تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۲۵ / شماره ۸۰/ بهار و تابستان/۱۴۰۵/ ص ۲۱-۴۰

سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

*نوع مقاله: پژوهشی*

# تأثیر گاز ازن بر آلودگی قارچی، ویژگی‌های شیمیایی و جوانه‌زنی دانهٔ گندم (رقم مروارید)

**علیرضا قدس‌ولی** [1*]

[1] دانشیار پژوهشی، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.

**تاریخ ارسال:** ۱۴۰۴/۰۳/۲۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۴/۰۹/۱۲

## چکیده

**گندم به دلیل تامین حدود ٤٧ درصد کالری روزانهٔ خانوارهای ایرانی، مهم‌ترین محصول راهبردی بخش کشاورزی کشور محسوب می‌شود. به منظور جایگزینی روش‌های نوین و کم خطر در انبار کردن دانه‌های غلات همراه با حفظ کیفیت آن، در این تحقیق اثر غلظت گاز ازن و مدت زمان ازن‌دهی روی برخی ویژگی‌های دانه گندم رقم مروارید شامل میزان جوانه‌زنی، عدد زلنی، مقدار چربی، اسیدیته و عدد پراکسید روغن، میزان آلودگی قارچی و میزان افلاتوکسین کل پس از طی دورهٔ چهار ماههٔ نگهداری با استفاده از طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمایش‌های فاکتوریل ٤×٤ با چهار سطح غلظت گاز ازن (صفر پی.پی.ام حجمی ، ۲۵ پی.پی.ام حجمی،۵۰ پی.پی.ام حجمی و ۷۵ پی.پی.ام حجمی) و چهار سطح مدت زمان ازن‌دهی (۷، ۵، ۳ و ۱ روز) بررسی گردید. نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تیمارهای غلظت گاز ازن، مدت ازن‌دهی و اثر متقابل غلظت گاز ازن به‌همراه مدت ازن‌دهی تأثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر ویژگی‌های جوانه‌زنی، عدد زلنی، میزان آلودگی قارچی و افلاتوکسین کل دانه گندم مورد آزمایش دارد به‌طوری که کمینهٔ میزان جوانه‌زنی (٩٤ درصد) در غلظت ۷۵ قسمت در میلیون حجمی (پی.پی.ام حجمی) و بیشینهٔ آن (۹۹/۰ درصد) در غلظت‌های صفر و ۲۵ پی.پی.ام حجمی (بدون اختلاف معنی‌دار (P<۰/۰۵))، بیشینهٔ میزان رسوب زلنی (٣٤/١٩ میلی‌لیتر) در غلظت ۵۰ پی.پی.ام حجمی و کمینهٔ آن (٣٠/١٦ میلی‌لیتر) در غلظت صفر پی.پی.ام حجمی، کمینهٔ میزان آلودگی قارچی (۸۸/۳ کلنی در گرم نمونه) در غلظت ۷۵ پی.پی.ام حجمی و بیشینهٔ آن (۲۷۲۵/۰ کلنی در گرم نمونه) در غلظت صفر پی.پی.ام حجمی ، بیشینهٔ میزان تولید افلاتوکسین کل (١٤/٩٦ میکروگرم در گرم) در غلظت صفر پی.پی.ام حجمی و کمینهٔ آن (غیر قابل اندازه‌گیری) در غلظت ۷۵ پی.پی.ام حجمی مشاهده شد. نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که مدت ازن‌دهی تأثیر معنی‌دار (P<۰/۰۱) روی ویژگی‌های جوانه‌زنی، عدد زلنی، میزان آلودگی قارچی و افلاتوکسین کل دانهٔ گندم مورد آزمایش دارد به‌طوری که بیشینهٔ جوانه‌زنی (۱۰۰ درصد) با اعمال ۵ روز و کمینهٔ آن (٩٦ درصد) در مدت ۳ روز، بیشینهٔ عدد زلنی (۳۲/۷۲ میلی‌لیتر) (بدون اختلاف معنی‌دار با ۱ و ۵ روز) پس از ۳ روز و کمینهٔ آن (۳۲/۱۵ میلی‌لیتر) پس از ۷ روز مشاهده شد. نتایج تحقیق نشان داد که افزایش غلظت گاز ازن موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان آلودگی قارچی و میزان تولید افلاتوکسین کل دانهٔ گندم می‌شود. کمینهٔ میزان آلودگی قارچی (۸۸/۳ کلنی در گرم نمونه) در غلظت ۷۵ پی.پی.ام حجمی و بیشینهٔ آن (۲۷۲۵/۰ کلنی در گرم نمونه) در غلظت صفر پی.پی.ام حجمی مشاهده شد. بیشینهٔ میزان تولید افلاتوکسین کل (۱۵/۱۱ میکروگرم در گرم) در غلظت صفر پی.پی.ام حجمی و یک روز ازن‌دهی و کمینهٔ آن (غیر قابل اندازه‌گیری) با اعمال غلظت‌های بالاتر از ۵۰ پی.پی.ام حجمی در تمامی مدت‌های ازن‌دهی مشاهده شد. بنابراین، استفادهٔ کنترل شده از گاز ازن به عنوان روشی نوین و دوستدار محیط زیست در فرآوری پس از برداشت می‌تواند به بهبود کیفیت و ایمنی دانه‌های گندم در دوره انبارداری کمک کند.**

**واژه‌های کلیدی:** آلودگی قارچی، ازن، افلاتوکسین کل، عدد زلنی، گندم

نویسنده مسئول: **Email:** Ghodsvali@gmail.com http://doi: 10.22092/fooder.2026.368574.1416

© 2026,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). Which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**مقدمه**

بدون شک گندم را می‌توان مهم‌ترین محصول راهبردی مورد نظر بخش کشاورزی کشور نامید. در جهان، گندم با سطح زیر کشت ۲۲۲/۵ میلیون هکتار، عملکرد حدود ۳/۵۹ تن در هکتار و تولید سالیانه ۷۹۹/۷ میلیون تن بیشینه میزان تولید بین محصولات زراعی را به خود اختصاص داده است. سطح زیر کشت گندم در ایران ۶/۲ میلیون هکتار با عملکرد ۲۵۸۰ کیلوگرم در هکتار و تولید سالیانه ۱۶ میلیون تن است (USDA, 2025[1]). از ۶۸۰ هزار هکتار اراضی مزروعی استان گلستان حدود ۳۸۱ هزار هکتار آن به کشت گندم اختصاص دارد و سالیانه حدود ۱/۱ میلیون تن گندم در این استان تولید می‌گردد (Anon., 2022).

با وجود به‌کارگیری فناوری‌های نوین پس از برداشت، ضایع شدن محصولات در این مراحل همچنان ادامه دارد، به‌ویژه در مناطقی که زیرساخت‌های محدودی دارند. کارایی روش‌های پیشرفتهٔ کاشت و نگهداری در کاهش تلفات به اثبات رسیده است. با این حال، اجرای این روش‌ها مستلزم تأمین نهاده‌های کافی و ایجاد سیاست‌های مؤثر است (Kitinoja *et al.*, 2018). به‌منظور به‌کارگیری روش‌های نوین و ایمن‌تر برای کنترل آفات انباری، به‌جای استفاده از سموم شیمیایی مانند متیل‌بروماید و فستوکسین که از یک سو برای لایه اُزن زیان‌آور است و از سوی دیگر موجب بروز مقاومت در حشرات نسبت به فسفین‌ها می‌شوند، می‌توان به کاربرد گاز ازن در سیلوهای ذخیره‌سازی غلات اشاره کرد. به‌کارگیری گازدهی شیمیایی، مانند استفاده از فسفین، موضوع پژوهش‌های گسترده‌ای بوده است  با این حال، نگرانی‌ها در مورد آثار زیان‌بار آن بر سلامت انسان و محیط‌زیست که ناشی از سمیت و باقی‌مانده‌های آن در مواد غذایی است، منجر به محدودیت‌هایی در کاربرد آن شده است (Paul *et al.*, 2020).

در کشور ما هر ساله مقدار زیادی غله انبار می‌شود و معمولاً حشرات و قارچ‌ها مشکلات کیفی جدی و خسارت‌های زیادی را در دانه‌های انبار شده ایجاد می‌کنند. به‌طورکلی هدف اصلی در انبار کردن و ذخیره‌سازی حفظ کمیت وکیفیت دانه است به‌طوری‌که در زمان ذخیره‌سازی خواص اصلی دانه‌ها حفظ و از تغییر آنها جلوگیری شود. نگرانی‌های موجود در خصوص اثرهای منفی باقیمانده ضد عفونی‌کننده‌ها در مواد غذایی و محیط زیست مجامع نظارتی را بر آن داشته که محدودیت‌هایی را برای پذیرش و ثبت ضد عفونی‌کننده‌ها در نظر بگیرند. متیل بروماید تأثیر کشندگی نسبتاً سریعی روی حشرات دارد اما به‌دلیل ارتباط آن با از بین بردن ازن استراتوسفر زمین، در کشورهای پیشرفته و توسعه یافته از سال ۲۰۰۵ و در کشورهای در حال توسعه از سال ۲۰۱۵ از لیست ضدعفونی کننده‌ها حذف گردیده است. بر عکس، اگر چه مقاوت حشرات نسبت به فسفین افزایش پیدا کرده است ولی هم‌چنان متداول و معمول می‌باشد (Navarro,2006).

نگهداری و ذخیره‌سازی گندم فرایندی است پیچیده و فعال زیرا دانه‌ها به‌عنوان ارگانیسم زنده می‌توانند کلیهٔ اعمال حیاتی ظاهری، مانند تنفس، متابولیسم و رشد را داشته باشند و در معرض تغییرات شیمیایی و بیولوژیکی مانند کاهش قوهٔ نامیه، افزایش اسیدیته، تضعیف گلوتن، تجزیهٔ آنزیمی، از دست رفتن مواد مغذی و تغییرات ظاهری مانند شکستگی، سوراخ شدن و جوانه زدن قرار گیرند (Shingala, e*t al.*, 2024). از این‌رو باید با استفاده از روش‌های نوین سرعت این تغییرات را به حداقل رساند. یکی از این روش‌ها استفاده از گاز ازن است. ازن

[1]United States Department of Agriculture

مولکولی است بسیار ناپایدار و بـه سـرعت بـه $O_2$ تجزیـه می‌شود و یک اتم اکسیژن بسیار واکنش‌پذیر آزاد می‌کند (Mason *et al*., 2006). این اتم اکسیژن تنها با ویروس‌هـا یا غشای سلولی باکتری‌هـا واکـنش نشـان می‌دهـد و بـه اجزای سـلولی آسـیب می‌رسـاند و عملکردهـای طبیعـی سلول را مختل می‌کند. اگر ازن با یک ترکیـب آلـی فـرار تماس پیدا کند، اتم اکسیژن آزاد با آن واکنش می‌دهد و بو را از بین می‌بـرد (Shingala, e*t al*., 2024). از مزایـای دیگر گاز ازن می‌توان به سرعت و قدرت اکسـیدکنندگی بالا نسبت به دیگر مواد ضدعفونی کننده، بی‌نیاز بودن از حمل و انبارشدن مواد شیمیایی به سبب ناپایداری، تولید نکردن مواد سمی و محصولات ثانویه زیان‌بـار، تـأثیر بـر طیف گسـترده‌ای از میکروارگانیسـم‌ها و قابلیـت تجزیـهٔ ترکیبات سمی و شیمیایی و تغییرنکـردن طعـم و مـزه، رنگ، بو و کاربری آسان اشاره کرد (Li *et a*l., 2012). ازن بـــه‌عنوان جـــایگزین مناســـب بـــرای آفت‌کش‌هـــا و ضـدعفونی‌کننده‌های متـداول در زمینـه‌های نگهـداری و انبارداری محصـولات کشـاورزی، شستشـوی محصـولات کشاورزی، از بین بـردن آفـات و بیماری‌هـای مزرعـه‌ای، ضدعفونی کـردن محصـولات غـذایی، ضـدعفونی کـردن تجهیزات و آب فرآیندهای صـنایع غـذایی، بسـته‌بندی و نگهداری سردخانه‌ای گوشت و نگهـداری مـاهی اسـتفاده می‌شود (Tiwari *et al*., 2010).

