



## بررسی توانایی نانوذرات سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین در جذب سم پاتولین در آب

### سیب‌های آلوده

نویسندگان: مصطفی غفوری بیداخویدی<sup>۱</sup>، سیدعلی یاسینی اردکانی<sup>۲</sup>، سید حسین حکمتی مقدم<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات یزد

۲. نویسنده مسول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات یزد

تلفن تماس: ۰۹۱۳۳۵۴۲۶۳۹ Email: a.yasini@gmail.com

۳. استادیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

### چکیده

**مقدمه:** پاتولین سمی خطرناک است که به وسیله انواع مختلفی از کپک‌ها تولید می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی توانایی نانوذرات سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین در جذب سم پاتولین در آب سیب‌های آلوده بود.

**روش بررسی:** ابتدا نانوذرات سلولز سنتز و سپس با کمک کراس لینکر به مولکول پلی گوانین متصل گردید. سپس سریال غلظت پاتولین (۱۰۰۰ و ۵۰۰ و ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر لیتر) در آب سیب تهیه و به همه آنها نانوذرات کونژوگه اضافه شد و همگی در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردیدند. بعد از انکوباسیون، غلظت پاتولین در هر لوله با اسپکتروسکوپی در طول موج ۳۴۰ نانومتر به دست آمده و نهایتاً درصد جذب در هر لوله حساب شد. برای شبیه‌سازی مولکولی نیز ساختارهای اولیه پاتولین و نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین در برنامه Hyper Chem وارد و به مدت ۵۰ پیکوثانیه انرژی بین مولکولی این دو ساختار محاسبه شد.

**یافته‌ها:** این مطالعه نشان داد که رابطه معنی‌داری بین غلظت اولیه پاتولین و میزان جذب سم توسط نانوذرات وجود دارد ( $P=0/05$ ). حداکثر جذب نیز حدود هفتاد درصد گزارش گردید. همچنین شبیه‌سازی رایانه‌ای نیز جذب را تایید نمود.

**نتیجه‌گیری:** از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین جاذب مناسبی برای سم پاتولین بوده و باید در مطالعات آینده به لحاظ کاربردی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** جذب، پاتولین، آب سیب، نانوذرات سلولز، پلی گوانین

## طلوع بهداشت

دو ماهنامه علمی پژوهشی

دانشکده بهداشت یزد

سال پانزدهم

شماره: دوم

خرداد و تیر ۱۳۹۵

شماره مسلسل: ۵۶

تاریخ وصول: ۱۳۹۳/۶/۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۹/۱۶



## مقدمه

پاتولین مایکوتوکسینی است که عمدتاً به وسیله گونه‌های مختلفی از کپک‌ها تولید می‌شود که از جمله می‌توان به آسپرژیلوس کلاواتوس، آسپرژیلوس ژیگانتوس، پنی‌سیلیوم اورتیکا، پنی‌سیلیوم اکسپانسونم و بایسوکلامیس نیوا اشاره نمود (۱). این قارچ‌ها روی میوه‌های فاسد شده به‌ویژه سیب، گلابی، انگور و هلو رشد نموده و سم پاتولین را روی آنها می‌کنند و ایمنی میوه را شدیداً افت می‌دهند (۲،۳). در حال حاضر یکی از مشکلات موجود بر سر راه صادرات آب میوه، به‌ویژه آب سیب، میزان پاتولین در آن می‌باشد. لازم به‌ذکر است استاندارد جهانی حضور این ماده در آب سیب و سایر آبمیوه‌ها در حدود ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد (۴،۵). پاتولین در حالت خالص یک ماده کریستالی سفیدرنگ با نقطه ذوب حدود ۱۱۰ درجه با وزن مولکولی ۱۵۴ دالتون می‌باشد و مقاوم به حرارت و اسید بوده ولی در محیط قلیایی ناپایدار است (۱). پاتولین دارای توانایی ایجاد ناهنجاری در جنین، جهش‌زایی، سرطان‌زایی، تشکیل سلول‌های دوهسته‌ای و اختلالات کروموزومی می‌باشد. همچنین پاتولین بر روی سنتز پروتئین‌ها و RNA اثر منفی داشته، به‌طوری‌که در سلول‌های کبد، سنتز RNA و پروتئین را تا حدود ۶۰-۴۰٪ کاهش می‌دهد. از طرفی این سم مانع از فعالیت انواع مختلف آنزیم‌ها مانند لاکتیک دهیدروژناز و الکل دهیدروژناز می‌گردد (۸-۶).

