نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۲ شماره ۴/ سال ۱۳۹۱

کاهش میزان پاتولین در کنسانتره آب سیب با استفاده از اسیدهای فولیک و پانتوتنیک

نارملا آصفی[1*]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۸

[1] استادیار گروه علوم صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز

[*] مسئول مکاتبه: E-mail : narmelanarmela@yahoo.com

چکیده

پاتولین مایکوتوکسینی است که معمولاً در آب سیب و فرآورده‌های حاصل از آن تولید می‌شود و یکی از مهمترین فاکتورهای کیفی آب سیب محسوب می‌شود. در بسیاری از کشورها مقدار مجاز پاتولین در سیب و فرآورده‌های آن در حدود ۵۰ μg/L و محصولات تولید شده جهت کودکان ۱۰ μg/L تعیین شده است. در این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف اسید فولیک و اسید پانتوتنیک در کاهش پاتولین در دو دمای ۵ °C و ۲۷ °C در طول مدت یک ماه انبارداری و تغییرات خصوصیات کیفی مانند رنگ، شفافیت و کدری نمونه‌های تیمار شده آب سیب مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج بررسی نشان می‌دهد که می‌توان مقدار ۱۷۰ μg/L پاتولین اولیه درتیمارها را با نگهداری در دو دمای ۵ °C و ۲۷ °C با افزودن اسیدهای فولیک و پانتوتنیک به زیر مقدار ۵۰ μg/L رساند. این عمل با نگهداری نمونه‌های تیمار نشده در این دو دما در صورتی امکان پذیر است که طول مدت انبارداری افزایش یابد که در این حالت محصول خصوصیات کیفی خود را بطور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) از دست می‌دهد. این موضوع حاکی از آن است که اضافه شدن اسید در کاهش پاتولین اثر مثبتی دارد. نمونه‌های دارای اسید علیرغم داشتن کمترین میزان پاتولین دارای کمترین میزان شفافیت و بیشترین میزان کدورت نیز می‌باشند. بیشترین شفافیت و کمترین کدری مربوط به نمونه‌های بدون اسید (کنترل) و نمونه حاوی اسید پانتوتنیک ۵۰۰ mg/kg در دمای ۵ °C با مدت زمان نگهداری ۱۰ روز می‌باشد که میزان کاهش پاتولین در این نمونه ۷۱٪ می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آب سیب، اسید پانتوتنیک، اسید فولیک، پاتولین، مایکوتوکسین

Reduction of patulin in apple juice concentrates by using folic and pantothenic acids

N Asefi[1*]

Received: May 18, 2012 Accepted: June 17, 2012
Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz Branch of Islamic Azad University, Tabriz, Iran
[*]Corresponding author: Email:narmelanarmela@yahoo.com

Abstract
Patulin is a mycotoxin mainly found in apples and apple products, and has become one of the most important quality criteria for apple juice. In most country the maximum level of patulin recommended concentration of 50 $\mu g.L^{-1}$ for adult and 10 $\mu g.L^{-1}$ for infants and young children, respectively. In this study, effects of adding different concentrations of folic and pantothenic acids, as well as effects of storage temperature and storage time on reduction of the patulin content and qualitative characteristics such as colour, clarity and turbidity of apple juice concentrate were investigated. The results indicated that by adding the folic and pantothenic acids to the samples with an initial patulin concentration of 170 $\mu g.L^{-1}$ and storage temperatures of 5 °C and 27 °C, the mycotoxin content decreased to less than 50 $\mu g.L^{-1}$. The storage of samples without any acids at these two temperatures is also an alternative to reducing the mycotoxin content if the storage period is increased which can reduce the other quality parameters of product. Addition of acid has a positive effect on reduction of patulin. However, these samples have the lowest amount of patulin, but they have the lowest transparency and highest turbidity. The highest transparency and lowest turbidity is related to the samples without acid and sample that contains pantothenic acid, 500 mg/kg in 5 °C with 10 days storage time, wich amount of patulin can be reduced by 71%.

Keywords: Apple juice, Folic acid, Pantothenic acid, Patulin

مقدمه

پاتولین مایکوتوکسینی است که بوسیله گونه‌های مختلفی از جنس های قارچی پنی *سلیوم اکسپانسوم*[1]، *آسپرژیلوس کلاواتوس*[2] و *بایسموکلامیس نیوآ*[3] تولید می‌شود (اندرسون و همکاران ۲۰۱۰؛ اندرسون و جوزفسون ۱۹۷۹؛ بچت و تونارت ۱۹۷۸). اندازه‌گیری مقدار این مایکوتوکسین به علت اثرات سوء آن بر سلامتی انسان اهمیت یافته است. کمیته FAO/WHO حداکثر مقدار قابل قبول پاتولین ورودی به بدن را روزانه به ازای هر کیلو گرم از وزن بدن برای بزرگسالان ۰/٤ µg/kg اعلام نموده است (WHO ۱۹۹۵). مطالعاتی که در کشور در ٤۲ نمونه آب سیب و ۲۳ نمونه کنسانتره آب سیب انجام گرفت نشان می‌دهد که ۲۳ درصد از نمونه‌های آب سیب مقدار پاتولین بیشتر از ۵۰ µg/L داشتند که بیشترین مقدار آن ۲۸۵ µg/L گزارش گردید. همچنین ٥٦ درصد از نمونه‌های کنسانتره آب سیب مقدار پاتولین بیشتر ۵۰ µg/L داشتند که بیشترین مقدار آن ۱٤۸ µg/L گزارش گردید. (چراغعلی و همکاران ۲۰۰۵). پژوهش دیگری نشان داد که در ۱٤٤ نمونه آبمیوه مربوط به چهار نوع آبمیوه (آب سیب، انگور، هلو و کنسانتره آب سیب) نمونه برداری شده از ٦ کارخانه مختلف تولید کننده آبمیوه در شمال غرب کشور بیش از ۹۰ درصد این محصولات دارای مقدار