بونجور و همکاران (Bonjour *et a*l., 2011) اثر گاز ازن را در غلظت‌های مختلف بر شش گونه از آفات انباری غلات طی دورهٔ ذخیره‌سازی گندم قرمز سخت زمستانه بررسی کردند و نشان دادند تیمارهای آزمایش تا غلظت ۲۶ میلی‌گرم در هر گرم دانه به مدت ۳ تا ۴ روز بر شفیرهٔ شب پره هندی موثر است. شپشهٔ برنج نیز پس از چهار روز در غلظت ۲۵ پی. پی. ام. به‌طور کامل از بین رفته است. کیفیت محصولات نهایی حاصل از غلات تیمار شده با ازن و تأثیر این گاز بر میزان اسیدهای آمینهٔ مهم، اسیدهای چرب ضروری و چربی‌های تولیدشده در بدن ارزیابی و نشان داده شد به‌کارگیری ازن برای کنترل آفات انباری در غلات، تغییر چشمگیری در ارزش غذایی و فرآیندهای متابولیکی این محصولات ایجاد نمی‌کند (Hardin, *et a*l., 2010). دابویس و همکاران (Dubois *et a*l., 2009) در بررسی رفتار گندم متأثر از غلظت‌های بالای ازن (۴۰۰۰۰ پی. پی. ام. حجمی تا ۱۲ گرم ازن به ازای هر کیلوگرم گندم) تغییر معنی‌داری را در میزان ویتامین‌های دانه، اسید فرولیک، پروتئین، کربوهیدرات و فعالیت آنزیمی گندم مشاهده نکردند. لازم است گفته شود در داخل کشور کار تحقیقاتی شاخصی در زمینهٔ کاربرد ازن در نگهداری گندم صورت نگرفته است و از این رو این تحقیق با هدف بررسی تاثیر گاز ازن با رویکرد تعیین غلظت موثر گاز ازن و مدت زمان کارآمد ازن‌دهی بر انبارمانی گندم، تعیین شرایط بهینهٔ ازن‌دهی با کمترین تغییرات کیفی، تعیین میزان تغییرات کیفی (شیمیایی، میکروبی و رویشی) گندم پس از ازن‌دهی محیط انبار، تعیین و میزان خسارت حشرات انباری پس از ازن‌دهی در دورهٔ نگهداری گندم، تعیین و میزان آلودگی قارچی و سم قارچی آفلاتوکسین پس از ازن‌دهی گندم به مرحلهٔ اجرا درآمد.

## مواد و روش‌ها

### حجم نمونه، روش نمونه‌گیری و روش ازن‌دهی

در این مطالعه از دانهٔ گندم واریته مروارید تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان استفاده گردید. مشخصات گندم مورد مطالعه از این قرار است: عدد زلنی ۲۹ میلی‌لیتر، پروتئین ۱۱/۷ درصد، وزن هزاردانه ۴۳ گرم و گلوتن مرطوب و خشک آن نیز به‌ترتیب برابر ۳۱/۱ و ۱۰/۵ درصد. برای تهیهٔ نمونه (نمونهٔ اولیه، نمونهٔ مرکب و نمونهٔ

آزمایشگاهی) از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۵۳۵ (INSO 13535, 2010) استفاده شد. برای تهیهٔ نمونه اولیه با توجه به مقدار بهر که کمتر از ۱۵ تن بود از روش نمونه‌برداری ۳ نقطه‌ای و ابزار بامبو استفاده شد که به اخذ نمونه‌ای به میزان حدود ۲ کیلوگرم انجامید. برای تهیهٔ نمونه مخلوط این عملیات در ۵ تکرار اجرا شد و بعد از مخلوط و یکنواخت کردن حدود ۱۰ کیلوگرم نمونهٔ مرکب به‌دست آمد که از این کل نمونه مرکب حدود ۲/۵ کیلوگرم نمونهٔ آزمایشگاهی تهیه و به آزمایشگاه ارسال شد. دانه‌های گندم بعد از تهیه و بوجاری شدن با دست در ظرف‌های درپوش‌دار پلی‌اتیلینی (۱۶ ظرف) با ظرفیت ۲ کیلوگرم ریخته شدند. ازن به طور الکتروستاتیکی با یک دستگاه تولید کنندهٔ ازن (مدل آریون، ساخت ایران) تولید شد. برای تیمارهای ازن‌دهی گندم از ظرف‌های پلی‌اتیلنی به ظرفیت دو کیلوگرم و مجهز به درپوش کامل لاستیکی و لوله‌های ورود و خروج گاز استفاده شد. گاز ازن از قسمت بالای ظرف نگهداری گندم با سرعت ۰/۰۲ تا ۰/۰۴ متر بر ثانیه وارد شد. هنگامی که غلظت گاز محفظه به میزان مورد نظر (غلظت‌های مورد نظر در آزمایش) رسید و نیازی به دمش بیشتر گاز نبود با مهر و موم کردن محفظه (درِ رزوه‌ای محکم، نوار تفلون روی رزوه و پارافیلم دورِ در)، دمش قطع شد. تزریق گاز تا وقتی که غلظت ازن خروجی تقریباً ثابت ماند متوقف گردید (شکل ۱). تأثیر ازن‌دهی با دو متغیر اصلی غلظت ازن در چهار سطح صفر پی.پی.ام حجمی، ۲۵ پی.پی.ام حجمی، ۵۰ پی.پی.ام حجمی و ۷۵ پی.پی.ام حجمی و در مدت زمانی (۱، ۳، ۵، و ۷ روز) پس از چهار ماه نگهداری، روی ویژگی‌های محصول گندم ارزیابی شد (Ghodsvali and Mohamadzadeh, 2022). با مفروض بودن ظرف پلاستیکی ۲ کیلوگرمی، جرم گندم ۱/۵ کیلوگرم و دمای محیط ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت گندم ۱۰ درصد، و با توجه به رابطهٔ رطوبت بذر و رطوبت نسبی تعادلی[1] (ERH) و طبق منحنی همدمای جذب/واجذب، رطوبت نسبی داخل ظرف حدود ۵۰ درصد بود. به‌طور دقیق‌تر با استفاده از جدول‌های استاندارد مقدار رطوبت تعادلی[2] (EMC) و معادله (Modified Henderson/ ASAE) و درون‌یابی خطی ساده، میزان دقیق رطوبت نسبی محیط داخل ظرف ۴۵/۷ درصد محاسبه شد. برای کنترل رطوبت نسبی در طی نگهداری گندم، ظرف‌ها کاملاً درزبندی و دما در محدودهٔ ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد ثابت نگاه داشته شد و نمونه‌ها در معرض نور و گرما قرار نگرفت. در ضمن از بسته‌های جاذب رطوبت مانند سیلیکاژل نیز استفاده گردید.

**تعیین میزان آلودگی قارچی**

ابتدا ۵۰ گرم نمونه با ۴۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات استریل برای مدت ۲ دقیقه در شیکر (بهسان، ایران) مخلوط و با انتقال ۱ میلی‌لیتر از نمونه به ۹ میلی‌لیتر محلول بافر فسفات از آن رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱تهیه شد. پس از آن ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت با استفاده از کشت سطحی به محیط کشت PDA[3] (سیب زمینی دکستروز آگار) منتقل شد. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها از کلرامفنیکل و تتراسایکلین استفاده شد. نمونه‌ها در گرم‌خانه با دمای ۳۰-۲۷ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۷ روز نگهداری شدند و در پایان این مدت میزان آلودگی دانه‌ها به قارچ (تعداد کلنی کپک و مخمر) به‌صورت واحدهای تشکیل دهنده کلنی در هر گرم نمونه گزارش شد (Mohamadzadeh *et al.*, 2021).

[1]Equilibrium Relative Humidity
[2]Equilibrium Moisture Content
[3]Potato Dextrose Agar

**شکل ۱- روش ازن‌دهی نمونه‌های گندم آزمایش**

**Figure 1. Method of ozonation of experimental wheat samples**

**تعیین میزان آفلاتوکسین کل**

در این پژوهش میزان افلاتوکسین کل[1] که مجموع افلاتوکسین‌های نوع $B_1$، $B_2$، $G_1$ و $G_2$ است، اندازه‌گیری شد. گندم عمدتاً بر اثر *آسپرژیلوس فلاووس*[2] در شرایط گرم و مرطوب و در مرحلهٔ ذخیره‌سازی آلوده می‌شود. *آسپرژیلوس فلاووس* بیشتر افلاتوکسین‌های نوع B ($B_1$، $B_2$) تولید می‌کند و نه نوع G. بنابراین در آلودگی طبیعی گندم، افلاتوکسین $B_1$ نوع غالب است، و افلاتوکسین کل تقریباً همیشه تحت‌تأثیر مقدار $B_1$ است. برای اندازه‌گیری میزان آفلاتوکسین کل از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (Knauer، آلمان) و خالص‌سازی ستون ایمونوافینیتی مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۶۸۷۲ استفاده شد (INSO 6872, 2010,2020). بدین منظور ۵۰ گرم از هر نمونه با استفاده از آسیاب (Huddinge، سوئد) آرد و از الک با قطر چشمه ۲ میلی‌متر عبور داده شد. پس از آن، نمونه با ۵ گرم نمک طعام مخلوط و به آن ۸ میلی‌لیتر متانول افزوده شد و به مدت ۳ دقیقه به شدت به‌منظور مخلوط شدن هم‌زده و سپس سانتریفوژ (Thermo، ژاپن) شد. دو میلی‌لیتر از محلول سانتریفوژ شده با ۵۰ میلی‌لیتر بافر فسفات به‌خوبی مخلوط گردید. برای تخلیص آفلاتوکسین از نمونهٔ ستون ایمیونوافینیتی استفاده شد. ابتدا ستون ایمیونوافینیتی با ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین[3] (PBS) ۰/۱ مولار و pH برابر ۷/۴ شستشو شده و ۵۲ میلی‌لیتر نمونه حاصل با سرعت ۳-۲ میلی‌لیتر در دقیقه یا ۱ قطره در ثانیه (هر میلی‌لیتر تقریبا معادل ۲۰ قطره) از ستون عبور داده شد. پس از شستشوی ستون با ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر ستون با عبور فشار ملایم هوا به‌مدت ۱۰ ثانیه خشک گردید. به‌منظور جدا کردن آفلاتوکسین متصل شده به ستون ایمیونوافینیتی، ۲ میلی‌لیتر متانول کروماتوگرافی به ستون افزوده و پس از خروج آفلاتوکسین جدا شده در ویال جمع‌آوری شد. ۲ میلی‌لیتر آب مقطر خلوص کروماتوگرافی به ویال افزوده و به شدت با ورتکس همزده شد و سپس نمونه با استفاده از صافی‌های سرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتری صاف گردید. نمونهٔ حاصل به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا با فاز متحرک آب:۶۰؛ متانول:۲۰ و استونیتریل:۲۰ و آشکارساز فلورسانس با طول موج تهییج ۳۶۵ نانومترو طول موج تحریک ۴۴۵

[1]Total Aflatoxins
[2]*Aspergillus flavus*
[3]Phosphate Buffer Saline

نانومتر تزریق شد. در این مطالعه دمای ستون ۴۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه در نظر گرفته شد و در نهایت میزان آفلاتوکسین با مقایسهٔ پیک‌های حاصل از نمونه آزمایش با نمونه استاندارد تعیین و مقدار آن بر حسب قسمت در بیلیون (ppb) گزارش شد (Beheshti *et al*., 2014).