برای کاهش پاتولین در کنسانتره آب سیب از روش‌های مختلفی مانند استفاده از اشعه گاما، فرایند حرارتی و تخمیر صورت گرفته ولی نتایج خوبی از این تحقیقات حاصل نشده است (۹،۱۰). رویکرد دیگر جذب پاتولین به‌وسیله مواد جاذب می‌باشد که در این راستا مواد جاذب مختلفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند که از جمله می‌توان

به کربن فعال خالص (۱۱،۱۲)، کربن فعال حاوی آلزینات و کلسیم (۱۳)، پودرخشک مخمر غیرفعال‌شده (۱۴) و دیواره سلولی برخی از باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک (۱۵) اشاره نمود. کارآیی پایین و غیرتخصصی بودن جذب توسط این جاذب‌ها از نکات منفی آنهاست. همچنین از جاذب‌های معرفی شده نمی‌توان در مواد غذایی بالاخص در آب میوه به‌خاطر مسائل ایمنی استفاده نمود. هدف این مطالعه توانایی جذب سم پاتولین توسط نانوذرات سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین در آب سیب بود.

## روش بررسی

ابتدا یک گرم از پنبه خالص درون لوله آزمایش قرار داده و به‌ترتیب با محلول ۵ مولار NaOH (مرک، آلمان) و یک مولار dimethylsulfoxide (مرک، آلمان) به‌مدت نیم ساعت در دمای ۳۷ درجه انکوبه شد. سپس محتویات لوله آزمایش در دور ۵۰۰۰ در بر دقیقه به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. در مرحله بعد ۱ میلی‌لیتر اسید سولفوریک (۷۰ درصد، مرک، آلمان) اضافه و در دمای آزمایشگاه انکوبه شد. بعد از شفاف شدن محتویات لوله برای خنثی کردن اسید و رسوب نانوذرات از ۲ میلی‌لیتر محلول ۵ مولار NaOH استفاده گردید و سپس به‌مدت ۵ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ و با آب مقطر شستشو داده شد. برای کونژوگه نمودن پلی گوانین به نانو ذرات سلولز، در مرحله اول نانو ذرات با گروه‌های کربوکسیل اصلاح گردید. برای این کار تمامی نانوذرات سنتز شده درون بشر ریخته و سپس به آن یک گرم اسید سیتریک (مرک، آلمان) اضافه گردید و به‌مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰ درجه انکوبه گردید. بعد از انکوباسیون، اسیدسیتریک اضافی با سانتریفوژ در دور ۵۰۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه و شستشو با آب مقطر جدا گردید. برای کونژوگاسیون موثر نخست نانوذرات اصلاح شده با اسید



یک میلی لیتر نانوذرات کونژوگه شده با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر اضافه و همگی در دمای محیط به مدت نیم ساعت انکوبه شدند. برای کنترل عیناً مراحل مذکور انجام شد ولی به جای نانوذرات از آب مقطر استفاده شد. بعد از انکوباسیون لوله‌ها در دور ۵۰۰۰ به مدت ۵ دقیق سانتریفیوژ و میزان جذب نوری هر لوله با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت و نهایتاً درصد جذب در هر لوله مطابق با فرمول زیر محاسبه گردید.

$$= \text{درصد جذب} \frac{100}{A} \times (A-B)$$

A میزان جذب نوری در لوله کنترل و B میزان جذب نوری در لوله تست می‌باشد.

