۱۰	۱	۱۶/۹۵	۱۶/۹	۲۱/۶۵	۲۰/۴
۱۷	۰	۱۵	۱/۵	۵۳/۸	۴۵/۷۵	۷۹/۴۵	۸۲/۵۵

جدول ۳- نتایج تجزیه تحلیل آماری از مدل درجه دوم سطح پاسخ برای کاهش سم آفلاتوکسین B₁ توسط سیستم پلاسمای سرد

F Value	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع تغییر
۲۰۷۰/۲۶**	۱۵۷۲/۹۵	۸	۱۲۵۸۲/۵۸	مدل
۷۲۷/۵۵**	۵۵۲/۷۸	۱	۵۵۲/۷۸	A-Ar
۵۱۸۹/۲۸**	۳۹۴۲/۷۲	۱	۳۹۴۲/۷۲	B-Time
۲۷/۸**	۲۱/۱۳	۱	۲۱/۱۳	C-distance
۲۷۲/۹۲**	۲۰۷/۳۶	۱	۲۰۷/۳۶	AB
۱۱/۸۵**	۹	۱	۹	BC
۹۰۴۸/۴**	۶۸۷۴/۸	۱	۶۸۷۴/۸	A ^۲
۱۱۹/۴۴**	۹۰/۷۵	۱	۹۰/۷۵	B ^۲
۹۳۴/۰۴**	۷۰۹/۶۶	۱	۷۰۹/۶۶	C ^۲
	۰/۷۶	۸	۶/۰۸	باقیمانده
ns۴/۱	۱/۲۲	۴	۴/۸۹	عدم برازش
	۰/۳	۴	۱/۱۹	خطای خالص
		۱۶	۱۲۵۸۹/۶۶	کل

جدول ۴- نتایج تجزیه تحلیل آماری از مدل درجه دوم سطح پاسخ برای کاهش سم آفلاتوکسین B₂ توسط سیستم پلاسمای سرد

F Value	میانگین مربعات	درجه آزادی	مجموع مربعات	منبع تغییر
۱۸۴۷/۷۳**	۱۵۰۸/۱	۸	۱۲۰۶۴/۷۸	مدل
۴۰۵/۴۱**	۳۳۰/۸۹	۱	۳۳۰/۸۹	A-Ar
۴۹۸۶/۹۴**	۴۰۷۰/۲۸	۱	۴۰۷۰/۲۸	B-Time
۱۷/۲۱**	۱۴/۰۵	۱	۱۴/۰۵	C-distance
۱۱۶/۴۷**	۹۵/۰۶	۱	۹۵/۰۶	AB
۱۳/۱۴**	۱۰/۷۳	۱	۱۰/۷۳	BC
۷۹۲۰/۱**	۶۴۶۴/۲۹	۱	۶۴۶۴/۲۹	A ^۲
۱۱۸/۴۹**	۹۶/۷۱	۱	۹۶/۷۱	B ^۲
۹۸۵/۲۹**	۸۰۴/۱۸	۱	۸۰۴/۱۸	C ^۲
	۰/۸۲	۸	۶/۵۳	باقیمانده
ns۴/۴۸	۱/۳۳	۴	۵/۳۴	عدم برازش
	۰/۳	۴	۱/۱۹	خطای خالص
		۱۶	۱۲۰۷۱/۳۱	کل

**معنادار شدن در سطح احتمال ۱٪ و ns نشان دهنده معنادار نبودن

مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند افزایش زمان تیماردهی با پلاسمای سرد سبب افزایش تخریب آفلاتوکسین در نمونه می‌شود. همچنین APPJ یک روش مناسب برای درمان آفلاتوکسین است (Iqdiam et al., 2020). در پژوهشی واکنش عوامل اکسیدکننده پلاسمای سرد را با AFB₁ بررسی کردند. دریافتند که تخریب AFB₁ در پیوند دوگانه حلقه‌های دی هیدروپوران AC به ۹C رخ می‌دهد. مسیر تخریب در درجه اول شامل اضافه شدن متوالی یک مولکول آب، یک اتم هیدروژن یا یک گروه آلدهید به AFB₁ یا واکنش‌های اکسیداسیون و اکسیداسیون توسط عملکرد هیدروپراکسید رادیکال (YHO) بود (Chen et al., 2014; Diao et al., 2013).