**میزان جوانه‌زنی**

میزان جوانه‌زنی با استفاده از اتاقک‌های کشت یا ژرمیناتور ساده (Tabai Espec Corp، ژاپن) و در دمای معمولی اتاق (۱۸ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد) اندازه‌گیری - شد. بدین صورت که ۴ عدد پتری دیش انتخاب و کف آنها تا ۲ سانتی‌متر ماسه شسته ریخته شد و ۲۵ عدد گندم روی کاغذ صافی ریخته و روی آن‌ها با کاغذ صافی دیگر پوشیده شده و پس از گذشت یک هفته تعداد بذرهای جوانه‌زده شمارش و به درصد گزارش شد (Dziedzoave *et al*.,2010).

**کمیت وکیفیت پروتئین**

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین از روش کجلدال مطابق روش AOAC به شماره ۹۵۰/۰۹ ( AOAC, 2005) استفاده شد که برای تعیین پروتئین خام در خوراک دام و مواد غذایی کاربرد دارد، ابتدا نمونه (معمولاً ۰/۲ تا ۱ گرم، بسته به نوع ماده) در اسید سولفوریک غلیظ همراه با کاتالیزور مس (سولفات مس) و سولفات سدیم (افزودن برای افزایش نقطه جوش و تسریع هضم) حرارت داده می‌شود تا ترکیبات آلی تجزیه شود و نیتروژن موجود به صورت آمونیوم باقی بماند. پس از پایان هضم (معمولاً ۱/۵ ساعت پس از ورود دود سفید، ادامهٔ هضم ثابت) و خنک شدن، نمونه با آب رقیق می‌شود و با افزودن سود به قلیاییت رسانیده می‌شود تا یون آمونیوم به آمونیاک تبدیل شود. سپس آمونیاک تقطیر و در محلول اسیدی ضعیف (مثلاً اسید بوریک) جذب می‌شود. آمونیاک جذب شده با اسید استاندارد (اسید کلریدریک یا اسید سولفوریک) به کمک تیترومتری بازخوانی می‌شود. مقدار نیتروژن تعیین شده با استفاده از ضریب تبدیل (معمولاً ۶/۲۵ برای اکثر غذاها، اما بسته به ترکیب پروتئینی بین ۵/۱۸ تا ۶/۳۸ ممکن است تغییر کند) به پروتئین خام تبدیل می‌شود.

برای اندازه‌گیری کیفیت پروتئین یا عدد زلنی از روش AACC به شماره ۰۲-۶۱-۵۶ استفاده شد ( AACC, ۲۰۱۰). سرعت رسوب یک آرد که در محلول اسید لاکتیک به حال تعلیق در آمده باشد در فاصلهٔ زمانی معین به‌عنوان معیار در اندازه‌گیری کیفیت پخت تلقی می‌شود. تورم قسمت گلوتن آرد محلول در اسید لاکتیک روی سرعت رسوب یک آرد که در اسید لاکتیک به حال تعلیق در آمده باشد تأثیر می‌کند. یعنی بیشتر بودن میزان گلوتن و بهتر بودن کیفیت آن هر دو سبب کندتر شدن عدد تست سدیمانتاسیون می‌شوند. مقدار ۳/۲ گرم آرد (بر مبنای ۱۴ درصد رطوبت) وزن شد و در یک سیلندر مدرج در دار ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته و مقدار ۵۰ میلی‌لیتر برومو فنل بلو یا آب هیدراته به آن اضافه شد. عملیات مخلوط کردن بدین صورت ادامه یافت که درپوش سیلندر با دست نگه داشته شد و به‌طور افقی و به چپ و راست با فاصلهٔ حدود ۱۸ سانتی‌متر و به تعداد ۱۲ بار به هر طرف و به مدت ۵ ثانیه برای هر رفت و برگشت تکان داده شد. آرد باید در خلال این کار کاملاً معلق شود. پس از آن، سیلندر در قفسه میکسر قرار داده و در مجموع به مدت ۵ دقیقه به‌هم زده شد. در مرحلهٔ بعد سیلندر از میکسر بیرون آورده و ۲۵ میلی‌لیتر از محلول تست سدیمانتاسیون اضافه شد و دوباره داخل میکسر قرار داده و به مدت ۵ دقیقه به‌هم زده شد. سیلندر از میکسر بیرون آورده و دقیقاً مدت ۵ دقیقه به‌طور عمودی نگاه داشته شد. عدد سدیمانتاسیون

به‌دست آمده به‌شرطی که شرایط آزمایش از نظر توزین ۳/۲ گرم آرد بر اساس۱۴ درصد رطوبت دقیقاً رعایت شود احتیاج به محاسبه ندارد. عدد سدیمانتاسیون از حدود ۸ میلی‌لیتر (برای یک آرد کم پروتئین و از نوع ضعیف) تا ۷۸ میلی‌لیتر (برای یک آرد با پروتئین زیاد و گلوتن قوی) متغیر است.

رابطه (۱) $$\text{ضریب سدیمانتاسیون برای آرد} = \frac{\text{رطوبت آرد} - \text{ضریب بدست آمده}}{100 - 14}$$

رابطه (۲) $$\text{ضریب سدیمانتاسیون ویژه} = \frac{Z}{P_{14}}$$

واحد: میلی‌لیتر رسوب به ازای هر درصد پروتئین بر مبنای ۱۴ درصد (mL / %protein) این کمیت نشان می‌دهد برای هر واحد پروتئینِ نرمال‌شده، چه مقدار رسوب (Z) حاصل می‌شود.

**تند شدن چربی‌ها ( بر حسب اسیدهای چرب آزاد)**

چربی با استفاده از روش شماره Ba 6-48 استخراج شد (AOCS ،2005). حدود ۲ گرم از نمونهٔ رطوبت‌گیری شده، در یک کاغذ صافی به دقت وزن گردید و محتویات کاغذ به خوبی در آن پیچیده و در تیمبل قرار داده شد. در بالنی که از پیش خشک و به دقت وزن شده است. حدود ۲۰۰ میلی‌لیتر هگزان و یا دی‌اتیل‌اتر ریخته و تیمبل حاوی نمونه در داخل دستگاه سوکسله قرار داده شد. پس از وصل کردن بالن به دستگاه به مدت ۸-۶ ساعت به‌طور ملایم حرارت داده شد. پس از طی مدت زمان آزمایش، حلال تبخیر و بالن برای ۳۰ دقیقه در خشک‌کن قرار داده شد و نهایتاً پس از سرد شدن، توزین گردید و درصد روغن با استفاده از رابطه ۳ محاسبه شد.

رابطه (۳) روغن (درصد) =[ وزن نمونه/ (وزن بالن خالی- وزن بالن با روغن) ]×۱۰۰

**تعیین اسیدیته طبق دستور العمل ۲۱-۱-۴۱ ( AOAC, 2005)**

بیست گرم نمونه در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد. پنجاه میلی‌لیتر اتانول خنثی به نمونه اضافه و خوب مخلوط شد تا روغن به طور کامل حل شود و سپس به آن ۳-۲ قطره فنل‌فتالئین اضافه گردید. در مرحله بعد تیتراسیون با هیدروکسید پتاسیم یا هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی که به مدت ۳۰ ثانیه ماندگار باشد اجرا شد و میزان اسیدهای چرب آزاد به صورت درصد اسید اولئیک از رابطهٔ ۴ محاسبه و گزارش گردید.

رابطه (۴) $$\text{اسیدیته} = V \times C \times \frac{M}{1000} \times \frac{100}{m} = \frac{VCM}{10m}$$

V: حجم محلول استاندارد حجمی هیدروکسید سدیم برحسب میلی‌لیتر؛ C: غلظت استاندارد حجمی هیدروکسید سدیم برحسب مول بر لیتر؛ M: مولاریته بیشترین اسید در نمونه برحسب گرم (در روغن زیتون بیشترین اسید، اسید اولئیک است که مولاریته آن ۲۸۲ گرم بر مول است)؛ m: وزن نمونه برحسب گرم.

**اندازه‌گیری پراکسید**

حدود ۵ گرم نمونهٔ آزمایشگاهی آسیابی (آرد) را با ۳۰ میلی‌لیتر محلول اسید استیک – کلروفرم مخلوط شد. به این محلول ۰/۵ میلی‌لیتر یدید پتاسیم اشباع افزوده گردید و سپس محلول به‌آرامی با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد و پس از زایل شدن رنگ در حضور چسب نشاسته تیتراسیون ادامه داده شد تا رنگ آبی به‌دست آمده از بین برود. ( همراه با آزمایش نمونه، یک آزمایش شاهد نیز به‌اجرا در آمد). مقدار عدد پراکسید بر اساس رابطه ۵ محاسبه می‌گردد (AOAC ،2005).

رابطه (۵)

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{(\text{میلی‌لیتر تیوسولفات مصرفی نمونه} - \text{تیوسولفات مصرفی شاهد}) \times \text{نرمالیته تیوسولفات} \times ۱۰۰۰}{\text{وزن نمونه اولیه}}$$

**تجزیه و تحلیل آماری**

تأثیر گاز ازن با رویکرد تعیین غلظت موثر گاز ازن و مدت زمان کارآمد ازن‌دهی با دو متغیر اصلی غلظت ازن در چهار سطح (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ پی. پی. ام. حجمی) و چهار سطح مدت زمان ازن‌زنی (۱، ۳، ۵ و ۷ روز) در گندم رقم مروارید در یک دورهٔ چهار ماهه نگهداری ارزیابی شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های آزمایش با استفاده از روش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۶ تیمار در سه تکرار و نرم افزار spss نسخه ۹/۱ دنبال شد. مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($P< ۰/۰۵$) صورت پذیرفت.

## نتایج و بحث

**بررسی تأثیر تیمارهای آزمایش روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که غلظت گاز ازن، مدت ازن‌دهی و اثر متقابل غلظت گاز ازن **به‌همراه** مدت ازن‌دهی تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) بر ویژگی‌های میزان آلودگی قارچی، میزان افلاتوکسین، جوانه زنی و شاخص زلنی دانه گندم مورد آزمایش دارد (جدول ۱).