در این مطالعه، همه تست‌ها به صورت سه بار تکرار انجام شد و سپس میانگین و انحراف معیار آنها محاسبه و ارائه گردید. برای بررسی اختلاف‌های معنی‌دار از آزمون T-test استفاده شد و P-value کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار قلمداد گردید. برای بررسی مولکولی فرایند جذب، نخست ساختار اولیه پاتولین و نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین توسط برنامه Hyper Chem نسخه ۸.۰.۳ تهیه و بعد از ۵۰ پیکو ثانیه توانایی جذب این دو مولکول با هم بررسی شد.

#### یافته‌ها

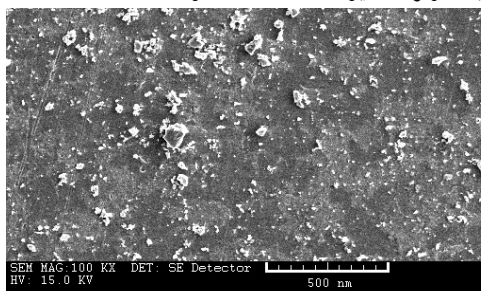
در این مطالعه از سه روش برای مشخصه‌یابی یا تعیین ویژگی‌های نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین استفاده گردید. مورفولوژی و شکل نانوذرات با میکروسکوپ الکترونی روشی تعیین گردید که نتایج آن در شکل ۱ قسمت a نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد نانوذرات سنتز شده بسیار ریز و در اشکال مختلف و با حداکثر سایز ۱۰۰ نانومتر بود.

سیتریک در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر حل و سپس یک میلی لیتر کراس لینکر EDC افزوده و به مدت نیم ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید. بعد از پایان انکوباسیون، یک میلی لیتر الیگونوکلئوتید پلی گوانین اصلاح شده با گروه آمین با شدت نوری ۴ (کیا ژن، ایران) به نانوذرات فعال شده با N-ethyl-N-(dimethylaminopropyl) carbodiimide (سیگما-آلدریچ، آمریکا) افزوده و دوباره نیم ساعت در ۳۷ درجه انکوبه گردید. در انتها نانو ذرات کونژوگه شده به مدت ۳ بار با آب مقطر شستشو و سپس ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده شد و بدین ترتیب غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر از نانوذرات کونژوگه شده تهیه گردید. جهت جلوگیری از ایجاد ذرات بزرگتر این مرحله در حضور گلوله‌های سرامیکی و آسیاب شدید به مدت ۵ دقیقه انجام پذیرفت (۱۶). بعد از سنتز نانو ذرات کونژوگه شده، برای مشخصه‌یابی از روش تصویربرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی و طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه ساخت شرکت زیست فناوری شرق استفاده گردید.