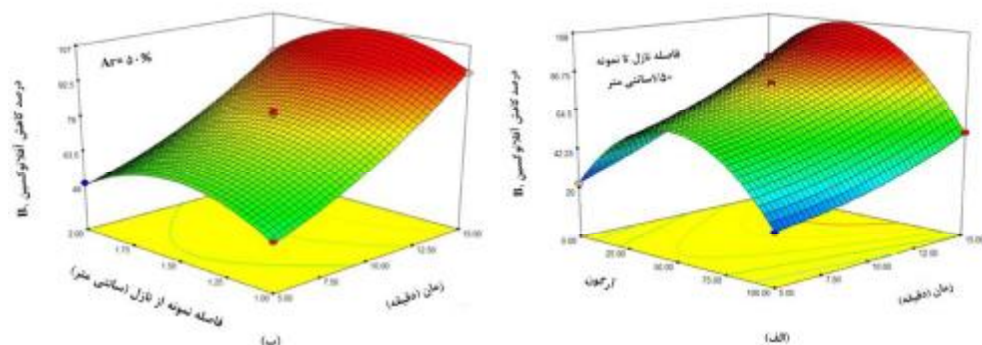
با توجه به شکل ۴- ب و ۵- ب با افزایش فاصله نمونه از نازل از ۱ cm به ۱/۵ cm، درصد کاهش آفلاتوکسین B₁ و B₂ به ترتیب ۱۹/۹۱٪ و ۲۱/۸۹٪ افزایش یافته است. با افزایش فاصله نمونه از نازل از ۱/۵ cm به ۲ cm درصد کاهش آفلاتوکسین B₁ و B₂ به ترتیب ۲۳/۱۱٪ و ۳۲/۲۱٪ کاهش یافته است.

در مطالعه‌ای اثر پلاسمای سرد فشار اتمسفری (CAPP) بر آفلاتوکسین ذرت بررسی شد. نتایج نشان داد که CCAP توانسته است آفلاتوکسین B₁ را در محصول ذرت تا ۶۶٪ کاهش دهد (Wielogorska et al., 2019).

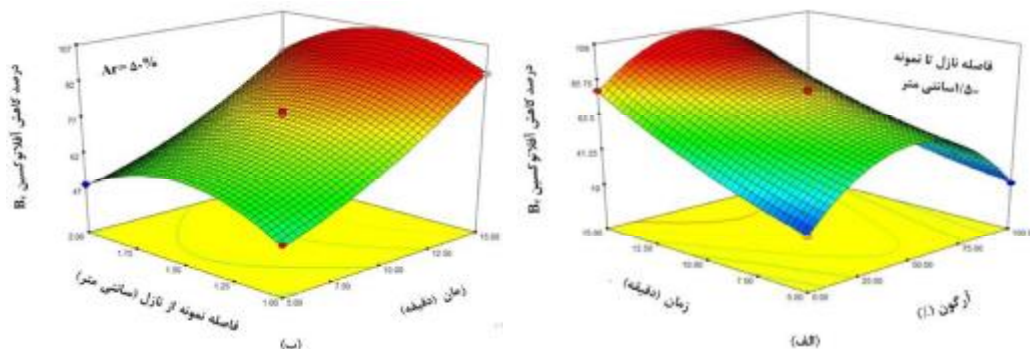
در مطالعه دیگری اثر جت پلاسمای فشار اتمسفری (APPJ) برای کاهش سطح آفلاتوکسین در بادام‌زمینی

در پژوهشی، محققان اظهار داشتند که محصولات تخریب شده AFB_1 پس از تیمارهای پلاسمای سرد به دلیل از بین رفتن پیوند دوگانه در حلقه فوران، سمیت کمتری دارند، زیرا قسمت فورفوران AFB_1 برای سمیت و سرطان‌زایی مهم است (Wang et al., 2015).

در مطالعه دیگری نتایج مشابهی را هنگام درمان AFB_1 با استفاده از منبع پلاسمای DBD ولتاژ بالا تأیید کردند. گونه‌های گاز واکنشی که به عنوان عامل اصلی تخریب آفلاتوکسین توسط پلاسمای سرد مرطوب شناخته می‌شوند شامل رادیکال‌های ازن، هیدروکسیل و آلدئید هستند که از یون‌های اکسیژن، مولکول‌های آب و ساختار دی‌اکسید کربن تشکیل شده‌اند (Shi et al., 2017a).



شکل ۴- درصد کاهش مقدار سم آفلاتوکسین B_1 تحت تأثیر: الف) زمان اعمال پلاسمای و نسبت ترکیب گاز Ar ورودی ب) زمان اعمال پلاسمای و فاصله نمونه از نازل



شکل ۵- درصد کاهش مقدار سم آفلاتوکسین B_2 تحت تأثیر: الف) زمان اعمال پلاسمای و نسبت ترکیب گاز Ar ورودی ب) زمان اعمال پلاسمای و فاصله نمونه از نازل

۰/۹۹۸۱ و ۰/۹۹۸۳ مدل از دقت کافی برخوردار بوده است. بر اساس طرح Box-Behnken و نتایج حاصل از آزمایشات، معادله کدبندی شده برای آفلاتوکسین‌های G_1 و G_2 به ترتیب به صورت زیر به دست آمدند.

$$G_1 = 67.84 - 2.87 \times A + 18.09 \times B - 1.19 \times C - 2.93 \times A \times B - 0.74 \times A \times C - 2.21 \times B \times C - 39.36 \times A^2 + 1.24 \times B^2 - 10.75 \times C^2 \quad (8)$$

$$G_2 = 65.04 + 0.64 \times A + 17.82 \times B - 1.39 \times C - 2.49 \times B \times C - 38.93 \times A^2 + 2.39 \times B^2 - 11.32 \times C^2 \quad (9)$$

در این معادلات (۸) و (۹)، (A) درصد ترکیب گاز آرگون و هوا، (B) زمان بر حسب دقیقه و (C) فاصله نمونه از نازل