1. Penicillium expansum
2.Clavatus Aspergillus
3. Byssochlamys niva

پاتولین بالاتر از ۱۰ μg/L بودند و با توجه به سمی و سرطانزا بودن پاتولین و استفاده این محصولات بویژه بوسیله کودکان، کنترل آن در محصولات فرآوری شده سیب به وسیله ارگان های ذیربط ضروری به نظر می‌رسد (فتحی آچاچلویی و همکاران ۱۳۸۸).

تاکنون پژوهش‌های زیادی در خصوص تاثیر پارامترهای گوناگون بر کاهش میزان پاتولین انجام گرفته است. این پژوهش‌ها نشان داده اند که دمای انکوباسیون (بین ۲۱ °C تا ۳۷ °C)، وجود دی اکسید گوگرد، بنزوات سدیم و سوربات پتاسیم در آب سیب در تولید پاتولین موثر بوده و این ماده در دمای ۳۷-۳۰ °C به حداکثر میزان خود می‌رسد سپس به سرعت کاهش می‌یابد. (رایس و همکاران ۱۹۷۷). با بررسی اثر دماهای ۳۵°C، ۲۵، ۱۵، ۷، ۰ به مدت ۱۴ روز در آب سیب نتیجه گرفته شد که پاتولین در دمای ۲۵ °C تولید می‌شود و با گذشت زمان میزان تولید کاهش می‌یابد و علت این کاهش را ترکیب حلقه ی غیراشباع لاکتون با مواد دیگر در محیط و ایجاد ترکیبات جدید می‌دانند (اوزچلیک ۱۹۸۲). نتایج حاصله از بررسی مقاومت حرارتی پاتولین نشان می‌دهد که در pH پائین‌تر زمان نابودی سم افزایش می‌یابد و این بخاطر ثبات پاتولین در شرایط اسیدی و محلول‌های اسیدی می‌باشد (ویلیر و همکاران ۱۹۸۷). در ایران تاثیر غلظت‌های مختلف دو نوع کربن فعال پودری و گرانولی بر روی محصولات آخر فصل پاییز ۱۳۸۱ کارخانجات تولید آب سیب بررسی شده و نتایج نشان داده است که کربن فعال پودری شکل در کاهش مقدار پاتولین آب سیب خیلی موثرتر از انواع گرانولی عمل می‌کند و با افزایش غلظت این نوع کربن فعال، مقدار پاتولین به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد، به طوری که با مصرف ۵ گرم در لیتر از آن صرف نظر از زمان تاثیر (۳، ۵ و۱۵ دقیقه) مقدار پاتولین به صفر می‌رسد (فتحی آچاچلویی و همکاران ۱۳۸٤). افزودن اسیدآسکوربیک به آب سیب حاوی پاتولین در طی نگهداری به مدت ۳٤ روز باعث باقی ماندن پاتولین به مقدار ۳۰ ٪ نسبت به مقدار اولیه بوده در حالی که در نمونه‌های فاقد اسید اسکوربیک میزان پاتولین باقیمانده به ٦۸ تا ۷۱ در صد می‌رسید. چنین به نظر می‌رسد که پاتولین بوسیله رادیکال‌های آزاد تخریب شده و اکسیداسیون اسید اسکوربیک و تبدیل آن به دهیدرو اسید اسکوربیک صورت گرفته است. بعد از اکسیداسیون کامل اسید اسکوربیک کاهش پاتولین صورت نمی‌گیرد (دروسچ و همکاران ۲۰۰۷). در پژوهشی دیگر برای کاهش میزان پاتولین آب سیب و کنسانتره آن تیامین (B_1)، پریدوکسین هیدرو کلراید (ویتامین B_6) و کلسیم پنتوتنات (ویتامین B_5) در غلظت‌های متفاوت مورد استفاده قرار گرفت و در طول زمان نگهداری محصول کاهش چشمگیری در میزان پاتولین دیده شد ولی همراه با این کاهش دیگر خصوصیات کیفی محصول نیز کاهش یافته بود (یازجی و ولی اوغلو ۲۰۰۲).