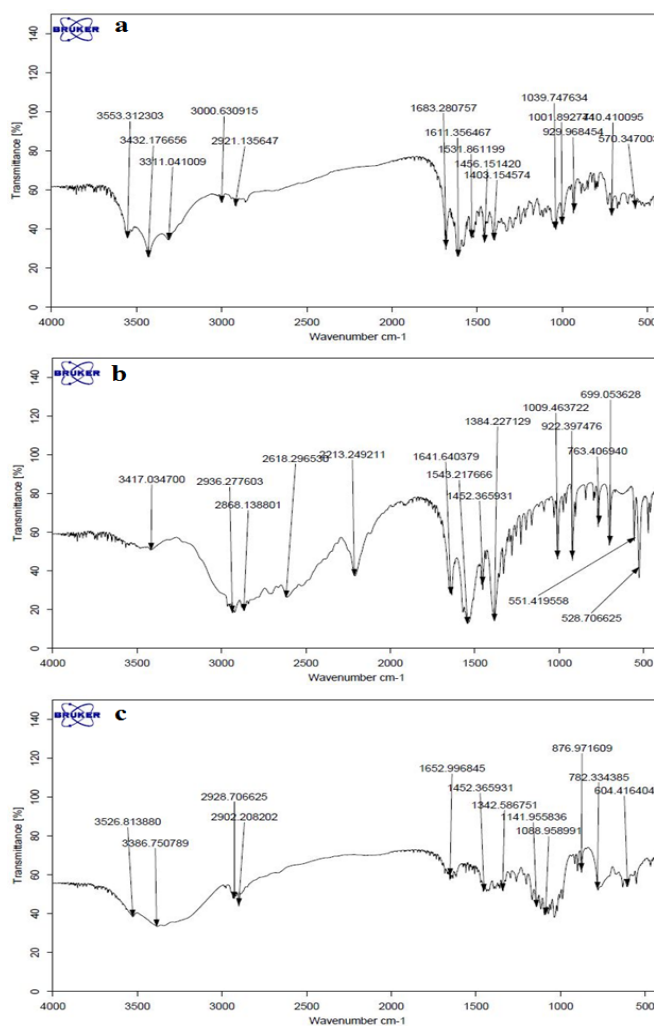
در مرحله بعد میزان جذب پاتولین توسط نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین در آب سیب مورد ارزیابی قرار گرفت که به شرح ذیل بود: نخست ۵ لوله آزمایش برداشته و درون هر یک ۱۰۰۰ میکرولیتر از آب سیب (ساخت شرکت سانچ، ایران) اضافه شد. سپس درون لوله اول ۱۰۰۰ میکرولیتر از پاتولین با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر (شرکت زیست فناوری شرق، ایران) اضافه شد و بعد از مخلوط شدن از لوله اول یک میلی لیتر کشیده و به لوله دوم اضافه گردید، در مرحله بعد یک میلی لیتر از لوله دوم به لوله سوم اضافه گردید و اینکار برای لوله‌های سوم و چهارم و پنجم نیز ادامه پیدا کرد. در مرحله بعد، به همه لوله‌ها



گستره سائیزی نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر می باشد. در این تحقیق برای تایید کونژوگاسیون از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه استفاده شد که نتایج آن در نمودار ۱ آمده است.



شکل ۱: تصویر نانوذرات کونژوگه شده با میکروسکوپ الکترونی روبشی (a)



نمودار ۱: پیک های جذبی نانوذرات سلولز (a)، پلی گوانین (b) و نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین (c) به دست آمده از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه



مستقیمی بین غلظت اولیه پاتولین و جذب آن دیده می‌شود، بدین صورت که حداکثر جذب ۷۰ درصد برای لوله شماره ۱ که دارای غلظت پاتولین بیشتر بوده و حداقل جذب ۱۲ درصد برای لوله شماره ۵ که دارای حداقل غلظت پاتولین بود، دیده شد. شکل ۲a و ۲b و ۲c به ترتیب ساختار اولیه پاتولین، پلی گوانین، نانوذره سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین را نشان می‌دهد.

این ساختارها در نرم‌افزار Hyper Chem به دست آمدند. این مطالعه نشان داد در انتهای شبیه‌سازی، جذب پاتولین توسط نانوذره سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین تایید گردید.

در این نمودار پیک‌های جذبی نانوذرات سلولز (a)، پلی گوانین (b) و نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین (c) مشخص می‌باشد. می‌توان دید که پیک‌های اختصاصی نانوذرات سلولز (a)، پلی گوانین (b) به صورت توأم در پیک‌های جذبی نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین (c) دیده می‌شود که دلیلی بر انجام شدن کونژوگاسیون است.