اثر پلاسمای سرد بر آفلاتوکسین G_1 و G_2

برای ارزیابی تأثیر متغیرهای مستقل فرایند بر کاهش سم آفلاتوکسین G_1 مطابق جدول ۵ تأثیر همه عوامل و برای ارزیابی تأثیر متغیرهای مستقل فرایند بر کاهش سم آفلاتوکسین G_2 مطابق جدول ۶ تأثیر همه عوامل به جز دو برهم‌کنش نسبت ترکیب گاز Ar ورودی (A) × فاصله نمونه از نازل (C) و نسبت ترکیب گاز Ar ورودی (A) × زمان اعمال پلاسمای (B) در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بوده است. با توجه به معنادار شدن مدل، معنی‌دار نشدن عدم برازش و ضریب تعیین (R^2), G_1 و G_2 به ترتیب

در NO^* , NO_2 غیرفعال سازی باکتری‌ها، ویروس‌ها، سم‌ها و حتی هاگ‌ها بسیار مؤثر هستند (Abuagela et al., 2018). هنگامی که به نسبت مساوی گاز آرگون و هوا (۵۰٪) با هم ترکیب شده‌اند بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفاتوکسین G_1 داشته‌اند.

با توجه به شکل ۶- ب با افزایش فاصله نمونه از نازل از ۱ cm به ۱/۵ cm، درصد کاهش آفاتوکسین G_1 ۳۴/۷٪ افزایش می‌یابد. با افزایش فاصله نمونه از نازل از ۱/۵ cm به ۲ cm درصد کاهش آفاتوکسین G_1 ۳۶/۶٪ کاهش می‌یابد. با افزایش فاصله نازل، ابتدا دامنه پخش شدن پلاسما دور نمونه افزایش می‌یابد و در نتیجه موجب افزایش درصد کاهش آفاتوکسین می‌شود. در ادامه با افزایش بیشتر فاصله نازل اثرگذاری آن کاهش می‌یابد. زیرا زمان بیشتری برای رسیدن یون‌ها و رادیکال‌های آزاد به نمونه نیاز است و با توجه به این‌که یون‌ها و رادیکال‌های آزاد ناپایدار هستند، زمان کافی برای ترکیب شدن وجود دارد و در نتیجه تعداد یون و رادیکال آزاد کمتری به سطح نمونه می‌رسد. همچنین طبق شکل ۶- د ملاحظه می‌شود که در زمان ۵ دقیقه و ترکیب مساوی گازهای آرگون و هوا (۵۰٪ Ar)، در فاصله ۱ سانتی‌متری نمونه از نازل سم آفاتوکسین G_1 ، ۴۱/۲۵ درصد و در فاصله ۲ سانتی‌متری نمونه از نازل سم آفاتوکسین G_1 ، ۴۱ درصد کاهش یافته است.