یکی از مشکلات موجود بر سر راه صادرات آب میوه و کنسانتره آن بویژه آب سیب، میزان سم پاتولین در آن است. پژوهش‌های انجام یافته درکشور نشان می‌دهد که مقدار این ماده درآب سیب‌های تولید شده در برخی از کارخانجات کشور از استاندارد جهانی زیادتر می‌باشد. زیرا شرکت‌های تولید کننده آب سیب کشور متاسفانه از میوه‌هایی با کیفیت پایین و یا از میوه‌هایی که قبل از فرآیند به مدت طولانی انبارداری می‌شوند جهت تولید آب سیب و یا کنسانتره آن استفاده می‌کنند که با مشکل افزایش پاتولین مواجه می‌شوند. البته لازم به ذکر است که مقدار پاتولین در انبارمانی خود بخود کاهش می‌یابد ولی همراه این کاهش دیگر خصوصیات کیفی مانند رنگ و شفافیت نیز کاهش می‌یابد. هدف از این پژوهش تلاش برای کاهش میزان پاتولین در کنسانتره‌های آب سیب قبل از افت خصوصیات کیفی

محصول تولید شده با افزودن اسیدهای مختلف می‌باشد. از طرف دیگر در صورت امکان در کنار کاهش پاتولین افزودن ارزش غذایی آب سیب به خصوص جهت کودکان که معمولا مصرف کنندگان اصلی آب میوه‌ها می‌باشند. به همین جهت اثر غلظت‌های مختلف اسید فولیک و پانتوتنیک، دما وزمان به طور جداگانه، اثر متقابل فاکتورها در کاهش پاتولین آب سیب و خصوصیات کیفی محصول تولید شده مانند رنگ، شفافیت و کدری مورد بررسی قرار گرفته است ولی میزان ویتامین باقی مانده آنالیز نگردیده است. پژوهش مورد مطالعه از نوع تجربی آزمایشگاهی می‌باشد. بخش اصلی تحقیق در آزمایشگاه صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز و تهیه کنسانتره و آزمایشات مربوط به کروماتوگرافی در کارخانه تک دانه مرند انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد

در اجرای این طرح از سیب‌های سالم استفاده گردید. سیب‌ها پس از شسته شدن، خرد شدن و پس از اعمال فرآیند حرارتی، آنزیمی و پرس صاف شده و در کارخانه تک دانه مرند به کنسانتره‌ای با ۷۰ بریکس تبدیل گردیدند. نمونه در طول انجام طرح به صورت کنسانتره نگهداری گردید. نمونه کنسانتره در موقع مصرف به بریکس مورد نظر آب سیب ۱۱/۲ رسانده شد.

مواد شیمیایی

شامل پاتولین (تولید شرکت سیگما[1])، اسید فولیک[2] و اسید پانتوتنیک[3] (تولید شرکت روش[4]) و دیگر مواد شیمیایی مانند اتیل استات، کربنات سدیم، سولفات سدیم، اسید استیک گلاسیال، استات بافر، استات سدیم ۰/۲ نرمال (تولید شرکت مرک [5]) دارای درجه آنالیتیک بودند.

طرز تهیه پاتولین استاندارد

۰/۵ میلی‌گرم از کریستال خالص پاتولین با حساسیت ۰/۰۰۱ میلی‌گرم توزین گردید و غلظت آن با استات بافر به ۱۰ μg/ml رسانده شد. سپس از این محلول استوک محلول دیگری با غلظت ۱ μg/ml تهیه شد. این محلول حاضر شده بعنوان پاتولین استاندارد مورد استفاده قرار گرفت در نمونه کنسانتره آب سیب با بریکس ۷۰ آنالیزهای اولیه که شامل شفافیت، کدری، رنگ و میزان پاتولین بود اندازه‌گیری شد. میزان پاتولین نمونه‌ها جهت بررسی اثر اسیدهای اضافه شده به ۱۷۰ μg/L افزایش داده شد. سپس به نمونه‌های یک کیلوگرمی آب سیب با بریکس ۱۱/۲ حاوی پاتولین اسیدهای مورد نظر (مطابق جدول شماره ۱) اضافه گردید. با توجه به اینکه منابع محدودی در خصوص اثر ویتامین‌ها در کاهش پاتولین وجود دارد بر اساس این منابع محدود، میزان ویتامین‌های اضافه شده انتخاب گردید. برای حل شدن کامل این اسیدها در داخل محلول آب سیب، نمونه‌ها در شیکر بمدت ۲ ساعت مخلوط شدند. نمونه‌های تهیه شده در بسته‌بندی‌های تترا پک بسته‌بندی و در دماهای مورد نظر که توسط انکوباتور و یخچال تامین گردیده بود انبارداری شد.

فاکتور A: دمای نگهداری در دو سطح a_1: ۵°C، a_2: ۲۷ °C، فاکتور B: غلظت ویتامین در ٦ سطح، فاکتور C: زمان نگهداری در سه سطح c_1: ۱۰روز، c_2: ۲۰ روز و c_3: ۳۰ روز.