جدول ۱ میزان جذب پاتولین در شرایط واقعی (یعنی در حضور آب سب) را نشان می‌دهد. از این جدول می‌توان چنین استنباط کرد که این نانوذرات کونژوگه شده در شرایط واقعی تا حداکثر ۷۰ درصد جذب پاتولین را در پی داشته است. در اینجا رابطه

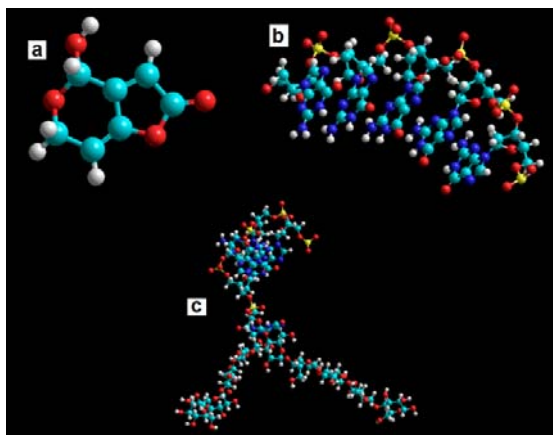
جدول ۱ میزان جذب پاتولین در حضور آب سب

	لوله شماره ۱	لوله شماره ۲	لوله شماره ۳	لوله شماره ۴	لوله شماره ۵
درصد جذب	۷۰	۶۶	***۳۵	**۲۳	*۱۲

\* اختلاف معنی‌دار با  $P < 0/05$  در مقایسه با لوله‌های شماره ۱-۴ را نشان می‌دهد.

\*\* اختلاف معنی‌دار با  $P < 0/05$  در مقایسه با لوله‌های شماره ۱-۳ را نشان می‌دهد.

\*\*\* اختلاف معنی‌دار با  $P < 0/05$  در مقایسه با لوله‌های شماره ۱ و ۲ را نشان می‌دهد.



شکل ۲: ساختار اولیه پاتولین، پلی گوانین، نانوذره سلولز کونژوگه شده با پلی گوانین به دست آمده از نرم‌افزار Hyper Chem



## بحث و نتیجه گیری

هدف از این مطالعه یافتن یک نانو ذره بر پایه سلولز بود که بتواند سم پاتولین را به خوبی جذب کند. گزینه انتخابی ما برای جذب این سم نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین بود. بر اساس حقایق علمی موجود برگرفته از مولکول‌های موجود در طبیعت و اهمیت پیوندهای هیدروژنی در ایجاد ساختارهای پیشرفته نظیر پروتئین‌ها و DNA مولکول گوانین به عنوان جاذب سم پاتولین در نظر گرفته شد، چراکه گوانین به لحاظ تئوریک می‌تواند ۳ پیوند هیدروژنی با هر مولکول پاتولین برقرار کند، به طوریکه ۲ هیدروژن و یک اکسیژن از پاتولین که به صورت خطی در یک ردیف قرار دارند می‌توانند با ۲ اکسیژن و یک هیدروژن از مولکول گوانین پیوند هیدروژنی داشته باشند.

سلولز نیز گزینه خوبی برای نشان دادن پلی گوانین روی آن بود، چراکه ساختاری ارزان، فراوان و در دسترس، با قابلیت مهندسی شیمی می‌باشد. این در حالی است که سلولز غیرسمی بوده و لوله گوارش انسان دست نخورده باقی می‌ماند (۱۷).

حدس‌ها بر این بود که پلی گوانین به واسطه داشتن تعداد زیادی از این جایگاه‌ها بتواند جاذب مناسبی برای این سم باشد. نخست این تئوری در محیط نرم‌افزار به چالش کشیده شد یعنی نخست ساختار اولیه پاتولین و نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین در نرم‌افزار شبیه‌ساز ساخته و سپس تعامل مولکولی بین سم پاتولین و نانو ساختار ارزیابی گردید. این قسمت کار به خوبی به ما نشان داد که نانو ذرات کونژوگه شده با پلی گوانین می‌تواند جاذب مناسبی برای پاتولین باشد. این حقیقت از نتایج حاصل از سطح انرژی بین مولکولی مشخص گردید چراکه در پایان شبیه‌سازی مقدار عددی سطح انرژی بین مولکولی کاهش یافت که بیانگر