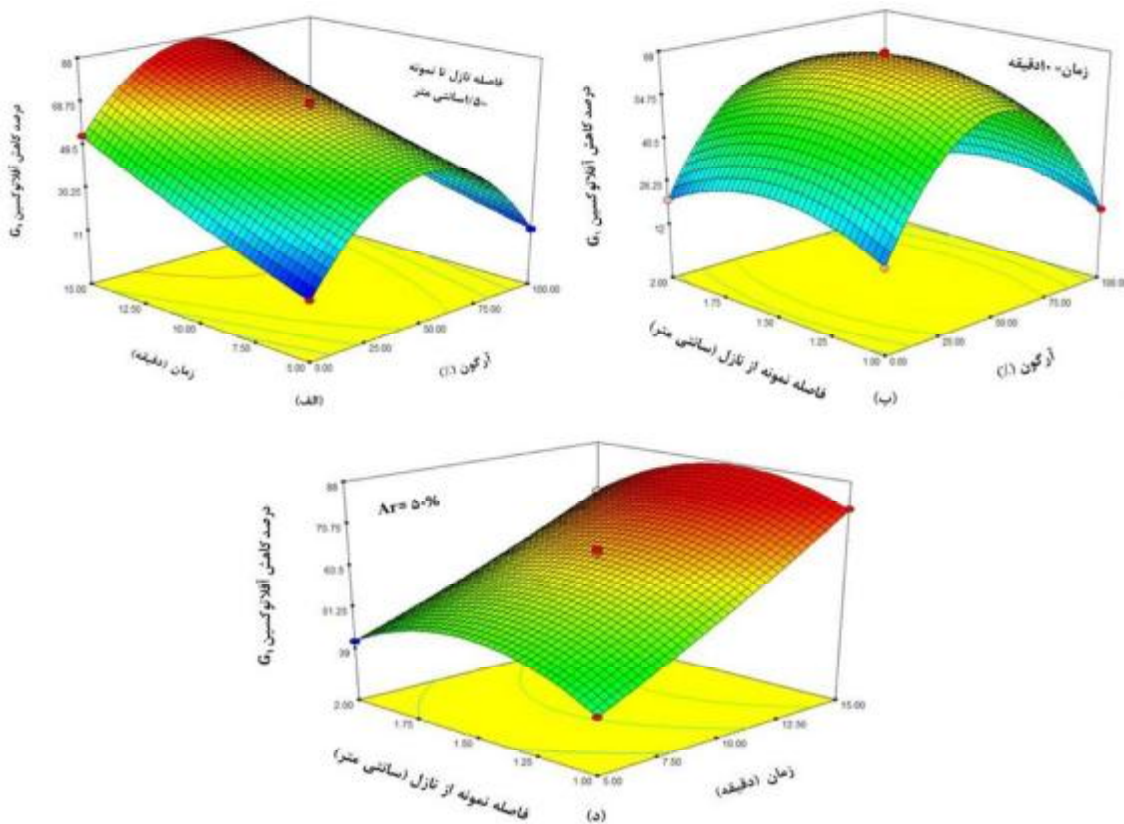
بر حسب (cm) است. با توجه به ضرایب همبستگی معادلات (۸) و (۹)، می‌توان ادعا کرد که زمان اعمال پلاسما بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفاتوکسین G_1 و G_2 داشته است. پس از آن به ترتیب فاصله نمونه از نازل و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا بیشترین تأثیر را در کاهش آفاتوکسین G_1 و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا و فاصله نمونه از نازل به ترتیب بیشترین تأثیر را در کاهش آفاتوکسین G_2 داشته‌اند. شکل ۶ نمودار سه‌بعدی الف) اثر درصد ترکیب گاز ورودی آرگون و هوا و زمان اعمال پلاسما، ب) اثر درصد ترکیب گاز ورودی آرگون و هوا و فاصله نمونه از نازل و د) اثر زمان اعمال پلاسما و فاصله نمونه از نازل را در کاهش میزان سم آفاتوکسین (G_1) را نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل ۶- الف مشخص است با افزایش زمان اعمال پلاسما از ۵ به ۱۵ دقیقه، درصد کاهش سم آفاتوکسین ۷۷/۶۹٪ افزایش می‌یابد. همچنین اثر نسبت ترکیب گاز آرگون و هوا بر کاهش سم آفاتوکسین در نمودار نشان داده شده است. تأثیر گاز هوا در کاهش سم آفاتوکسین G_1 نسبت به گاز آرگون بیشتر است. در زمان ۵ دقیقه و فاصله ۱/۵ سانتی‌متر نمونه از نازل، گاز آرگون و هوا به ترتیب سبب کاهش ۱۱/۵ درصد و ۱۲ درصد آفاتوکسین نوع G_1 شدند. پلاسمای هوا منبع انواع اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) و گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر (RNS) است. تعامل هر دو این گونه‌ها به دلیل تولید گونه‌های کشنده مانند O^* , O_2 , O_3 , OH^*

جدول ۵- نتایج تجزیه تحلیل آماری از مدل درجه دوم سطح پاسخ برای کاهش سم آفاتوکسین G_1 توسط سیستم پلاسمای سرد

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F Value
مدل	۹۹۷۷/۹۳	۹	۱۱۰۸/۶۶	۳۴۷۲/۱۲**
A-Ar	۶۵/۸۴	۱	۶۵/۸۴	۲۰۶/۱۹**
B-Time	۲۶۱۹/۰۷	۱	۲۶۱۹/۰۷	۸۲۰۲/۴۵**
C-distance	۱۱/۲۸	۱	۱۱/۲۸	۳۵/۲۳**
AB	۳۴/۲۲	۱	۳۴/۲۲	۱۰۷/۱۸**
AC	۲/۱۸	۱	۲/۱۸	۶/۸۱**
BC	۱۹/۵۸	۱	۱۹/۵۸	۶۱/۳۲**
A ^۲	۶۵۲۲/۱۶	۱	۶۵۲۲/۱۶	۲۰۴۲۶/۲**
B ^۲	۶/۵	۱	۶/۵	۲۰/۳۶**
C ^۲	۴۸۶/۱۳	۱	۴۸۶/۱۳	۱۵۲۲/۴۶**
باقیمانده	۲/۲۴	۷	-/۳۲	
عدم برازش	۱/۰۴	۳	-/۳۵	۱/۱۷ ^{ns}
خطای خالص	۱/۱۹	۴	-/۳	
کل	۹۹۸۰/۱۷	۱۶		

جدول ۶- نتایج تجزیه تحلیل آماری از مدل درجه دوم سطح پاسخ برای کاهش سم آفلاتوکسین G₂ توسط سیستم پلاسمای سرد

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F Value
مدل	۹۷۲۰/۹۱	۷	۱۳۸۸/۷	۲۶۹۶/۰۷**
A-Ar	۳/۳۲	۱	۳/۳۲	۶/۴۴**
B-Time	۲۵۴۰/۰۶	۱	۲۵۴۰/۰۶	۴۹۳۱/۳۶**
C-distance	۱۵/۴	۱	۱۵/۴	۲۹/۹**
BC	۲۴/۷۵	۱	۲۴/۷۵	۴۸/۰۵**
A ^۲	۶۳۸۲/۰۶	۱	۶۳۸۲/۰۶	۱۲۳۹۰/۳۵**
B ^۲	۲۴/۱	۱	۲۴/۱	۴۶/۷۹**
C ^۲	۵۳۹/۵۵	۱	۵۳۹/۵۵	۱۰۴۷/۴۹**
باقیمانده	۴/۶۴	۹	۰/۵۲	
عدم برازش	۳/۴۴	۵	۰/۶۹	۲/۳۱ ^{ns}
خطای خالص	۱/۱۹	۴	۰/۳	
کل	۹۷۲۵/۵۵	۱۶		