**جدول ۱- تجزیهٔ واریانس تأثیر تیمارها روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

**Table 1- Analysis of variance of the effect of treatments on the microbial, germination and chemical characteristics of experimental samples**

| متغیر مستقل independent variable | آلودگی قارچی Fungal Contamination | میزان افلاتوکسین Aflatoxin Content | جوانه‌زنی Germination | عدد زلنی Zeleny Value |
|---|---|---|---|---|
| غلظت گاز Gas Concentration | 18376002.08** | 904.2992667** | 56.2777778** | 48.1850000** |
| مدت ازن‌دهی Ozanation Duration | 536407.64** | 3.3205444** | 33.0000000** | 0.7322222** |
| غلظت گاز× مدت ازن‌دهی Gas Concentration× Ozanation Duration | 366459.49** | 2.7897222** | 32.6481481** | 1.7850000** |

**، معنی‌دار در سطح ۱ درصد؛ آلودگی قارچی، cfu/gr؛ میزان افلاتوکسین، میکروگرم بر کیلوگرم؛ جوانه‌زنی، درصد و عدد زلنی، میلی‌لیتر

**significant at 1% ; fungal contamination, cfu/gr; Aflatoxin content, µgr/kg; Germination, % and Zeleny Value, ml.

**بررسی تأثیر غلظت ازن گازی روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

با توجه به معنی‌دار بودن ($P<۰/۰۱$) غلظت گاز ازن روی میزان آلودگی قارچی و کاهش آن با افزایش دز گاز ازن، کمینهٔ میزان آن با اعمال ۷۵ پی. پی. ام. حجمی نسبت به بیشینهٔ آن در غلظت صفر، ۹۶/۸ درصد کمتر بود (جدول‌های ۱ و ۲). افزایش میزان غلظت گاز ازن موجب کاهش معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) میزان تولید افلاتوکسین گردید. با اعمال غلظت ۵۰ و ۷۵ پی. پی. ام. حجمی میزان تولید افلاتوکسین قابل اندازه‌گیری نبود و با افزایش غلظت از صفر به ۲۵ پی. پی. ام. حجمی کاهشی معادل ۸۲/۱ درصد مشاهده شد (جدول‌های ۱ و ۲). در تحقیق دیگری تأثیر آب ازن‌دهی شده در غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم ازن در لیتر روی نمونه‌های گندم تلقیح شده با سوسپانسیون اسپور *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (۱۰، $۱۰^۲$ و $۱۰^۴$ اسپور در گرم گندم) بررسی شد و نتایج نشان داد که آب ازن‌زنی شده می‌تواند رشد *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و تجمع

افلاتوکسین را به‌طور موثری محدود کند. بهترین نتایج زمانی به‌دست آمد که نمونه‌ها با ۲/۵ میلی‌گرم ازن در لیتر با آب ازن‌زنی شده و غلظت‌های ۱۰ و $10^{2}$ اسپور قارچ به‌منظور محدود کردن رشد قارچی و تولید افلاتوکسین، تیمار شده بودند، (Mohammadi *et al.*, 2015) که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

**جدول ۲- تأثیر غلظت گاز ازن بر ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

**Table 14- Influence of ozone concentration on microbial, germination and chemical characteristics of experimental samples**

| غلظت گاز ازن Ozon concentration (ppmv) | آلودگی قارچی (تعداد کلنی در گرم نمونه) Fungal contamination (cfu/gr) | افلاتوکسین Aflatoxin (میکروگرم در کیلوگرم) | جوانه‌زنی (درصد) Germination (%) | شاخص زلنی (میلی‌لیتر) Zeleny Index (ml) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 2725.0 $^{a}$ ± 47.9 | 14.96 $^{a}$ ± 0.06 | 99.0 $^{a}$ ± 0.4 | 30.16 $^{c}$ ± 0.10 |
| 25 | 1200.0 $^{b}$ ± 193.1 | 2.68 $^{b}$ ± 0.37 | 98.0 $^{b}$ ± 0.4 | 31.48 $^{b}$ ± 0.13 |
| 50 | 132.5 $^{c}$ ± 13.6 | - | 99.0 $^{a}$ ± 0.2 | 34.19 $^{a}$ ± 0.8 |
| 75 | 88.3 $^{c}$ ± 3.7 | - | 94.0 $^{c}$ ± 0.2 | 34.13 $^{a}$ ± 0.4 |

میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) ندارند. مقادیر، میانگین‌های حاشیه‌ای هستند که با میانگین‌گیری بروی تمام سطوح عامل دیگر و تکرارها به‌دست آمده‌اند.

The results are: Mean of 5 repetitions ± SE. Column values followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$). Values are marginal means calculated across all levels of the other factor and replications

مقادیر ارائه شده در جدول ۲ میانگین‌های حاشیه‌ای برای هر سطح غلظت هستند (میانگین‌گیری روی همه سطوح روزها). ساوی و همکاران (Savi *et al.*, 2014) در بررسی تأثیر ازن بر رشد و فعالیت *فوزاریوم گرامینارم*[1] روی گندم گزارش کردند که افزایش غلظت گاز ازن به‌طور معنی‌داری در غیر فعال کردن قارچ *فوزاریوم گرامینارم* موثر است. بونجور و همکاران (Bonjour *et al.*, 2011) اثر گاز ازن را با غلظت‌های مختلف (صفر، ۲۵، ۵۰ و ۷۰ پی.پی.ام حجمی) بر شش گونه از آفات انباری غلات (گندم قرمز سخت زمستانه) در دورهٔ ذخیره‌سازی بررسی کردند و نشان دادند فقط پس از ۴ روز در غلظت ۵۰ یا ۷۰ پی.پی.ام حجمی.، ۱۰۰ درصد مرگ و میر در بالغ‌ها *تریبولیوم کاستانئوم*[2] مشاهده شد و پس از ۴-۲ روز در غلظت ۷۰ پی.پی.ام. حجمی هیچ زاد و ولدی در مورد *تریبولیوم کاستانئوم* اتفاق نیفتاد.

وانگ و همکاران (Wang *et al.*, 2016) اثر تخریبی سه روش ازن‌دهی (ازن گازی خشک، روش مرطوب و روش آبکی) را روی افلاتوکسین $B_1$ و سایر مایکوتوکسین‌ها در دانه گندم مقایسه کردند و نشان دادند روش مرطوب ضدعفونی با ازن بهتر از روش خشک می‌تواند در تخریب افلاتوکسین $B_1$ عمل کند و نیز روش آبکی اثر تخریبی خوبی دارد. ضد عفونی‌کردن با ازن فقط برای محافظت دانه‌های انبار شده قابل استفاده است و نمی‌توان از آن برای نگهداری و انبارداری بذر استفاده کرد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

با توجه به معنی‌دار بودن ($P<0/01$) غلظت گاز ازن روی میزان جوانه‌زنی و کاهش آن با افزایش دز گاز ازن، کمینهٔ میزان آن با اعمال ۷۵ پی. پی. ام. حجمی نسبت به بیشینهٔ آن در غلظت صفر، ۵/۱ درصد کمتر است

[1] *Fusarium graminearum*
[2] *Tribolium castaneum* (Herbst)

(جدول‌های ۱ و ۲). در تحقیق دیگری مشخص شده است که استفاده از ازن با غلظت ۵۰ پی.پی.ام. تأثیری روی جوانه‌زنی دانه ذرت ندارد و اگر غلظت ازن کمتر از ۰/۹۸ میلی‌گرم در گرم دانه در دقیقه حفظ شود، حتی پس از ۴۵ روز نیز تأثیری روی جوانه‌زنی دانه ذرت مشاهده نخواهد شد. ازن تنها زمانی می‌تواند روی سرعت و مقدار جوانه‌زنی تأثیرگذار باشد که در غلظت‌های بالا و مدت ازن‌دهی کوتاه به‌کار رود. کارآیی ازن‌زنی بر حسب ماهیت و حالت محصول هدف و نیز شرایط ازن‌زنی (دما، مدت زمان، مقدار آب) متفاوت است (Chandra Verma, 2018). تحقیقات دیگر پژوهشگران نیز نشان می‌دهد که استفاده از مقادیر بهینهٔ ازن موجب افزایش جوانه‌زنی و مقادیر بالاتر از آن سبب کاهش میزان جوانه‌زنی می‌شود که همگی با نتایج این تحقیق همخوانی دارد از جمله: اینکه استفاده از ازن برای بهبود جوانه‌زنی بذرهای گندم زمستانه نه تنها موجب افزایش میزان جوانه‌زنی می‌شود، بلکه انرژی جوانه‌زنی آن‌ها را نیز تقویت می‌کند (Avdeeva, 2018)؛ اعمال مقادیر کمی از ازن به بذرهای گوجه‌فرنگی (لیکوپرسیکون اسکولنتوم[1]) منجر به افزایش میزان جوانه‌زنی و رشد نشاهایی با ریشه‌های بلندتر می‌شود (Sudhakar, 2011). بهبود رشد ریشه در نشاهای تیمار شده با ازن ممکن است با افزایش تولید اسید جاسمونیک مرتبط باشد (Violleau, 2008).

افزایش میزان غلظت گاز ازن موجب کاهش معنی‌دار ($P<0/01$) میزان رسوب زلنی گردید چنان‌که بیشینهٔ آن با اعمال غلظت ۵۰ و ۷۵ پی. پی. ام. حجمی (بدون اختلاف معنی‌دار) نسبت به کمینهٔ آن در غلظت صفر افزایشی معادل ۱۳/۴ درصد را نشان می‌دهد (جدول‌های ۱ و ۲). آزمون زلنی روشی است که با آن کیفیت گلوتن آرد گندم آشکار خواهد شد و مبتنی بر میزان رسوب ذرات آرد در محلول موسوم به محلول زلنی (مخلوط ایزوپروپانول و اسید لاکتیک) است. بدیهی است هر چه درجهٔ هیدراته شدن ذرات در محلول فوق بیشتر باشد، گلوتن کیفیت بهتری خواهد داشت. اگر پروتئین‌های گلوتن در آب قرار بگیرند، آب جذب می‌کنند و متورم می‌شوند. حجم ذرات متورم شده یا به هم چسبیدهٔ آرد معیار کیفیت آرد در نظر گرفته می‌شود. از روی میزان رسوب می‌توان به کیفیت گلوتن و نیز قابلیت پخت آرد پی برد. هرچه میزان رسوب بیشتر باشد، کیفیت گلوتن و آرد بهتر است. عدد رسوب بیش از ۴۰ میلی‌لیتر خیلی قوی، رسوب ۳۰ تا ۴۰ میلی‌لیتر قوی، رسوب ۲۵ تا ۲۹ میلی‌لیتر کافی، رسوب ۲۴ تا ۲۰ میلی‌لیتر متوسط و رسوب کمتر از ۲۴ میلی‌لیتر ضعیف است. رسوب کمتر از ۲۰ میلی‌لیتر (خیلی ضعیف) باعث می‌گردد آرد، آب کمتری جذب کند و خمیر حاصل مرطوب، شل و وارفته شود. به‌طورکلی خمیر حاصل در مقابل تخمیر زیاد، حساس است. از سوی دیگر، اگر رسوب آرد بیش از ۴۰ میلی‌لیتر باشد هم مشکلاتی را در فرایند تولید نان ایجاد می‌کند. در این شرایط باید خمیر با مخلوط‌کن‌های دور سریع زده شود و از مواد افزودنی مناسب برای تعدیل کیفیت آن استفاده گردد (Ghodsvali, 2017). بهبوددهندگی عوامل اکسیدکننده از واکنش آنها با گروه‌های سولفیدریل (SH-) ناشی می‌شود. بدین صورت که برخی گروه‌های سولفیدریل غیر گلوتنی که برای ماتریکس پروتئین خمیر آسیب‌پذیرند برداشته می‌شوند و می‌توانند به گروه‌های دی‌سولفید اکسید شوند و بنابراین اثر مفید ایجاد می‌شود (Sitoe, *et al.*, 2025).

اوبادی و همکاران (Obadi, *et al.*, 2016) گزارش کرده‌اند که پس از تیمار پروتئین‌های جدا شدهٔ گندم با گاز ازن (با دبی ۵ گرم در ساعت) به مدت حداکثر یک ساعت، کاهش در گروه‌های سولفیدریل و تغییراتی در

[1] *Lycopersicon esculentum*

گلوتن و زیرواحدهای گلوتنین مشاهده می‌شود. در تحقیق دیگری بیان شده است که ازن در تماس مستقیم با دانه است و ویژگی‌های گندم را فوراً و مستقیماً اصلاح می‌کند. پایداری و مقاومت خمیر با ازن‌دهی در غلظت ۴۰ پی.پی.ام. در مقایسه با شاهد افزایش نشان می‌دهد (El-Desouky *et al.*, 2013).