1. Sigma
2. Acid folic
3. Calicium-d-pantothenate
4. Roche
5. Merck

جدول ۳- طرح آزمایش‌های مربوط به تحقیق

کد نمونه مدت نگهداری (روز) فاکتور c ۱۰ ۲۰ ۳۰	ویتامین فاکتور b	دما °C فاکتور a	غلظت ویتامین فاکتور b
$a_1b_1c_1$- $a_1b_1c_2$- $a_1b_1c_3$	اسید فولیک	+۵	۵۰۰ mg/kg
$a_1b_2c_1$- $a_1b_2c_2$- $a_1b_2c_3$	اسید فولیک	+۵	۲۰۰۰ mg/kg
$a_1b_3c_1$- $a_1b_3c_2$- $a_1b_3c_3$	اسید پانتوتنیک	+۵	۵۰۰ mg/kg
$a_1b_4c_1$- $a_1b_4c_2$- $a_1b_4c_3$	اسید پانتوتنیک	+۵	۲۰۰۰mg/kg
$a_1b_5c_1$- $a_1b_5c_2$- $a_1b_5c_3$	فولیک+ پانتوتنیک	+۵	۱۰۰۰+ ۱۰۰۰mg/kg
$a_1b_6c_1$- $a_1b_6c_2$- $a_1b_6c_3$	شاهد	+۵	۰
$a_2b_1c_1$- $a_2b_1c_2$- $a_2b_1c_3$	اسید فولیک	+۲۷	۵۰۰ mg/kg
$a_2b_2c_1$- $a_2b_2c_2$- $a_2b_2c_3$	اسید فولیک	+۲۷	۲۰۰۰ mg/kg
$a_2b_3c_1$- $a_2b_3c_2$- $a_2b_3c_3$	اسید پانتوتنیک	+۲۷	۵۰۰ mg/kg
$a_2b_4c_1$- $a_2b_4c_2$- $a_2b_4c_3$	اسید پانتوتنیک	+۲۷	۲۰۰۰mg/kg
$a_2b_5c_1$- $a_2b_5c_2$- $a_2b_5c_3$	فولیک+ پانتوتنیک	+۲۷	۱۰۰۰+۱۰۰۰mg/kg
$a_2b_6c_1$- $a_2b_6c_2$- $a_2b_6c_3$	شاهد	+۲۷	۰

آزمایشات قبل و بعد از نگهداری تیمارها اندازه‌گیری پاتولین

جهت اندازه‌گیری مقدار پاتولین از دستگاه HPLC مدل CICEL ساخت کشور انگلستان و روش ارائه شده بوسیله گوگمان و آجار استفاده شده است (گوکمن و آجار ۱۹۹۸).

استخراج پاتولین از نمونه‌ها

۵ میلی لیتر از نمونه تیمار شده با ۵ میلی لیتر اتیل استات به منظور جداکردن دو فاز مخلوط گردید. این عمل ۳ بار تکرار شد و ۳ فاز مستخرج مخلوط گردید. سپس در مدت ۳۰ ثانیه با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم مخلوط شده فاز کربنات جدا و مجددا با ۵ میلی لیتر اتیل استات مخلوط شد. سپس فازهای اتیل استات مخلوط و به فاز جدا شده به مقدار ۲ گرم سولفات سدیم اضافه شد و ۲۰ دقیقه در تاریکی نگهداری گردید. سپس با کاغذ واتمن شماره ٤٢ صاف شده، ۵ میلی لیتر اسید استیک گلاسیل اضافه و فاز اتیل استات در تبخیر کننده چرخان جدا گردید. به عصاره باقیمانده ۰/۵ میلی‌لیتر استونیتریل اضافه کرده، صاف نموده و داخل یک شیشه ۲ میلی‌لیتری نگهداری شد. ابتدا از پاتولین استاندارد سپس از نمونه تیمار شده به دستگاه کروماتوگرافی به مقدار ۲۰ µL تزریق نموده و با مقایسه پیک خروجی با پیک استاندارد، پیک پاتولین تشخیص و محاسبه گردید (یازجی و ولی اوغلو ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری رنگ و شفافیت

جهت انجام آزمایشات تغییر رنگ و شفافیت از اسپکترو فتومتر با مارک Unico- UV-VIS استفاده شد. اندازه‌گیری شفافیت نمونه‌ها در طول موج nm ٦٢٥ و اندازه‌گیری رنگ در طول موج nm ٤٤٠ صورت گرفت (اکشی ۱۹۸۸).

اندازه‌گیری کدورت

جهت انجام آزمایشات کدورت سنجی از کدورت سنج مارک (Hach) استفاده شد و سطح کدری با واحد NTU بیان گردید (جمراوغلو ۱۹۹۲).

اندازه‌گیری بریکس

بریکس نمونه‌ها بوسیله رفراکتومتر دستی اندازه‌گیری شد و نمونه‌های با بریکس ۱۱/۲ مورد ارزیابی قرار گرفت (جمراوغلو ۱۹۹۲). تمام پارامترهای اندازه گیری شده در ۳ تکرار انجام گرفته است.

آنالیز آماری

طرح آماری مورد استفاده فاکتوریل- اسپلیت پلات بر پایه طرح کامل تصادفی با سه فاکتور و ۳ تکرار بود که برای تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS و از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها استفاده گردید.

نتایج و بحث

در این طرح پارامترهای اولیه کنساتنره آب سیب استفاده شده در جدول ۲ داده شده است.