شکل ۶- درصد کاهش مقدار سم آفلاتوکسین G₁ تحت تأثیر: الف) زمان اعمال پلاسمای و نسبت ترکیب گاز Ar ورودی؛ ب) فاصله نمونه از نازل و نسبت ترکیب گاز Ar ورودی؛ د) زمان اعمال پلاسمای و فاصله نمونه از نازل

شکل ۷ نمودار سه بعدی اثر زمان اعمال پلاسمای و فاصله نمونه از نازل را در کاهش میزان سم آفلاتوکسین (G₂) نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل مشخص است با افزایش زمان اعمال پلاسمای از ۵ به ۱۵ دقیقه، درصد کاهش سم آفلاتوکسین افزایش می‌یابد. همچنین در زمان ۵ دقیقه و ترکیب مساوی گازهای آرگون و هوا (Ar = ۵۰٪)، در فاصله ۱ سانتی‌متری نمونه از نازل، سم آفلاتوکسین G₂ ۳۷/۲۵ درصد و در فاصله ۲ سانتی‌متر ۳۶/۲ درصد کاهش می‌یابد. با توجه به شکل بهترین فاصله نمونه از نازل در بازه (۱/۲۵-۱/۷۵) cm است.

شکل ۷ نمودار سه بعدی اثر زمان اعمال پلاسمای و فاصله نمونه از نازل را در کاهش میزان سم آفلاتوکسین (G₂) نشان می‌دهد. همان‌گونه که در شکل مشخص است با افزایش زمان اعمال پلاسمای از ۵ به ۱۵ دقیقه، درصد کاهش سم آفلاتوکسین افزایش می‌یابد. همچنین در

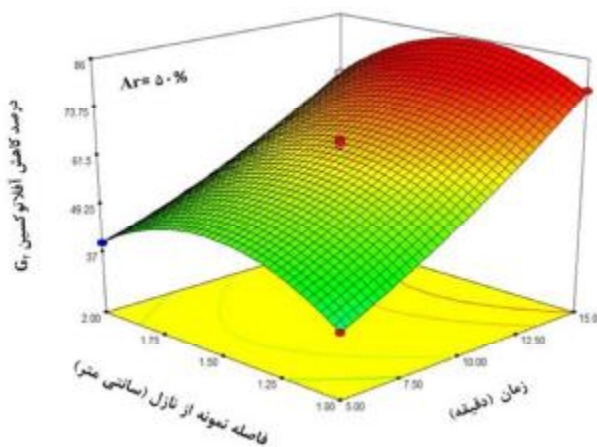
پلازما بر روی پیوند دوگانه در حلقه لاکتون عمل می‌کند و باعث تخریب آفلاتوکسین می‌شود. همچنین با اکسیداسیون پیوند دوتایی حلقه انتهایی فوران یا هیدرولیز و اکسیداسیون حلقه لاکتون، آفلاتوکسین را از بین می‌برد (Hojnik et al., 2017).

تخریب مایکوتوکسین‌ها با تغییر ساختار آن‌ها در طول درمان با پلازما می‌تواند مربوط به فوتون‌های UV، ازن یا یون‌های واکنشی و الکترون‌ها باشد. در طی درمان با پلازما سرد، ممکن است سهم قابل توجهی از گونه‌های واکنش فوتون غیر ازن و UV در تخریب مایکوتوکسین‌ها وجود داشته باشد، زیرا تأثیر فن‌آوری پلازما سرد بر تخریب مایکوتوکسین بیشتر از ازن یا UV است. ممکن است ذکر شود که شدت تابش اشعه ماوراء بنفش در طی درمان با پلازما سرد بسیار کمتر از شدت اشعه ماوراء بنفش مورد نیاز برای تخریب مؤثر آفلاتوکسین است (Laroussi & Leipold, 2004; Liu et al., 2010).

در مطالعه‌ای اثر پلاسمای جوی ولتاژ بالا (HVACP) را بر تخریب آفلاتوکسین‌های ذرت بررسی شد. در این مطالعه، با افزایش زمان قرارگیری در معرض پلازما، میزان تخریب آفلاتوکسین افزایش می‌یابد (Shi et al., 2017b).

همچنین، در مطالعه دیگری اثر پلاسمای سرد بر پایه تخلیه سد دی‌الکتریک را در کاهش Aflatoxin (B₁, B₂, G₁, G₂) فندوق بررسی کردند. نتایج نشان داد که حداکثر اثر سم‌زدایی آفلاتوکسین‌ها برای طولانی‌ترین زمان و با بالاترین قدرت به دست آمده است. تخریب مایکوتوکسین‌ها در پلاسمای سرد می‌تواند به طور مستقیم با رادیکال‌های آزاد (به عنوان مثال O• و OH•) تولید شده در طول درمان مرتبط باشد (Siciliano et al., 2016).