**بررسی تأثیر مدت ازن‌دهی روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

مقادیر ارائه شده در جدول ۳ میانگین‌های حاشیه‌ای برای هر سطح مدت ازن‌دهی هستند (میانگین‌گیری روی همه سطوح غلظت). نتایج این تحقیق نشان داد که با توجه به معنی‌دار بودن (P<۰/۰۱) مدت ازن‌دهی روی میزان آلودگی قارچی و کاهش آن با افزایش مدت، کمینهٔ میزان آن با اعمال ۷ روز نسبت به بیشینهٔ آن در مدت ۱ روز، ۳۵/۶ درصد کمتر است (جدول‌های ۱ و ۳). افزایش مدت ازن‌دهی موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان تولید افلاتوکسین گردیده است. با افزایش مدت از ۱ روز (بیشینهٔ مقدار) به ۷ روز (کمینهٔ مقدار) کاهشی معادل ۱۷/۰ درصد مشاهده می‌شود (جدول‌های ۱ و ۳).

**جدول ۳- تأثیر مدت ازن‌دهی بر ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

**Table 15- Influence of ozonation duration on microbial, germination and chemical characteristics of experimental samples**

| مدت ازن‌دهی Ozonation duration (days) | آلودگی قارچی (تعداد کلنی در گرم نمونه) Fungal contamination (cfu/gr) | افلاتوکسین Aflatoxin (میکروگرم در کیلوگرم) | جوانه‌زنی (درصد) Germination (%) | عدد زلنی (میلی‌لیتر) Zeleny Index (ml) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1294.2 $^{a}$ ± 352.7 | 9.84 $^{a}$ ± 2.36 | 97.0 $^{c}$ ± 0.6 | 32.48 $^{a}$ ± 0.10 |
| 3 | 1120.8 $^{b}$ ± 333.0 | 8.90 $^{c}$ ± 2.68 | 96.0 $^{d}$ ± 0.2 | 32.72 $^{a}$ ± 0.13 |
| 5 | 897.5 $^{c}$ ± 318.5 | 8.38 $^{c}$ ± 2.86 | 100.0 $^{a}$ ± 0.3 | 32.62 $^{a}$ ± 0.8 |
| 7 | 833.3 $^{c}$ ± 329.4 | 8.17 $^{d}$ ± 3.08 | 98.0 $^{b}$ ± 0.4 | 32.15 $^{b}$ ± 0.4 |

میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار. در هر ستون میانگین های دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌دار (P < 0.05) ندارند. . مقادیر، میانگین‌های حاشیه‌ای هستند که با میانگین‌گیری روی تمام سطوح عامل دیگر و تکرارها به‌دست آمده‌اند.

The results are: Mean of 5 repetitions ± SE. Column values followed by the same letter are not significantly different (P < 0.05). Values are marginal means calculated across all levels of the other factor and replications

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که با توجه به معنی‌دار بودن (P<۰/۰۱) مدت ازن‌دهی روی میزان جوانه‌زنی بیشینهٔ میزان آن با اعمال ۵ روز نسبت به کمینهٔ آن در مدت ۳ روز، ۴/۲ درصد بیشتر است (جدول‌های ۱ و ۳). افزایش مدت ازن‌دهی موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان رسوب زلنی شده است. با افزایش مدت از ۳ روز (بدون اختلاف معنی‌دار با ۱ و ۵ روز) به ۷ روز (کمینهٔ مقدار) کاهشی معادل ۱/۷ درصد مشاهده می‌شود (جدول‌های ۱ و ۳). این کاهش احتمالاً ناشی از اثر اکسیداسیون تجمعی ازن بر پروتئین‌ها و ساختار گلوتن دانه است. ازن یک اکسیدان قوی است و می‌تواند تغییراتی در پروتئین‌های دانه ایجاد کند و توان تشکیل شبکهٔ گلوتن را کاهش دهد، که سرانجام موجب کاهش رسوب زلنی می‌شود. کاهش جزئی در مدت‌های کوتاه‌تر (۵–۱روز) نشان می‌دهد که اثر اکسیداسیون زمان‌بر و تجمعی است و برای ایجاد تغییر قابل اندازه‌گیری در کیفیت گلوتن نیاز به مدت طولانی‌تر دارد (Lin *et al.*, 2025). نتایج پژوهش دیگری نشان می‌دهد که افزایشی تدریجی در حجم مخصوص نان مطابق با مدت زمان ازن‌دهی وجود دارد. به عبارت دیگر، ارزیابی

حسی نان نشان می‌دهد که دانه‌های گندم ازن‌دهی شده، در مقایسه با شاهد، رنگ خوب قشر سطحی نان دارند. به‌علاوه، پذیرش کلی نان به‌طور معنی‌دار و مستقیم تحت تأثیر مدت زمان ازن‌دهی است (El-Desouky *et al.*, 2013). این نتایج نشان می‌دهد که کوتاه بودن مدت ازن‌دهی می‌تواند قدرت خمیر را افزایش دهد، و بالعکس آن نیز صادق است که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. گاز ازن موجب اکسیداسیون پروتئین‌های گندم می‌گردد. اگر پروتئین‌های گندم به مدت طولانی (۶۰ دقیقه) در معرض گاز ازن قرار داده شوند، کیفیت پروتئین‌های گندم تخریب می‌شود (Obadi *et al.*, 2016). این نتیجه‌گیری با نتایج تحقیق حاضر از این نظر همخوانی دارد که کاهش میزان رسوب زلنی همراه بوده است با بالا بودن مدت ازن‌دهی.

همراه با افزایش مدت زمان تیمار ازن‌دهی، از میزان گروه‌های آزاد گروه‌های سولفیدریل در گلوتن، گلوتنین و گلیادین گندم به‌طور قابل توجهی کاسته می‌شود. این امر با تشکیل پیوندهای دی‌سولفید در این پروتئین‌ها در واکنش به تیمار ازن‌دهی مرتبط است. میزان گروه‌های سولفیدریل در گلوتن با افزایش تیمار ازن‌دهی از ۷/۱۲ به ۴/۸۸ میکرو مول بر گرم کاهش می‌یابد. میزان گروه‌های سولفیدریل با افزایش تیمار ازن‌دهی در گلوتنین و گلیادین به‌ترتیب از ۴/۲۰ به ۲/۵۰ میکرو مول بر گرم و از ۲/۰۴ به ۱/۱۰ میکرو مول بر گرم کاهش می‌یابد. نتایج دلالت براین امر دارد که پروتئین‌های تیمار شده با ازن برای مدت طولانی می‌تواند موجب تقسیم و شکستن پیوندهای دی‌سولفید (پیوندهای S-S) گردد که این مسئله به شکسته شدن ساختمان پروتئین کمک می‌کند و پپتیدهای ناپایدار و پیوندهای آمیدی گسسته و قطع می‌گردند. اکسیداسیون گلوتن و گلوتنین حاصل از تیمار با ازن (۶۰ دقیقه) موجب گسست پلی‌مری جزئی پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا می‌شود و میزان پلیمر پروتئینی با وزن مولکولی پایین را افزایش می‌دهد (Chittrakorn *et al.*, 2014). اغلب واکنش‌های اکسیداتیو ناشی از ازن هنگامی رخ می‌دهند که ازن به‌طور مستقیم با اجزای آرد، به‌ویژه پروتئین‌های گلوتنی، در تماس باشد. با این حال، مطالعات متعددی از جمله اوبادی و همکاران (Obadi *et al.*, 2018) و لی و همکاران (Li *et al.*, 2021) نشان داده‌اند که تیمار گندم کامل با ازن نیز می‌تواند باعث ایجاد تغییرات فیزیکوشیمیایی و ساختاری در دانه شود که در نتیجه بر ویژگی‌های رئولوژیکی آرد حاصل نیز تأثیرگذار است. ازن دارای قدرت اکسیدکنندگی بالا و نفوذپذیری قابل توجهی است و می‌تواند تا حدی در لایه‌های سطحی دانه نفوذ کند. این نفوذ موجب اکسید شدن گروه‌های تیولی (-SH) و تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی (-S–S–) بین زنجیره‌های گلوتنین می‌شود. این واکنش‌های اکسیداتیو پس از آسیاب و تشکیل خمیر باعث تقویت شبکهٔ گلوتنی و افزایش عدد زلنی می‌شوند. افزون بر این، ازن می‌تواند ترکیبات فنولی و چربی‌های آزاد موجود بر سطح دانه را اکسید کند و محیطی با پتانسیل اکسیداتیو بالاتر به‌وجود آورد که در فرآیند تشکیل خمیر به پایداری و استحکام بیشتر گلوتن کمک می‌کند. بنابراین، افزایش ۴ میلی‌لیتر در عدد زلنی پس از تیمار با ۵۰ پی‌پی‌ام ازن به مدت سه روز از نظر علمی قابل توجیه است، هرچند اگر تیمار مستقیماً بر آرد اعمال می‌شد، اثر آن احتمالاً بیشتر می‌بود.

**بررسی تأثیر متقابل غلظت گاز ازن به‌همراه مدت ازن‌دهی روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

مقادیر جدول ۴ میانگین‌های سلولی برای ترکیب‌های خاص غلظت به‌همراه روز هستند. نتایج این تحقیق نشان

داد که افزایش غلظت گاز ازن به‌همراه افزایش مدت ازن‌دهی موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان آلودگی قارچی می‌شود چنان‌که کمینهٔ میزان آن با اعمال ۷۵ پی. پی. ام. حجمی گاز ازن و ۷ روز نسبت به بیشینهٔ آن در صفر پی. پی. ام. حجمی گاز ازن و مدت ۱ روز، ۹۴/۴ درصد کمتر است (جدول‌های ۱ و ۴).