جدول ۲- پارامترهای اولیه کنسانتره آب سیب

TU_1 = پراکنش (Transmittance)

پارامترهای اندازه‌گیری شده	واحد	مقدار
بریکس	g/100g	۷۰
شفافیت (۶۲۵ nm)	TU[1]	۹۶
رنگ (۴۴۰nm)	TU	٤٤
کدورت	NTU	۱
پاتولین	µg/L	۱۷۰

جدول۳ آنالیز واریانس داده‌های موجود بر اساس پارامترهای مختلف مورد بررسی و جدول ٤ نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه گانه داده‌ها را نشان می‌دهد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر دما، نوع، غلظت ویتامین‌ها و زمان نگهداری بر اساس پارامترهای مختلف مورد بررسی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات(MS)			
		پاتولین	رنگ	شفافیت	کدری
فاکتور A (دما)	۱	۳۷۰/۳۷۰ **	۳۲۷/۲۵۹**	۹٦٤/۸۱۳**	۱۵۸۹۲/۹٦۹**
فاکتورB (نوع و غلظت اسید فولیک وپانتوتنیک)	۵	۱٤۹۰ /۰۱۵**	۲۱۸/٤۸۱**	۲۰٦/۵٦۰**	۲٤٤۹/۸٤۷**
A*B	۵	۱۰/۹۰٤ns	۳/۸۵۹*	٦/٦۵۳ns	٦۰۳/٦۸۰**
خطا	۲٤	۹/۲۲۲	۱/۳۱۵	۳/۵۲۹	۳/۰٤۰
فاکتور C (زمان)	۲	٤٦۲/۷۰٤**	٦۱۲/۵٦۵**	۱۲۱۷/۸۳۰**	۱۱۲۸۵/٤٦۵**
A*C	۲	٦/٤۸۱**	۳/۳٤۳ns	۲۲/۲٦۳**	۲۸۹۳/۷٤۸**
B*C	۱۰	۵/۷۸۱**	۹/٤٦۵**	۱٦/٤۳۰**	٤٦٤/٦۱۹**
A*B*C	۱۰	۱/۷۱۵*	۲/٦٤۳ns	۹/۷۰۳ **	۱۲۰/۹۳۰**
خطا ی کل	٤۸	۰/۸۱۹	۱/۵٦۵	۲/۵۲۹	۲/۸۲۵

ns غیر معنی‌دار ** معنی‌دار در سطح ۱٪ *معنی‌دار در سطح ۵٪

با توجه به جدول شماره ٤ مشاهده می‌گردد که میزان پاتولین در تمامی نمونه‌ها به غیر از شاهد به زیر ۵۰ µg/L رسیده و با افزایش زمان نگهداری به ۳۰ روز و دمای نگهداری از ۵ درجه به ۲۷ درجه کاهش پاتولین در تمامی نمونه‌های تیمار شده و شاهد بیشتر شده است که با نتایج حاصل از پژوهش یازجی (۲۰۰۲) که با افزایش ویتامین B در کاهش پاتولین صورت گرفته بود مطابقت می‌کند.

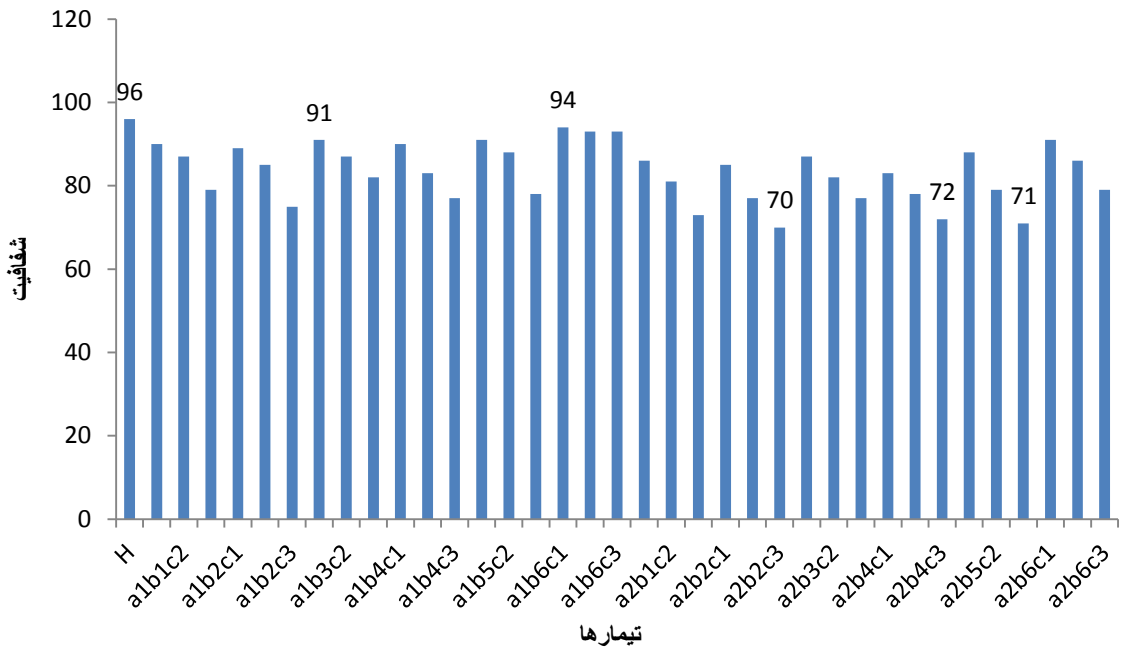
بررسی تجزیه واریانس داده‌ها در جدول ۳ نشان می‌دهد که اثرات متقابل سه فاکتور دما، غلظت اسیدها و زمان در سه پارامتر پاتولین، شفافیت و کدری معنی‌دار بوده ولی بر روی رنگ غیر معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین داده‌ها بر اساس اثر متقابل سه جانبه فاکتورها