در مطالعه دیگری، تأثیر پلاسمای سرد بر آفلاتوکسین بررسی شد. نتایج نشان می‌دهد که افزایش زمان قرار گرفتن در معرض پلازما باعث تخریب بیشتر محتوای آفلاتوکسین می‌شود (Devi et al., 2017).

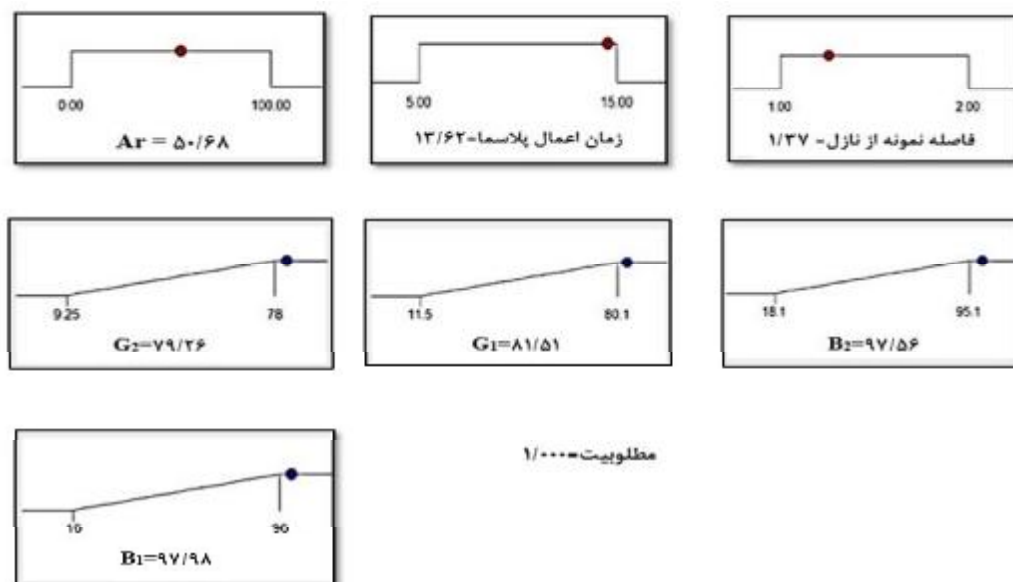


شکل ۷- درصد کاهش مقدار سم آفلاتوکسین G₂ تحت تأثیر: زمان اعمال پلازما و فاصله نمونه از نازل

به ترتیب برابر ۹۷/۹۸، ۹۷/۵۶، ۸۱/۵۱ و ۷۹/۲۶ درصد بود. به منظور صحت‌سنجی نقاط بهینه به دست آمده توسط روش سطح پاسخ، درصد کاهش سم آفلاتوکسین (B₁, B₂, G₁, G₂) در این نقاط در آزمایشگاه بررسی شدند (جدول ۷). نتایج به دست آمده بیان می‌کند که مقدار بهینه‌ی نظری و مقدار بهینه به دست آمده در آزمایشگاه دارای اختلاف اندکی است که صحت روش بهینه‌سازی را نشان می‌دهد.

بهینه‌سازی

نتایج بهینه‌سازی روش سطح پاسخ با بیشترین کاهش سم آفلاتوکسین در شکل ۸ نشان داده شده است. مقادیر بهینه در سامانه پلاسمای سرد برای درصد ترکیب گاز آرگون و هوا، زمان اعمال پلازما و فاصله نمونه از نازل به ترتیب برابر ۵۰/۶۸٪، ۱۳/۶۲ min و ۱/۳۷cm به دست آمدند. به ازای مقادیر ذکر شده، مقدار کاهش سم آفلاتوکسین (B₁, B₂, G₁, G₂) در سامانه پلاسمای سرد



شکل ۸ - بهینه سازی فرآیند بر اساس مدل سطح پاسخ برای سیستم پلاسمای سرد

جدول ۷ - درصد کاهش سموم آفلاتوکسین در نقطه بهینه

نام	نقطه بهینه به دست آمده توسط نرم افزار	نقطه بهینه به دست آمده در آزمایشگاه	درصد خطا
Ar (%)	۵۰/۶۸	۵۰	۱/۳۴
زمان اعمال پلاسما (min)	۱۳/۶۲	۱۵	۹/۲
فاصله نمونه از نازل (cm)	۱/۳۷	۱/۵	۸/۶
B ₁ (%)	۹۷/۹۸	۹۸	۰/۰۲
B ₂ (%)	۹۷/۵۶	۹۷/۷۵	۰/۱۹
G ₁ (%)	۸۱/۵۱	۸۰/۲۶	۱/۵۳
G ₂ (%)	۷۹/۲۶	۷۵/۵۰	۴/۷۴