نزدیک شدن و جذب این مولکول به همدیگر می‌باشد. لازم به ذکر است که نرم‌افزار شبیه‌ساز میزان جذب را برای ما مشخص نمی‌کند و تنها جذب شدن یا نشدن را تعیین می‌کند و می‌بایست کمیت جذب در شرایط آزمایشگاهی معلوم می‌گردید. برای اینکار در شرایط واقعی یعنی در حضور آب سیب نیز فرآیند جذب مورد ارزیابی قرار گرفت و فهمیدیم که این نانوذره در شرایط واقعی نیز کار می‌کند و خاصیت جذب دارد. در این قسمت ارتباط مستقیمی بین میزان جذب پاتولین و میزان سم اولیه در آب سیب دیده شد که یافته بسیار ارزشمند و جدیدی می‌باشد. احتمالاً چون پاتولین در آب سیب بتواند به مواد دیگری متصل شود در غلظت‌های پائین مقدار پاتولین آزاد کمتری شانس برای اتصال به نانوذرات را پیدا می‌کنند و شاید به همین دلیل چنین پدیده‌ای مشاهده گردیده است.

برای کاهش پاتولین در کنسانتره آب سیب از روش‌های مختلفی مانند استفاده از اشعه گاما، فرایند حرارتی و تخمیر صورت گرفته ولی نتایج خوبی از این تحقیقات حاصل نشده است (۹،۱۰). رویکرد دیگر جذب پاتولین به وسیله مواد جاذب می‌باشد که در این راستا مواد جاذب مختلفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. از جمله مواد جاذب پاتولین می‌توان به کربن فعال اشاره نمود که در سال‌های اخیر برای کاهش پاتولین در آب سیب در مقیاس آزمایشگاهی مطالعه گردیده و نتایج نسبتاً مطلوبی از آن به دست آمده است (۱۱،۱۲). همچنین گلوله‌های کربن فعال حاوی آلزینات و کلسیم، پودر خشک مخمر غیرفعال شده (۱۳) و دیواره سلولی برخی از باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک از جمله جاذب‌های پاتولین می‌باشند (۱۴،۱۵). Sands و همکاران در سال ۱۹۷۶ برای اولین



دیگری نیز متصل کردند و این مساله کارایی را کم و درجه اشباع پذیری را بالا می برد. در این مطالعه برای اولین بار قابلیت جذب پاتولین توسط نانوذرات سلولز اصلاح شده گزارش می گردد. از آنجایی که مطالعه مشابهی وجود ندارد تطبیق این مطالعه امکان پذیر نمی باشد.

هر چند این مطالعه به خوبی نشان داد پاتولین توسط نانوذرات کونژوگه شده با پلی گوانین جذب می گردد ولی به نظر می رسد برای کاربردی شدن این یافته علمی موارد زیر باید در تحقیقات آینده لحاظ گردد: از آنجا که هدف از این نانو ساختار این بود که در سطوح داخلی بسته بندی آب میوه و یا داخل آب میوه به صورت سوسپانسیون استفاده شود، لذا بررسی سم شناسی این نانو ذرات در صورت خورده شدن و مواجهه با سلول های لوله گوارشی مهم و اساسی است. توصیه می گردد که این نانو ذرات در تحقیق مستقل دیگری سنتز و میزان سمیت آن برای سلول های نرمال بدن انسان و حیوان مورد ارزیابی قرار گیرد. پیشنهاد می گردد در مطالعه ای میزان آزادسازی پاتولین بعد از جذب توسط نانوذرات مورد بررسی و ارزیابی قرار گیرد، چرا که احتمال دارد بعد از جذب پاتولین توسط این نانو ساختار پاتولین جدا گشته و دوباره آزاد گردد و فرآیند عکس صورت پذیرد. مسلماً آزادسازی پاتولین جذب شده وابسته به دما و pH و زمان و... می باشد که همگی مهم بوده و بایستی مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد (۱۵). در انتها می توان گفت بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق نانو ذرات کونژوگه شده با پلی گوانین به خوبی می تواند سم پاتولین را جذب نماید و احتمالاً بتوان برای مقاصد صنعتی از آن جهت حذف سم پاتولین مورد استفاده قرار داد.