در جدول ٤ نشان می‌دهد که تیمار شاهد ($a_1b_6c_1$ و$a_1b_6c_2$) به ترتیب با مقدار ٦٧/٦ µg/L و٦٦/٣ µg/L پس از ١٠ و ٢٠ روز نگهداری دارای بیشترین میزان پاتولین باقیمانده و تیمارهای $a_2b_2c_3$، $a_2b_4c_3$ و $a_2b_5c_3$ دارای کمترین میزان پاتولین پس از ٣٠ روز نگهداری می‌باشد. این موضوع حاکی از آن است که اضافه شدن اسید در کاهش پاتولین اثر مثبتی دارد. البته تنها کاهش میزان پاتولین در جهت ارزیابی محصولی با کیفیت بالا کافی نمی‌باشد. پارامترهای مانند شفافیت، رنگ و کدری بایستی به همان میزان اولیه و یا با نوسان بسیار کم حفظ شده باشند.

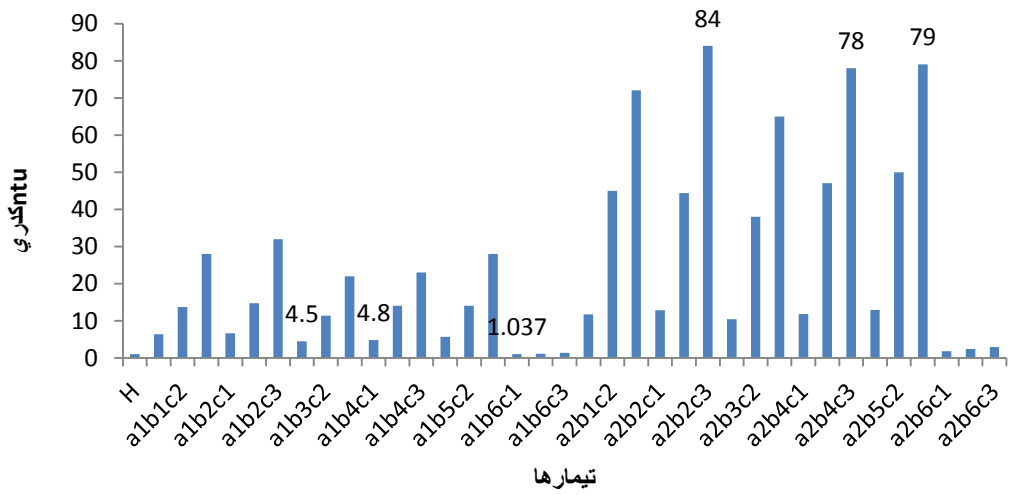
جدول ۴- مقایسه ی میانگین (آزمون دانکن) اثرات متقابل سه گانه بر اساس پارامترهای مورد بررسی

تیمار	نتیجه آزمون		
	پاتولین	شفافیت	کدری
$a_1b_1c_1$	٥٣/٦٦٧e	٩٠bcd	٦/٤mn
$a_1b_1c_2$	٥٠f	٨٧def	١٣/٧kl
$a_1b_1c_3$	٤٧/٣٣٣g	٧٩jkl	٢٨i
$a_1b_2c_1$	٤٤/٣٣٣hij	٨٩cde	٦/٦m
$a_1b_2c_2$	٤١/٣٣٣l	٨٥fgh	١٤/٧k
$a_1b_2c_3$	٣٧/٦٦٧no	٧٥mn	٣٢h
$a_1b_3c_1$	٥١f	٩١abc	٤/٥mnop
$a_1b_3c_2$	٤٨ g	٨٧def	١١/٤kl
$a_1b_3c_3$	٤٣/٦٦٧ijk	٨٢hfg	٢٢j
$a_1b_4c_1$	٤٥/٣٣٣h	٩٠bcd	٤/٨mnop
$a_1b_4c_2$	٤١/٣٣٣l	٨٣ghi	١٤kl
$a_1b_4c_3$	٣٧/٦٦٧no	٧٧lm	٢٣j
$a_1b_5c_1$	٤٧/٣٣٣g	٩١abc	٥/٧mnop
$a_1b_5c_2$	٤٤/٦٦٧hi	٨٨cdef	١٤kl
$a_1b_5c_3$	٣٨/٦٦٧mn	٧٨klm	٢٨j
$a_1b_6c_1$	٦٧/ ٦٦٧a	٩٤a	١/٠٣٧mno
$a_1b_6c_2$	٦٦/ ٣٣٣a	٩٣ab	١/١kl
$a_1b_6c_3$	٦٤/٦٦٧b	٩٣ab	١/٤i
$a_2b_1c_1$	٥٠f	٨٦bfg	١١/٧p
$a_2b_1c_2$	٤٢/ ٦٦٧kl	٨١ijk	٤٥p
$a_2b_1c_3$	٣٩/٦٦٧m	٧٣no	٧٢p
$a_2b_2c_1$	٤٢/٦٦٧kl	٨٥fgh	١٢/٨kl
$a_2b_2c_2$	٣٦/٦٦٧op	٧٧lm	٤٤/٣٣٣f
$a_2b_2c_3$	٣٤/٦٦٧q	٧٠o	٨٤a
$a_2b_3c_1$	٤٩/٦٦٧f	٨٧def	١٠/٤ l
$a_2b_3c_2$	٤٥hi	٨٢hij	٣٨g
$a_2b_3c_3$	٤٢kl	٧٧lm	٦٥d
$a_2b_4c_1$	٤٣jk	٨٣ghi	١١/٨ kl
$a_2b_4c_2$	٣٩/٣٣٣m	٧٨klm	٤٧ef
$a_2b_4c_3$	٣٤/٦٦٧q	٧٢no	٧٨b
$a_2b_5c_1$	٤٣/٦٦٧ijk	٨٨cdef	١٢/٩ kl
$a_2b_5c_2$	٣٩/٦٦٧m	٧٩jkl	٥٠e
$a_2b_5c_3$	٣٦pq	٧١o	٧٩ b
$a_2b_6c_1$	٦٣/٦٦٧b	٩١abc	١/٨١٣ op
$a_2b_6c_2$	٦١/٦٦٧c	٨٦efg	٢/٤ nop
$a_2b_6c_3$	٥٩/٣٣٣d	٧٩jkl	٢/٩ mnop