نتیجه گیری

نتایج حاصل از تیمارها در سیستم پلاسمای سرد فشار اتمسفری نشان داد که افزایش زمان اعمال پلاسما بیشترین تأثیر را در کاهش سم آفلاتوکسین (B_1 , B_2 , G_1) نسبت به سایر متغیرها دارد. پس از آن به ترتیب G_2 فاصله نمونه از نازل و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا بیشترین تأثیر را در کاهش آفلاتوکسین B_1 , B_2 و G_1 و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا و فاصله نمونه از نازل به ترتیب بیشترین تأثیر را در کاهش آفلاتوکسین G_2 داشته‌اند. با توجه به نقاط بهینه به دست آمده در کاهش سم آفلاتوکسین، زمان اعمال پلاسما ۱۳/۶۲ دقیقه، فاصله نمونه از نازل ۱/۳۷ سانتی‌متر و درصد ترکیب گاز آرگون و هوا ۵۰/۶۸ درصد بیشترین مقدار کاهش سم را موجب می‌شود. بنابراین، این روش می‌تواند برای کاهش و یا از بین بردن سم آفلاتوکسین استفاده شود.

سپاسگزاری

از شرکت شهرک‌های صنعتی چهارمحال و بختیاری به دلیل حمایت مالی از این کار تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

- Abuagela, M. O., Iqdiem, B. M., Mostafa, H., Gu, L., Smith, M. E., & Sarnoski, P. J. (2018). Assessing pulsed light treatment on the reduction of aflatoxins in peanuts with and without skin. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(11): 2567-2575.
- Anonymous. (2011). Food and feed stuffs. Determination of aflatoxins B and G by HPLC method using immunoaffinity column clean up-Test method, *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, 21. (In Persian).
- Bui-Klimke, T. R., Guclu, H., Kensler, T. W., Yuan, J. M., & Wu, F. (2014). Aflatoxin

- and optimization of two combined pasteurization methods of ultrasonic-pulse electric field and hydrodynamic-pulse electric field on sour cherry juice using RSM-TOPSIS. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9): e14700.
- Iqdiam, B. M., Abuagela, M. O., Boz, Z., Marshall, S. M., Goodrich-Schneider, R., Sims, C. A., & Welt, B. A. (2020). Effects of atmospheric pressure plasma jet treatment on aflatoxin level, physicochemical quality, and sensory attributes of peanuts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(1): e14305.
- Jalili, M. (2016). A review on aflatoxins reduction in food. *Iranian Journal of Health, Safety and Environment*, 3(1): 445-459.
- Karbasi, A., & Tawhidi, A. H. (2014). Factors affecting Iranian pistachio exports. *Journal of Agricultural Economics Research*. 7: 112-91. (In Persian).
- Korachi, M., Gurol, C., & Aslan, N. (2010). Atmospheric plasma discharge sterilization effects on whole cell fatty acid profiles of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Electrostatics*, 68(6): 508-512.
- Laroussi, M., & Leipold, F. (2004). Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. *International Journal of Mass Spectrometry*, 233(1-3): 81-86.
- Li, Q., Li, J. T., Zhu, W. C., Zhu, X. M., & Pu, Y. K. (2009). Effects of gas flow rate on the length of atmospheric pressure nonequilibrium plasma jets. *Applied Physics Letters*, 95(14): 141502.
- Li, S. Z., Lim, J. P., Kang, J. G., & Uhm, H. S. (2006). Comparison of atmospheric-pressure helium and argon plasmas generated by capacitively coupled radio-frequency discharge. *Physics of plasmas*, 13(9): 093503.
- Liu, R., Jin, Q., Tao, G., Shan, L., Liu, Y., & Wang, X. (2010). LC-MS and UPLC-quadrupole time-of-flight MS for identification of photodegradation products of aflatoxin B 1. *Chromatographia*, 71(1): 107-112.
- Misra, N. N., Schlüter, O., & Cullen, P. J. (Eds.). (2016). Cold plasma in food and agriculture: fundamentals and applications. Academic Press.
- Moradi, M., & Hokmabadi, H. (2011). Control of mycotoxin bioactives in nuts: Farm to fork. In Tokusoglu. *Fruit and Cereal Bioactives Sources, Chemistry, and Applications*, CRC Press. 253-273.
- Moreau, M., Orange, N., & Feuilloley, M. G. J. (2008). Non-thermal plasma technologies: regulations and global pistachio trade: insights from social network analysis. *PLoS one*, 9(3): e92149.
- Chen, R., Ma, F., Li, P. W., Zhang, W., Ding, X. X., Zhang, Q. I., Li, M., Wang, Y. R., & Xu, B. C. (2014). Effect of ozone on aflatoxins detoxification and nutritional quality of peanuts. *Food chemistry*, 146: 284-288.
- Chen, Y. (2016). Electrical Breakdown of Gases in Subatmospheric Pressure. Master's Thesis. Department of Electrical Engineering. Auburn University. 50 pages.
- Devi, Y., Thirumdas, R., Sarangapani, C., Deshmukh, R. R., & Annappure, U. S. (2017). Influence of cold plasma on fungal growth and aflatoxins production on groundnuts. *Food Control*, 77: 187-191.
- Diao, E., Hou, H., Chen, B., Shan, C., & Dong, H. (2013). Ozonolysis efficiency and safety evaluation of aflatoxin B1 in peanuts. *Food and Chemical Toxicology*, 55: 519-525.
- Fernandez, A., Noriega, E., & Thompson, A. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food microbiology*, 33(1): 24-29.
- Gavahian, M., & Cullen, P. J. (2020). Cold plasma as an emerging technique for mycotoxin-free food: efficacy, mechanisms, and trends. *Food Reviews International*, 36(2): 193-214.
- Ghahderijani, M. M., & Hokmabadi, H. (2011). Control of Mycotoxin Bioactives in Nuts: Farm to Fork. *Fruit and Cereal Bioactives: Sources, Chemistry, and Applications*, 291.
- Gurol, C., Ekinici, F. Y., Aslan, N., & Korachi, M. (2012). Low temperature plasma for decontamination of *E. coli* in milk. *International journal of food microbiology*, 157(1): 1-5.
- Gyr, L., Klute, F. D., Franzke, J., & Zenobi, R. (2019). Characterization of a nitrogen-based dielectric barrier discharge ionization source for mass spectrometry reveals factors important for soft ionization. *Analytical chemistry*, 91(10): 6865-6871.
- Han, W. H., Cai, Y. X., Wang, J., Sun, C. H., & Zheng, R. Y. (2010). Experimental analysis on the characteristics of an air-fed indirect non-thermal plasma system using dielectric barrier discharge. *Gaodiana Jishu/ High Voltage Engineering*, 36(12): 3065-3069.
- Hojnik, N., Cvelbar, U., Tavčar-Kalcher, G., Walsh, J. L., & Križaj, I. (2017). Mycotoxin decontamination of food: cold atmospheric pressure plasma versus "classic" decontamination. *Toxins*, 9(5): 151.
- Hosseinzadeh Samani, B., Behruzian, A., Khoshtaghaza, M. H., Behruzian, M., & Ansari Ardali, A. (2020). The investigation