**جدول ٤- تأثیر متقابل غلظت گاز ازن** به‌همراه **مدت ازن‌دهی روی ویژگی‌های میکروبی، رویشی و شیمیایی نمونه‌های آزمایش**

**Table 15- Influence of interaction of ozonation duration× ozonation duration on microbial, germination and chemical characteristics of experimental samples**

| غلظت ازن (Ozone concentration) (ppmv) | مدت ازن‌دهی Ozonation duration (days) | آلودگی قارچی (تعداد کلنی در گرم نمونه) Fungal contamination (cfu/gr) | افلاتوکسین Aflatoxin (میکروگرم در کیلوگرم) (µgr/kg) | جوانه‌زنی (درصد) Germination (%) | عدد زلنی (میلی‌لیتر) Zeleny Index (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | 2800.0 $^{a}$ ± 57.7 | 15.11 $^{a}$ ± 0.20 | 98.0 $^{b}$ ± 0.3 | 30.00 $^{i}$ ± 0.15 |
| | 3 | 2733.3 $^{a}$ ± 145.3 | 14.89 $^{ab}$ ± 0.02 | 100.0 $^{a}$ ± 0.3 | 30.07 $^{i}$ ± 0.30 |
| | 5 | 2666.7 $^{a}$ ± 88.2 | 14.77 $^{b}$ ± 0.03 | 100.0 $^{a}$ ± 0.0 | 30.30 $^{i}$ ± 0.17 |
| | 7 | 2700.0 $^{a}$ ± 115.5 | 15.06 $^{a}$ ± 0.08 | 98.0 $^{b}$ ± 0.0 | 30.27 $^{i}$ ± 0.26 |
| 25 | 1 | 2066.7 $^{b}$ ± 33.3 | 4.56 $^{c}$ ± 0.08 | 98.0 $^{b}$ ± 0.0 | 30.97 $^{h}$ ± 0.12 |
| | 3 | 1533.3 $^{c}$ ± 88.2 | 2.91 $^{d}$ ± 0.04 | 97.0 $^{b}$ ± 0.0 | 31.37 $^{gh}$ ± 0.20 |
| | 5 | 733.3 $^{d}$ ± 33.3 | 1.98 $^{e}$ ± 0.03 | 100.0 $^{a}$ ± 0.0 | 31.53 $^{g}$ ± 0.09 |
| | 7 | 466.7 $^{e}$ ± 33.3 | 1.28 $^{f}$ ± 0.02 | 97.0 $^{b}$ ± 0.6 | 32.07 $^{f}$ ± 0.12 |
| 50 | 1 | 206.7 $^{ef}$ ± 12.0 | - | 99.0 $^{a}$ ± 0.3 | 33.93 $^{e}$ ± 0.12 |
| | 3 | 123.3 $^{fg}$ ± 3.3 | - | 100.0 $^{a}$ ± 0.3 | 34.60 $^{abc}$ ± 0.06 |
| | 5 | 106.7 $^{fg}$ ± 3.3 | - | 98.0 $^{a}$ ± 0.0 | 34.17 $^{cde}$ ± 0.09 |
| | 7 | 93.3 $^{fgh}$ ± 3.3 | - | 100.0 $^{a}$ ± 0.3 | 34.07 $^{de}$ ± 0.09 |
| 75 | 1 | 103.3 $^{gh}$ ± 3.3 | - | 94.0 $^{c}$ ± 0.7 | 35.03 $^{a}$ ± 0.09 |
| | 3 | 93.3 $^{gh}$ ± 3.3 | - | 86.0 $^{d}$ ± 0.7 | 34.83 $^{ab}$ ± 0.09 |
| | 5 | 83.3 $^{gh}$ ± 3.3 | - | 100.0 $^{a}$ ± 0.0 | 34.47 $^{bcd}$ ± 0.09 |
| | 7 | 73.3 $^{h}$ ± 3.3 | - | 98.0 $^{b}$ ± 0.3 | 32.20 $^{f}$ ± 0.36 |

میانگین ۵ تکرار ± انحراف معیار. در هر ستون میانگین‌های دارای حروف یکسان اختلاف معنی‌دار (P < 0.05) ندارند. مقادیر، میانگین‌های سلولی (cell means) هستند که مربوط هستند به ترکیب غلظت ازن و مدت زمان ازن‌دهی .

The results are: Mean of 5 repetitions ± SE. Column values followed by the same letter are not significantly different (P < 0.05). Values represent means for each concentration × duration combination

افزایش غلظت گاز ازن به‌همراه افزایش مدت ازن‌دهی نیز موجب کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان تولید افلاتوکسین گردید، چنان‌که با اعمال غلظت ۵۰ و ۷۵ پی. پی. ام. حجمی و مدت‌های مورد نظر در آزمایش میزان تولید افلاتوکسین قابل اندازه‌گیری نبود و تیمار غلظت ۲۵ پی. پی. ام. حجمی و مدت ۷ روز با کمینهٔ میزان افلاتوکسین نسبت به بیشینهٔ آن در تیمار غلظت صفر پی. پی. ام. حجمی و مدت ۱ روز، کاهشی معادل ۹۲/۲ درصد نشان داد (جدول‌های ۱ و ۴). افزایش غلظت گاز ازن می‌تواند اثر مخربی بر دانهٔ گندم داشته باشد، از

جمله اکسید شدن چربی‌ها و اسیدهای چرب غیراشباع، تخریب جزئی پروتئین‌ها و اسیدهای آمینهٔ حساس مانند متیونین و سیستئین، کاهش فعالیت آنزیم‌های زندهٔ بذر و در نتیجه افت قدرت جوانه‌زنی و کیفیت تغذیه‌ای. ازن در مقادیر بالا نیز ممکن است موجب آسیب‌دیدگی ساختار پوسته و افزایش شکنندگی یا تغییر رنگ دانه شود (Li, *et al*., 2021;Wang, *et al*., 2016;Tiwari, *et al*., 2010; Savi, *et al*., 2014;). آلن و همکاران (Allen *et al*., 2003) تأثیر غلظت و مدت ازن‌دهی را بر فعالیت قارچ‌ها در انبار نگهداری جو و تأثیر آن بر میزان جوانه‌زنی جو بررسی کردند و نشان دادند ازن تأثیر معنی‌داری بر کاهش رشد قارچ‌های جو (در شکل اسپوری و یا میسلیوم) دارد. در عین حال میسلیوم مقاومت کمتری به ازن نشان داده است. با ۵ دقیقه ازن‌دهی۹۶ درصد از اسپورها و میسلیوم‌ها با به‌کارگیری به ترتیب ۰/۱۶ و ۰/۱ میلی‌گرم ازن به ازای هر گرم جو بر دقیقه غیر فعال شده‌اند. این محققان گزارش داده‌اند ازن‌دهی در غلظت‌های بالاتر سبب کاهش قدرت جوانه‌زنی جو شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که تأثیر غلظت گاز ازن به‌همراه مدت ازن‌دهی موجب تغییر معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان رسوب زلنی می‌شود، چنان‌که غلظت‌های زیاد در مدت زمان کوتاه‌تر موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۵) میزان رسوب زلنی گردید و غلظت ۷۵ پی. پی. ام. حجمی گاز ازن به مدت یک روز ازن‌دهی بیشینهٔ مقدار را به خود اختصاص داد که نسبت به کمینهٔ آن در نمونهٔ شاهد، ۱۶/۸ درصد بیشتر بود (جدول‌های ۱ و ۴). نتایج این آزمایش نشان داد که پس از ازن‌دهی تغییر معنی‌داری (p<۰/۰۵) در میزان پروتئین روی نمی‌دهد. این نتایج با نتایج مطالعات وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2016) و خوزه و همکاران (Gozé, *et al*. 2017) همخوانی دارد که گزارش کرده‌اند میزان پروتئین گندم تیمار شده با ازن تفاوت معنی‌داری با مشابه خود و تیمار نشده با ازن ندارد. تفاوت بین نتایج به‌دست آمده از مطالعات روی گندم و ذرت می‌تواند مرتبط با اثر ماتریکس نمونه باشد. دانه‌های ذرت به شکل پودری درآمده و از این رو متخلخل بودند در حالی که ازن نمی‌تواند به داخل دانه‌های کامل گندم نفوذ کند.

گلوتنین و گلیادین ۸۵-۸۰ درصد از پروتئین کل آرد گندم را تشکیل می‌دهند و مسئول الاستیسیته و کشش‌پذیری هستند که برای عملکرد آرد گندم ضروری است (Singh and MacRitchie,2001). تأثیر ازن بر دانه گندم عمدتاً به سطوح بیرونی دانه محدود می‌شود، زیرا این گاز ناپایدار قدرت نفوذ اندکی در لایه‌های درونی آندوسپرم دارد. ازن با اکسید کردن گروه‌های سولفیدریل و ترکیبات فنولی موجود در پوشش دانه، موجب کاهش بار میکروبی و غیرفعال شدن آنزیم‌های سطحی از جمله لیپاز و پراکسیداز می‌گردد. هرچند تغییر مستقیم در ساختار پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم در این مرحله اندک است، اما اثر اکسیداتیو حاصل از تیمار ازن به‌صورت غیرمستقیم موجب تغییر رفتار پروتئین‌ها طی آسیاب شدن و فرآیند تهیهٔ آرد می‌شود. در واقع، آرد حاصل از دانه‌های ازن‌دیده تمایل بیشتری به تشکیل پیوندهای دی‌سولفید میان زیرواحدهای پروتئینی نشان می‌دهد که این امر به افزایش سهم پروتئین‌های پلیمری غیرقابل استخراج و استحکام بیشتر شبکه گلوتنی منجر می‌شود. بنابراین، می‌توان گفت تیمار ازن در مرحلهٔ پیش از آسیاب کردن گندم علاوه بر اثر ضدمیکروبی، تأثیری تعدیل‌کننده و بهبوددهنده بر کیفیت پروتئینی آرد گندم نرم دارد (Naguib, 2013). بر اثر تیمار ازن، گروه‌های تیولی (-SH) پروتئین‌ها اکسید شده و پیوندهای دی‌سولفیدی (-S-S-) بین باقی‌مانده‌های سیستئین شکل

می‌گیرد. افزایش این نوع پیوندها موجب استحکام بیشتر شبکهٔ پروتئینی و افزایش میزان پروتئین‌های پلیمری غیرقابل استخراج در آرد گندم نرم می‌گردد (Chittrakorn *et al.*, 2014). دز زیاد و ازن‌دهی کوتاه مدت ممکن است قدرت خمیر را به دلیل افزایش تشکیل پیوندهای دی‌سولفید بهبود بخشد. پروتئین‌های پلیمری غیر قابل استخراج به‌طور مثبت با قدرت خمیر در ارتباط هستند (Lee, *et al.*, 2017) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد.

تیمار ازن‌دهی، مقدار پروتئین‌های پلیمری غیر قابل استخراج را افزایش می‌دهد. افزایش در میزان پروتئین‌های پلیمری غیر قابل استخراج می‌تواند قدرت خمیر را بهبود بخشد و در نتیجه موجب افزایش مدت زمان توسعه خمیر گردد (Sandhu, *et al.*, 2011). اسیدهای امینه ممکن است بر اثر ازن اکسیده شوند. در حقیقت، تیروزین بر اثر ازن به دی‌تیروزین اکسیده می‌شود. برخی از محققان دی‌تیروزین را در آرد گندم، خمیر و نان اندازه‌گیری و گفته‌اند دی‌تیروزین می‌تواند اتصال عرضی پایدار کنندهٔ جدید در گلوتن گندم علاوه بر پیوندهای دی‌سولفیدی باشد (Takasaki, *et al.*, 2005). نگهداری دانه‌ها در محیطی با غلظت‌های بالای ازن ویژگی‌های رئولوژیکی دانه‌ها را تحت تأثیر قرار نمی‌دهد. برای مثال، اثر ازن روی کنترل آفات برای دانه‌های انبار شدهٔ گندم بررسی و گزارش شده است که تیمار ازن تغییر معنی‌داری در ویژگی‌های پخت نان گندم سخت ایجاد نمی‌کند (Wang *et al.*, 2016; Gozé, *et al.* 2017). در آزمایشی دیگر پروتئین‌های استخراج شده از آرد گندم تحت تأثیر گاز ازن قرار داده شدند (Obadi *et al.*, 2016). نتایج این کار نشان داد که میزان گروه سولفیدریل در پروتئین‌های گندم در دامنهٔ ۱/۱ تا ۷/۱۲ میکرو مول بر گرم قرار دارد. میزان گروه سولفیدریل در مورد تمامی پروتئین‌های ازن‌دهی شده کمتر از مورد مشابه خود در نمونه‌های شاهد بوده است. همراه با افزایش مدت زمان ازن‌دهی از صفر تا ۳۰ دقیقه، مدول نگهداری ($\acute{G}$) و مدول افت گلوتن و گلوتنین تمایل به افزایش به ترتیب از ۷/۸۴ به ۱۰/۲۰ کیلو پاسکال و ۴۳/۱۹ به ۴۸/۲۸ کیلو پاسکال، و از ۳/۳۳ به ۴/۰۶ کیلو پاسکال و ۲۰/۷۴ به ۲۲/۵۶ کیلو پاسکال داشتند. گلیادین مونومرهایی با پیوندهای دی‌سولفید درون زنجیره‌ای است در حالی که پلیمرهای گلوتنین پیوندهای دی‌سولفید درون زنجیره‌ای و بین زنجیره‌ای دارند. پیوندهای دی‌سولفید عاملی مهم در حفظ شبکهٔ ساختمانی گلوتن شناخته شده‌اند. از گسست پلی‌مری گلوتن با شکستن پیوندهای دی‌سولفید برای افزایش میزان گروه‌های آزاد سولفیدریل استفاده می‌شود (Sitoe, *et al.*, 2025). افزایش پیوندهای دی‌سولفید موجب بهبود ماتریکس گلوتن از طریق اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل می‌شود و از این رو پیوندهای عرضی پلیمرهای پروتئین را افزایش می‌دهد. تیمار ازن گروه‌های سولفیدریل را به پیوندهای دی‌سولفید اکسیده می‌کند که این امر افزایش قدرت خمیر را به همراه دارد (Sandhu, *et al.*, 2011). نتایج برخی تحقیقات نشان می‌دهد ساختمان ورقه‌ای بتا- هلیکس و آلفا- هلیکس نسبت به عمل ازن حساسیت نشان می‌دهد. تغییر در میزان ساختمان ورقه‌ای بتا- هلیکس و ساختمان‌های تصادفی مارپیچ پروتئین‌های در معرض تیمار با ازن موجب می‌شود پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی در ساختمان ورقه‌ای بتا- هلیکس تحت تأثیر قرار گیرند. میسرا و همکاران (Misra *et al.*, 2015) و سافونوا و همکاران (Safonova *et al.*, 2011) بر اساس نتایج حاصل از اسپکتروسکوپی FTIR گزارش داده‌اند که گاز ازن روی ساختمان دوم پروتئین‌های آرد گندم تأثیرگذار است. در