تغییر شفافیت و کدورت آب سیب حاوی پاتولین، اسیدهای فولیک و پانتوتنیک در شکل ١ و ٢ نشان داده شده است. مقایسه میانگین اثرات متقابل سه جانبه مطابق جدول ٤ نشان داد که تیمار های $a_2b_4c_3$،$a_2b_1c_3$، $a_2b_2c_3$،$a_2b_5c_3$ علیرغم داشتن کمترین میزان پاتولین دارای کمترین میزان شفافیت و بیشترین میزان کدورت نیز می‌باشند. دراین نمونه‌ها دمای انبارداری ٢٧ درجه و زمان نگهداری ٣٠ روز بود که نتیجه گرفته شد با افزایش دما و زمان نگهداری مقدار کدری افزایش و مقدار شفافیت کاهش یافته است. بیشترین شفافیت مربوط به نمونه‌های بدون اسید (شاهد) و نمونه حاوی اسید پانتوتنیک ٥٠٠ mg/kg در دمای ٥ درجه با مدت زمان نگهداری ١٠ روز($a_1b_3c_1$) و ترکیبی از اسید پانتوتنیک و اسید فولیک در دمای ٥ درجه با مدت زمان نگهداری ١٠ روز می‌باشد. کمترین کدری پس از نمونه-های شاهد متعلق به نمونه اسید پانتوتنیک ٥٠٠ mg/kg در دمای ٥ درجه با مدت زمان نگهداری ١٠ روز ($a_1b_3c_1$) می‌باشد.



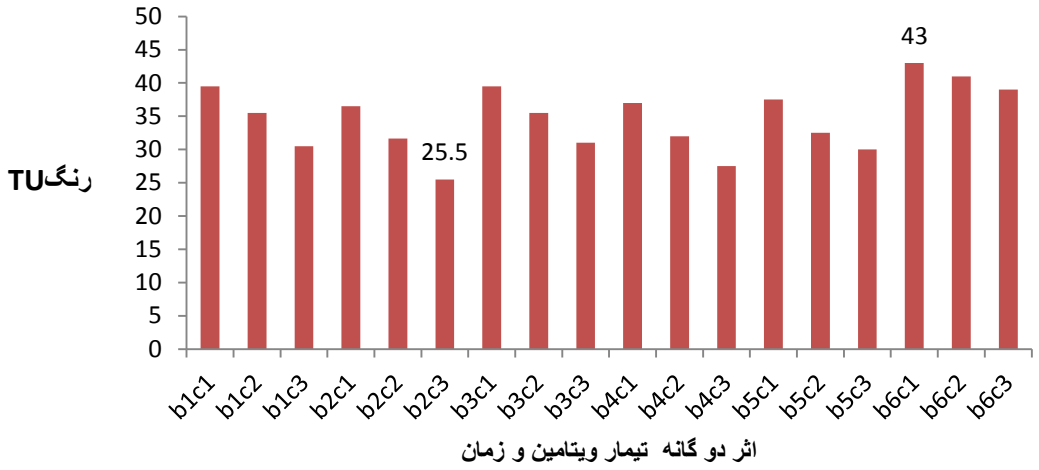
شکل۱- مقایسه شفافیت تیمارهای مورد بررسی



شکل۲- مقایسه کدری تیمارهای مورد بررسی

با توجه به جدول واریانس اثر متقابل دو فاکتور زمان و غلظت اسیدها بر روی رنگ در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. بنابراین اثر این دو فاکتور بر روی پارامتر رنگ مورد بررسی قرار گرفته است. شکل ۳ میزان رنگ باقیمانده بر اساس جذب نور را در تیمارهای مورد بررسی در شرایط مختلف آزمون نشان می‌دهد.