بار اعلام کردند که ذغال فعال می تواند جاذب مناسبی برای پاتولین باشد و پیشنهاد استفاده از آن را برای کاهش این سم در آب میوه ها داشته اند (۱۱). Hameed و همکاران نیز در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که ذغال فعال شده می تواند جاذب مناسبی برای حذف پاتولین در آب میوه های مختلف باشد. آنها بعد از بررسی پارامترهای مختلف بر روی پروسه جذب در نهایت برای جذب پاتولین ستون متشکل از کربن فعال را پیشنهاد کردند (۱۲). Gue و همکاران در سال ۲۰۱۲ از پودر خشک مخمر غیر فعال شده برای حذف پاتولین در آب سیب استفاده نمود. آنها نشان دادند که این جاذب توانایی اتصال پایدار را با پاتولین دارد و برای می توان از آن برای کاهش این سم در غذای دام و طیور استفاده نمود (۱۳). Hatab و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که برخی از باکتری های تولید کننده اسید لاکتیک می توانند جاذب خوبی برای پاتولین باشند. این در حالی است که برخی دیگر هیچ تمایلی برای این سم ندارد (۱۴). Yue و همکاران در سال ۲۰۱۳ گلوله های کربن فعال حاوی آلژینات و کلسیم را سنتز و برای حذف پاتولین از آب سیب استفاده نمودند. آنها کارایی بالای این جاذب را در مقاله خود مطرح نموده اند (۱۵).

در مورد نقاط ضعف و قوت یافته های این تحقیق با سایر یافته ها می توان گفت طبق مطالعات ذکر شده هر چند این مواد جاذب قدرت جذب نسبتاً خوبی را دارا هستند ولی مشکلاتی نیز وجود دارد. سمیت و آزادسازی آرام اجزای تشکیل دهنده جاذب ها امکان استفاده در مواد غذایی که قرار است انسان مصرف کند را در هاله ای از ابهام فرو می برد (۱۸). مطلب بعدی آنکه این مواد به طور تخصصی پاتولین را جذب نکرده و احتمالاً بتوانند به مواد



## تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل از پایان نامه آقای مصطفی غفوری بیداخویدی  
ما را یاری کردند کمال تشکر را دارند. به ویژه از پرسنل  
آزمایشگاه پژوهش قدرانی به عمل می آید.

## References

- 1- Berthiller F, Crews C, Dall'Asta C, et al. Masked mycotoxins: a review. *Molecular nutrition & food research* 2013; 57: 165-86.
- 2- Ichinoe M. Proposal for studies of mycotoxigenic fungi in foods. *Shokuhin eiseigaku zasshi Journal of the Food Hygienic Society of Japan* 2010; 51: 292-6.
- 3- Trucksess MW, Scott PM. Mycotoxins in botanicals and dried fruits: a review. *Food additives & contaminants Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment* 2008; 25: 181-92.
- 4 -Pique E, Vargas-Murga L, Gomez-Catalan J, et al. Occurrence of patulin in organic and conventional apple-based food marketed in Catalonia and exposure assessment. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association* 2013 60:204-199
- 5- Beltran E, Ibanez M, Sancho JV, et al. Determination of patulin in apple and derived products by UHPLC-MS/MS. Study of matrix effects with atmospheric pressure ionisation sources. *Food chemistry* 2014; 142: 400-7.
- 6- Guo X, Dong Y, Yin S, et al. Patulin induces pro-survival functions via autophagy inhibition and p62 accumulation. *Cell death & disease* 2013; 4: e822.
- 7- Geiger M, Guitton Y, Vansteelandt M, et al. Cytotoxicity and mycotoxin production of shellfish-derived *Penicillium* spp., a risk for shellfish consumers. *Letters in applied microbiology* 2013; 57: 385-92.
- 8- Vansteelandt M, Kerzaon I, Blanchet E, et al. Patulin and secondary metabolite production by marine-derived *Penicillium* strains. *Fungal biology* 2012; 116: 954-61.
- 9 -Sant'Ana AS, Simas RC, Almeida CA, et al. Influence of package, type of apple juice and temperature on the production of patulin by *Byssoschlamys nivea* and *Byssoschlamys fulva*. *International journal of food microbiology* 2010; 142: 156-63.
- 10- Udagawa S. Fungal spoilage of foods and its risk assessment. *Nihon Ishinkin Gakkai zasshi = Japanese journal of medical mycology* 2005; 46: 11-5.
- 11 - Sands DC, McIntyre JL, Walton GS. Use of activated charcoal for the removal of patulin from cider. *Applied and environmental microbiology* 1976; 32: 388-91.