مطالعه‌ای به اثبات رسید که ازن‌دهی گازی تحت شرایط ۱۰ تا ۶۰ میلی‌گرم در لیتر غلظت ازن و مدت زمان ازن‌دهی از ۲ تا ۵ ساعت و جرم دانه از ۲ تا ۵ کیلوگرم، نمی‌تواند موجب ایجاد تأثیر منفی روی کیفیت گندم گردد. کارآیی ازن‌دهی بر حسب ماهیت و حالت محصول هدف و نیز شرایط ازن‌دهی (دما، مدت زمان، مقدار آب) متفاوت است (Trombete *et al*., 2016).

**بررسی تأثیر مدت ازن‌دهی روی ویژگی‌های مقدار چربی، اسیدیته و پراکسید نمونه‌های آزمایش**

به‌رغم مقدار کم مقدار چربی (۱/۸ درصد) در دانه‌های گندم، اکسیداسیون چربی‌ها ممکن است در زمانی رخ دهد که ازن چربی‌های غیر اشباع دانه را اکسید می‌کند. وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2016) گزارش داده‌اند که مقدار اسیدهای چرب به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی درجهٔ اکسیداسیون توسط ازن به‌کار می‌رود و غلظت اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های گندم، چه تیمار شده با ازن و چه بدون تیمار، حتی پس از ۹۰ دقیقه قرارگیری در معرض ازن با غلظت ۷۵ میلی‌گرم بر لیتر، مشابه باقی می‌ماند. این موضوع نشان می‌دهد تیمار با ازن منجر به تجزیهٔ لیپیدها یا شروع تندشدگی اکسیداتیو نشده است. ظاهراً، تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) و قابل توجهی در مقدار اسیدهای چرب آزاد بین گروه‌های تیمار شده و تیمار نشده وجود نداشته است که دلالت بر این امر دارد که چربی‌ها تحت شرایط این آزمایش تحت تأثیر قرار نگرفته‌اند. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که درجهٔ اکسیداسیون با استفاده از این روش قابل قبول است. این نتیجه با یافته‌های نایتو (Naito, 1989) همخوانی دارد که گزارش کرده بود در دانه‌های غلات، پودر دانه‌های غلات و لوبیا به‌ندرت پس از تیمار ازن‌دهی با غلظت ۰/۰۵ تا ۵ پی.پی.ام. به مدت یک ساعت اکسیداسیون چربی‌ها مشاهده می‌گردد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که میزان اسیدیته در تمامی تیمارهای غلظت تا ۵۰ پی. پی. ام. حجمی و تمامی تیمارهای ازن‌دهی حدود صفر و به عبارتی غیر قابل اندازه‌گیری است و در غلظت ۷۵ پی. پی. ام. حجمی در حد چند صدم (۰/۰۹-۰/۰۳) است. در تمامی تیمارهای آزمایش، میزان افزایش پراکسید مشاهده نگردید و به عبارتی میزان غلظت گاز ازن یا مدت ازن‌دهی تأثیری روی پیشرفت اکسیداسیون چربی‌ها نداشت. ازن با واکنش با پیوندهای دوگانه در اسیدهای چرب غیراشباع، رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که می‌توانند منجر به تشکیل پراکسیدها و هیدروپراکسیدها شوند. این ترکیبات اولیه اکسیداسیون می‌توانند به‌تدریج به ترکیبات ثانویه‌ای مانند آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل شوند که مسئول طعم و بوی نامطبوع در فرآیند فساد چربی‌ها هستند .ازن‌دهی گازی می‌تواند فرآیند اکسیداسیون لیپیدها را در دانهٔ گندم تسریع کند و منجر به افزایش عدد پراکسید و تغییر در میزان اسیدهای چرب آزاد شود. این تغییرات می‌توانند بر کیفیت نهایی محصولات گندم تأثیر بگذارند. در مطالعه‌ای، دانه‌های گندم کامل با استفاده از ازن گازی با غلظت ۵ گرم در ساعت در زمان‌های مختلف (صفر، ۵، ۱۵، ۳۵ و ۴۵ دقیقه) تیمار شدند. نتایج نشان داد که تیمار با ازن باعث افزایش عدد پراکسید و مقدار پارا-آنیزیدین در نمونه‌ها می‌شود. این تغییرات نشان‌دهنده اکسیداسیون چربی‌ها و افزایش ترکیبات اولیهٔ اکسیداسیون در دانه‌های گندم است (Obadi and Mollahosseini,2018) که البته به دلیل استفاده از غلظت‌های بالاتر از غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق، نتایج به‌دست آمده از آن تحقیق با نتایج این تحقیق همخوانی ندارد.

## نتیجه‌گیری

در این مطالعه، اثر تیمار گاز ازن با غلظت‌ها و مدت‌های مختلف ازن‌دهی بر ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و جوانه‌زنی دانه‌های گندم رقم مروارید در دورهٔ نگهداری بررسی شد. نتایج بررسی‌ها نشان داد که تیمار

با گاز ازن به طور معنی‌داری آلودگی قارچی و میزان تولید افلاتوکسین را کاهش می‌دهد و ایمنی میکروبی دانه‌ها را بهبود می‌بخشد. اگرچه غلظت‌های بالاتر ازن باعث کاهش اندکی در درصد جوانه‌زنی شد، اما توانایی جوانه‌زنی دانه‌ها در محدوده قابل قبولی باقی ماند. تغییرات معنی‌داری در ترکیبات اسیدهای چرب دانه‌های تیمار شده مشاهده نشد که نشان‌دهندهٔ حفظ کیفیت شیمیایی دانه‌ها پس از ازن‌دهی است. بنابراین، استفاده کنترل‌شده از گاز ازن به عنوان یک روش نوین و دوستدار محیط زیست در فرآوری پس از برداشت می‌تواند به بهبود کیفیت و ایمنی دانه‌های گندم در دورهٔ انبارداری کمک کند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات آینده، اثر تیمار ازن بر ارقام مختلف گندم، غلات و دانه‌های روغنی بررسی شود تا تفاوت‌های ژنتیکی در پاسخ به ازن مشخص گردد. پیشنهاد می‌شود بررسی اثر ازن بر سایر ارقام گندم و غلات دیگر انجام شود تا واکنش‌های متفاوت ژنتیکی مشخص گردد. مطالعه روی تغییرات آنزیمی و ترکیبات زیست‌فعال برای درک مکانیسم‌های حفظ کیفیت ضروری است. بهینه‌سازی پارامترهای فرآیند ازن‌دهی با هدف تعیین شرایط مؤثر ضدمیکروبی نیز پیشنهاد می‌شود. ارزیابی ترکیب ازن با دیگر فناوری‌های نوین پس از برداشت مانند پرتو فرابنفش و پلاسمای سرد می‌تواند بهبود ماندگار را فراهم کند. علاوه بر این، مطالعات اقتصادی و زیست‌محیطی در مقیاس صنعتی به‌منظور امکان‌سنجی کاربرد ازن ضروری است و بررسی اثر ازن در دورهٔ نگهداری بلندمدت برای ارزیابی پایداری کیفیت و جوانه‌زنی توصیه می‌شود.

## تعارض منافع

نویسنده در خصوص انتشار مقاله ارائه شده به‌طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد.

## مراجع


Anon. 2022. Agricultural Statistics. Planning and Economic affairs Deputy, Information and Communication Technology Center, Ministry of Agricultural-Jahad,Vol.1: Agronomical Productd, pp 23.

American Association of Cereal Chemists (AACC). 2010.*Approved Methods of Analysis*, 11th Ed., Method 56-61.02, "Zeleny Sedimentation Test," AACC International, St. Paul, MN, USA.

American Oil Chemist`s Society.1993.Official methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist`s Society, 5thend, Ba 6-48. The American Oil Chemist`s Society, Champaign.

Association of Official Analytical Chemists. 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.

Allen, B., Wu, J.N., and Doan, H., 2003. Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 38 (5): 617–630.

Avdeeva, V., Zorina, E., Bezgina, J. and Kolosova, O. 2018. Influence of ozone on germination and germinating energy of winter wheat seeds. Engineering for Rural Development, 23:25.

Beheshti, H.R., Feizi, J., Zhiany Asgharzadeh, M., and Fakoor Janati, S.S. 2014. Aflatoxin determination in saffron by high-performance liquid chromatography and immunoaffinity column clean-up. Saffron Agronomy and Technology 1(2):102-111. doi: 10.22048/jsat.2014.4820.

Bonjour, E. L., Opit, G. P., Hardin, J., Jones, C. L., Payton, M. E., and Beeby, R. L. 2011. Efficacy of Ozone Fumigation Against the Major Grain Pests in Stored Wheat. journal of Economic Entomology, 104(1):308-316.

Chandra Verma, V. 2018. Applications and Investigations of Ozone in Cereal Grain Storage and Processing: Benefits and Potential Drawbacks. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 7: 5034-5041.

Chittrakorn, S., Earls, D., and MacRitchie, F. 2014. Ozonation as an alternative to chlorination for soft wheat flours. Journal of Cereal Science, 60(1), 217–221.

Desvignes, C., Chaurand, M., Dubois, M., Sadoudi, A., Abecassis, J., and Lullien-Pellerin, V. 2008. Changes in common wheat grain milling behavior and tissue mechanical properties following ozone treatment. Journal of Cereal Science 47, 245-251.

Dziedzoave, N.T., Graffham, A.J., Westby, A., and Komlaga, G. Comparative assessment of amylolytic and cellulolytic enzyme activity of malts prepared from tropical cereals.2010. Food Control, 21: 1349–1353.