- Food Research and Technology*, 241(1): 103-113.
- Wielogorska, E., Ahmed, Y., Meneely, J., Graham, W. G., Elliott, C. T., & Gilmore, B. F. (2019). A holistic study to understand the detoxification of mycotoxins in maize and impact on its molecular integrity using cold atmospheric plasma treatment. *Food chemistry*, 301: 125281.
- new tools for bio-decontamination. *Biotechnology advances*, 26(6): 610-617.
- Pankaj, S. K. (2015). Thermal processing of food. *Advances in Food Biotechnology*, 681-692.
- Pankaj, S. K., & Keener, K. M. (2017). Cold plasma: Background, applications and current trends. *Current Opinion in Food Science*, 16: 49-52.
- Radhakrishnan, M., Ramanan, K. R., Sargunam, R., & Sarumathi, R. (2016). Effect of cold plasma on mortality of *Tribolium Castaneum* on maida flour.
- Sakudo, A., Toyokawa, Y., Misawa, T., & Imanishi, Y. (2017). Degradation and detoxification of aflatoxin B1 using nitrogen gas plasma generated by a static induction thyristor as a pulsed power supply. *Food Control*, 73: 619-626.
- Shah, I. A., Gou, X., Zhang, Q., Wu, J., Wang, E., & Liu, Y. (2018). Experimental study on NOx emission characteristics of oxy-biomass combustion. *Journal of Cleaner Production*, 199: 400-410.
- Shi, H., Cooper, B., Stroshine, R. L., Ileleji, K. E., & Keener, K. M. (2017). Structures of degradation products and degradation pathways of aflatoxin B1 by high-voltage atmospheric cold plasma (HVACP) treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(30): 6222-6230.
- Shi, H., Ileleji, K., Stroshine, R. L., Keener, K., & Jensen, J. L. (2017). Reduction of aflatoxin in corn by high voltage atmospheric cold plasma. *Food and Bioprocess Technology*, 10(6): 1042-1052.
- Siciliano, I., Spadaro, D., Prella, A., Vallauri, D., Cavallero, M. C., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2016). Use of cold atmospheric plasma to detoxify hazelnuts from aflatoxins. *Toxins*, 8(5): 125.
- Sohbatzadeh, F., Colagar, A. H., Mirzanejhad, S., & Mahmodi, S. (2010). E. coli, P. aeruginosa, and B. cereus bacteria sterilization using afterglow of non-thermal plasma at atmospheric pressure. *Applied biochemistry and biotechnology*, 160(7): 1978-1984.
- Sohbatzadeh, F., Samadi, O., Siadati, S. N., Etaati, G. R., Asadi, E., & Safari, R. (2016). Development of a radio frequency atmospheric pressure plasma jet for diamond-like carbon coatings on stainless steel substrates. *Applied Physics A*, 122(10): 1-9.
- Wang, S. Q., Huang, G. Q., Li, Y. P., Xiao, J. X., Zhang, Y., & Jiang, W. L. (2015). Degradation of aflatoxin B 1 by low-temperature radio frequency plasma and degradation product elucidation. *European*