- 12- Hameed BH, El-Khaiary MI. Equilibrium, kinetics and mechanism of malachite green adsorption on activated carbon prepared from bamboo by  $K_2CO_3$  activation and subsequent gasification with  $CO_2$ . *Journal of hazardous materials* 2008; 157: 344-51.
- 13- Guo C, Yue T, Hatab S, et al. Ability of inactivated yeast powder to adsorb patulin from apple juice. *Journal of food protection* 2012; 75: 585-90.
- 14- Hatab S, Yue T, Mohamad O. Reduction of patulin in aqueous solution by lactic acid bacteria. *Journal of food science* 2012; 77: M238-41.
- 15- Yue T, Guo C, Yuan Y, et al. Adsorptive removal of patulin from apple juice using Ca-alginate-activated carbon beads. *Journal of food science* 2013; 78: T1629-35.
- 16- Jebali A, Hekmatimoghaddam SH, Behzadi A, et al. Antimicrobial activity of nanocellulose conjugated with allicin and lysozyme. *cellulose* 2013; 20: 2897-907.
- 17- Sims IM, Monro JA. Fiber: composition, structures, and functional properties. *Adv Food Nutr Res* 2013; 68: 81-99.
- 18- Thom DC, Davies JE, Santerre JP, et al. The hemolytic and cytotoxic properties of a zeolite-containing root filling material in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003; 95: 101-8.



## The Study of Adsorption of Patulin by Nanocellulose Conjugated with Poly Guanine in Contaminated Apple juice

Ghafari Bidakhavidi M (M.Sc Student)<sup>1</sup>, Yasini SA(Ph.D)<sup>2</sup>, Hekmatimoghaddam SH(MD)<sup>3</sup>

1. MSc Student of Food Science, Department of Food Science, Yazd Science and Research, Islamic Azad University, Yazd, Iran.
2. Corresponding author: Assistant Professor, Department of Food Science, Yazd Science and Research Branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.

### Abstract

**Introduction:** Patulin is a dangerous toxin produced by various fungi. Hence, the current study aimed to evaluate adsorption of Patulin by nanocellulose conjugated with Poly-guanine in contaminated apple juice.

**Methods:** Firstly, nanocellulose was synthesized, and then it was bonded to poly-guanine by a cross-linker. Then, concentration serial of Patulin was prepared in the apple juice, conjugated nanoparticles were added to them, and all were incubated at 37 °C. After incubation, the Patulin concentration was measured by HPLC, and finally the adsorption percentage was calculated for each tube. Regarding molecular simulation, the initial structures of Patulin and nanocellulose conjugated with Poly-guanine were inserted into Hyperchem software, and their intermolecular energy was calculated during 50 picoseconds.

**Results:** The results of the present study demonstrated that there was a significant direct correlation between the initial concentration of Patulin and the adsorption percentage of toxin. In addition, the adsorption maximum was reported 70±5 %, and the intermolecular energy between two structures was -20.3 Kcal/mol based on the computational simulation.

**Conclusions:** It can be concluded that nanocellulose conjugated with Poly-guanine seems to be a good adsorbent for Patulin, which is demanded to be used in the future studies in regard with its application.

**Keywords:** Adsorption; Apple juice; Nanocellulose; Patulin; Polyguanine