Dubois, M., Canadas, D., Despres-Pernot, A.G., Coste, C., and Pfohl-Leszkowicz, A. 2009. Oxygreen process applied on nongerminated and germinated wheat: role of hydroxamic acids. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56 (3): 1116–1121.

El-Desouky, T. A., Sharoba, A. M. A., El-Desouky, A. I., El-Mansy, H. A., and Khayria Naguib. 2013. Effect of ozonation of wheat grain on quality bread factory. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies, 19(1), 1-9.

Ghodsvali, A. 2017. Effect of ozone on shelf life and quality Characteristics of wheat and rice in the Golestan province. Research Report. No. 57757. Golestan Agricultural and Natural Resoursec Research Center. (In Persian).

Ghodsvali A, Mohamadzadeh J. 2022. Evaluation of the Effect of Ozone Gas on Quality Characteristics of Rice Grain (Var. Fajr). Food Engineering Research, 21(1):119-138. (In Persian).

Gozé, P., and *et al*. 2017. Effects of ozone treatment on the molecular properties of wheat grain proteins. LWT – Food Science and Technology, *85*, 454-460.

Hardin, J.A., Jones, C.L., Bonjour, E.L., Noyes, R.T., Beeby, R.L., Eltiste, D.A., and Decker, S. 2010. Ozone fumigation of stored grain; closed-loop recirculation and the rate of ozone consumption. Journal of Stored Products Research, 46:149–154.

Iranian National Standardization Organization. 2010. Cereal and Cereal Products- Sampling. No. 13535. (In Persian).

Iranian National Standardization Organization. 2010, 2020. Food and feed stuffs. Determination of aflatoxins B & G by HPLC method using immunoaffinity column clean up-Test method. No. 6872. (In Persian).

Kitinoja, L., Tokala, V. Y., and Brondy, A. 2018. Challenges and opportunities for improved postharvest loss measurements in plant-based food crops. Journal of Postharvest Technology, 6(4), 16–34.

Lee, M. J., Kim, M. J., Kwak, H. S., Lim, S. T., and Kim, S. S. 2017. Effects of ozone treatment on physicochemical properties of Korean wheat flour. Food Science and Biotechnology, 26(2), 435-440.

Li, M., Zhu, K.-X.,Wang, B.-W., Guo, X.-N., Peng,W., and Zhou, H. M. 2012. Evaluation the quality characteristics of wheat flour and shelf-life of fresh noodles as affected by ozone treatment. Food Chemistry, 135: 2163-2169.

Li, M. M., Guan, E. Q., and Bian, K. 2021. Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and quality evaluation of ozonised wheat. Food Additives & Contaminants: Part A, 32(4), 544–553. https://doi.org/10.1080/19440049.2014.976596

Lin, J., and *et al*. 2025. Modified atmosphere and ozone treatment technologies in stored grain pest control: mechanism, applications and challenges Agricultural Products Processing and Storage. 1:16,2-18.

Mason, L. J., Woloshuk, C. P., Mendoza, F., Maier, D. E. and Kells, S. A. 2006. Ozone: A new control strategy for stored grain. In: Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection. pp. 15-18.

Misra, N.N., Kaur, S., Tiwari, B.K., Kaur, A., Singh, N., and Cullen, P.J. 2015. Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. Food Hydrocoll., 44:115–112.

Mohammadi Kouchesfahani, M., Alimohammadi, M., Jahed K.G., Nabizadeh, N.R., Aghamohseni, Z., Moazeni, M., and Rezaie, S. 2015. Antifungal Effects of Ozonated Water on Aspergillus Parasiticus: A New Approach to Prevent Wheat Contamination. Journal of Food Safety, 35, 295–302.

Mohammadzadeh, J., Zanganeh J., and Ghodsvali, A. 2021.Evaluation of the Effect of Ozone Gas on Quality Characteristics and Storage Life of Barley Grain'. Food Engineering Research, 20(1): 109-122. (In Persian).

Naito, S. 1989. The influence of ozone treatment on lipids contained in cereal grains, cereal grain powders, peas, beans and pulse products. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi 36: 878–883.

Naguib, K. A. 2013. Effect of ozonation of wheat grain on quality bread factory. Journal of Agro-Alimentary Processes and Technologies, 19(1), 1-9.

Navarro, S. 2006. New global challenges to the use of gaseous treatments in stored products. In: Navarro, S., Varnava, A. (Eds), Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, 15 to 18 October 2006, Campinas, São Paulo, Brazil. Brazilian Post-harvest Association - ABRAPOS, Passo Fundo, RS, Brazil, 2006.

Obadi, M., Zhu, K., Peng, W., Ammar, A.F., and Ming, H. 2016. Tropical Journal of Pharmaceutical Research,15(10), 2147-2154.

Obadi, M., and Mollahosseini, A. 2018. Characterization of oil extracted from whole grain flour treated with ozone gas. Food Chemistry, 240, 1051–1057.

Obadi, M., Haros, M., and Rosell, C. M. 2018. Effects of ozone treatment on the physicochemical and functional properties of wheat flour: formation of disulfide bonds in wheat flour proteins. Food Chemistry, 268, 373-379.

Paul, A., Radhakrishnan, M., Anandakumar, S., Shanmugasundaram, S., and Anandharamakrishnan, C. 2020. Disinfestation techniques for major cereals: A status report. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 19(3), 1125–1155.

Safonova, O.N., Kholodova, E.A., and Golota, V.I. 2011. Ozone usage for adjustment of technological properties of wheat baking flour. In 11th International Congress on Engineering and Food. Athens. Greece, 1-6.

Sandhu, H.P.S., Manthey, F.A., and Simsek, S. 2011. Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. Journal Science of Food and Agriculture, 91(9), 1576–1584.

Savi,G., Karim, C., and Karol, O. 2014. Ozone treatment efficiency on *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol degradation and its effects on whole wheat grains (*Triticum aestivum* L.) quality and germination. Journal of Stored Products Research, 59:245-253.

Shingala, A.M., Dabhi, M.N., and Joshi, N.U. 2024. Ozone-based grain storage: A green technology with great potential for improving food safety. In IIP Proceedings (Ed.), Futuristic trends in agriculture engineering & food sciences (IIP Series, Vol. 3, Book 16, Part 3, Chap. 1, pp. 139–152). Iterative International Publishers.

Singh, H., and MacRitchie, F. 2001. Application of polymer science to properties of gluten. Journal of Cereal Science, 33(3), 231–243.

Sitoe, E.D.P.E., Pacheco, F.C., and Chilala, F.D. 2025. Advances in ozone technology for preservation of grains and end products: Application techniques, control of microbial contaminants, mitigation ofmycotoxins, impact on quality, and regulatory approvals. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety published byWiley Periodicals LLC on behalf of Institute of Food Technologists.

Sudhakar, N., Nagendra-Prasad, D., Mohan, N., Hill, B., Gunasekaran, M. and Murugesan, K. 2011.Assessing influence of ozone in tomato seed dormancy alleviation. American Journal of Plant Sciences, 2(3): 443.

Takasaki, S.; Kato, Y.; Murata, M.; Homma, S. and Kawakishi, S. 2005. Effects of peroxidase and hydrogen peroxide on the dityrosine formation and the mixing characteristics of wheat-flour dough. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 69(9),1686- 1692,

Tiwari, B.K., Brennan, C.S., Curran, T., Gallagher, E., Cullen, P.J., and O'Donnell, C. P. 2010. Application of ozone in grain processing. Journal Cereal Science, 51:248-255.

Trombete, F., Minguita, A., Porto, Y., Freitas-Silva, O., Freitas-Sá, D., Freitas, S., Carlos Carvalho, C., Tatiana Saldanha, T., and Fraga, M. 2016. Chemical, Technological, and Sensory Properties of Wheat Grains (*Triticum aestivum* L) as Affected by Gaseous Ozonation. International Journal of Food Properties, 19:2739–2749.

USDA. 2025. United States of Department Agriculture. Foreign Agricultural Service. Office of Global Analysis. International Production Assessment Division. Washington, DC, USA.

Violleau, F., Hadjeba, K., Albet, J., Cazalis, R. and Surel, O. 2008. Effect of oxidative treatment on cornseed germination kinetics. Ozone: Science and Engineering, 30(6), pp.418-422.

Wang, L., Shao, H., Luo, X., Wang, R., Li, Y., Li, Y., and Chen, Z. 2016. Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and wheat quality. Food Control, 59, 282-285.

*Food Engineering Research/Vol.25/No. 80/ Spring& Summer 2026/P:21-40*

*Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir/*

*Original Research*

# The Effect of Ozone Gas Treatment on Fungal contamination, Chemical Indices and Germination of Wheat Grain (cv. Morvarid)

**Alireza Ghodsvali***

***Corresponding Author:** Associate Professor, Agricultural Engineering Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran
**Email:** Ghodsvali@gmail.com
**Received**:16 June 2025 **Accepted**: 3 December 2025
**http://doi**: 10.22092/fooder.2026.369804.1424

## Extended Abstract

## Abstract

Wheat, providing about 47% of the daily caloric intake of Iranian households, is considered the most strategic agricultural crop in the country. To introduce novel and environmentally safe approaches for grain storage while maintaining product quality, the effects of ozone gas concentration and exposure duration on selected characteristics of *Triticum aestivum* cv. Morvarid wheat kernels was investigated. The evaluated parameters included germination rate, Zeleny sedimentation value, oil content, acidity and peroxide value of the extracted oil, fungal contamination level, and total aflatoxin content after a four-month storage period. The experiment was conducted using a completely randomized factorial design (4×4), with four ozone concentrations (0, 25, 50, and 75 ppmv) and four exposure durations (1, 3, 5, and 7 days). Analysis of variance showed that ozone concentration, exposure time, and their interaction had significant effects ($P< 0.01$) on germination rate, Zeleny value, fungal contamination, and total aflatoxin content of the treated wheat. The lowest germination rate (94%) was recorded at 75 ppmv ozone, while the highest (99.0%) occurred at 0 and 25 ppmv with no significant difference ($P > 0.05$). The highest Zeleny sedimentation value (34.19 mL) was observed at 50 ppmv ozone, and the lowest (30.16 mL) at 0 ppmv. Minimum fungal contamination (3.88 CFU/g) was found at 75 ppmv ozone, while the maximum (2725 CFU/g) occurred in the untreated control. Similarly, the highest total aflatoxin level (14.96 µg/g) was measured at 0 ppmv ozone, whereas at 75 ppmv it was undetectable. Ozone exposure duration also had a significant effect ($P< 0.01$) on germination rate, Zeleny value, fungal contamination, and aflatoxin content. The maximum germination rate (100%) occurred after 5 days of exposure, and the minimum (96%) after 3 days. The highest Zeleny value (32.72 mL), not significantly different from the 1- and 5-day treatments, was obtained after 3 days, while the lowest (32.15 mL) occurred after 7 days. Overall, increasing ozone concentration significantly ($P < 0.01$) reduced fungal contamination and total aflatoxin levels in wheat grains. The minimum fungal count (3.88 CFU/g) was obtained at 75 ppmv ozone, whereas the maximum (2725 CFU/g) was found in the untreated control. The highest aflatoxin content (15.11 µg/g) was detected in the control (0 ppmv, 1-day exposure), while it became undetectable at ozone concentrations ≥50 ppmv for all exposure durations. Therefore, controlled use of ozone gas can be regarded as a novel, eco-friendly postharvest technology that contributes to improving the quality and safety of stored wheat grains during long-term storage.

**Key Words:** Aflatoxin, Fungal contamination, Ozone, Wheat, Zeleny Value