در تیمارهای بدون اسید میزان رنگ دقیقاً برابر با میزان رنگ نمونه اولیه می‌باشد که این نشان می‌دهد وجود اسید باعث کاهش رنگ نمونه‌ها شده است. کمترین رنگ مربوط به نمونه تیمار شده با اسید فولیک به میزان ۲۰۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز نگهداری می‌باشد.



شکل۳ – مقایسه رنگ تیمارهای مورد بررسی

در درجه اول از نقطه نظر کدورت و سپس سایر پارامترها نتیجه گرفته شد که در تمامی نمونه‌های انبارداری شده در بالای ۱۰ روز میزان NTU بالای ۵ بوده که هیچ کدام عرضه تجاری نخواهند داشت بخصوص بعد از ۳۰ روز انبارداری در دمای ۲۷ درجه، میزان کدورت ۲ تا ۳ برابر در مقایسه با دمای پایین انبارداری افزایش یافته است. در صورتی که در نمونه-های شاهد بعد از ۳۰ روز انبارداری در هر دو دما میزان کدورت تغییر چندانی ننموده است که این نشان می‌دهد که کدورت بیشتر در اثر افزایش اسیدها صورت گرفته است. اگر مقایسه را فقط بین نمونه‌های حاوی ویتامین انجام دهیم مشاهده می‌نماییم که در دو تیمار $a_1b_3c_1$ (اسید پانتوتنیک ۵۰۰ mg/kg) و $a_1b_4c_1$ (اسید پانتوتنیک ۲۰۰۰ mg/kg)، کدورت در طی ۱۰ روز انبارداری در دمای ۵ درجه پایین تر از NTU ۵ می‌باشد که در هر دو نمونه اسید اضافه شده اسید پانتوتنیک بوده که در دمای ۵ درجه انبارداری شده است. میزان کاهش پاتولین در نمونه $a_1b_3c_1$ به مقدار ۷۱ ٪ و در نمونه $a_1b_4c_1$ به مقدار ٦٤٪ می‌باشد. در ارزیابی پارامتر شفافیت دیده می‌شود که در طول نگهداری نمونه‌ها تیمار $a_1b_3c_1$ (اسید پانتوتنیک ۵۰۰ mg/kg) در مقایسه با سایر نمونه-ها از نقطه نظر شفافیت تغییر کمتری یافته و در بین تیمارهای حاوی ویتامین بیشترین شفافیت را به خود اختصاص داده است. همین مورد در خصوص پارامتر رنگ نیز مشاهده می‌گردد در نمونه $a_1b_3c_1$ در طول نگهداری از میزان رنگ به مقدار کمی کاسته شده است. نتایج این پژوهش با نتایج پژوهش یازجی (۲۰۰۲) با افزایش ویتامین‌های B_1،B_5،B_6 به کنسانتره آب سیب انجام گرفت مطابقت دارد. بدین ترتیب که با افزایش ویتامین‌های مختلف پارامترهای کیفی تغییر یافت و بدون توجه به تغییر پارامترهای کیفی با افزایش ۱۰۰۰ mg/kg و ۲۵۰۰ از ویتامین B_5 بعد از یک ماه انبارداری در دمای ۲۲ درجه به ترتیب ۷۳٪ و ۹٤٪ و با افزودن ۱۰۰۰ mg/kg از ویتامین B_1 و ۸۷۵ mg/kg از ویتامین B_6 و ۱۰۰۰ mg/kg و ۲۵۰۰ از ویتامین B_5 و نگهداری در دمای ٤ درجه به مدت ٦ ماه حدود ۵۵٪ تا ٦۷ ٪ از میزان پاتولین کاسته شده بود.

نتیجه‌گیری

نتایج را می‌توان به صورت کلی به شکل زیر جمع بندی نمود:

۱- با توجه به مقدار ۱۷۰ μg/L پاتولین اولیه درتیمارها در هر دو دمای نگهداری می‌توان با افزودن اسیدهای فولیک و پانتوتنیک مقدار پاتولین را به زیر ۵۰ μg/L کاهش داد که این عمل با نگهداری نمونه‌ها بدون اضافه نمودن این اسیدها در این دو دما و در این مدت نگهداری ممکن نیست.

۲- امکان کاهش پاتولین با افزایش دما بدون افزودن ویتامین در صورتی امکان پذیر است که طول انبارداری افزایش یابد منتها میزان شفافیت با طول زمان نگهداری کاهش می‌یابد.

۳- افزایش ویتامین باعث کاهش دیگر پارامترهای کیفیت خواهد شد.

٤- شرط اصلی کاهش پاتولین با افزایش اسیدها کوتاه بودن زمان نگهداری است که در این طرح مدت زمان کمتر از ۱۰ روز تثبیت شده است.

٥- در مقایسه اسید فولیک و اسید پانتوتنیک نتیجه گرفته شد که اسید پانتوتنیک بدون کاهش کیفیت محصول باعث کاهش پاتولین (به شرط نگهداری در دمای پایین و کمتر از ۱۰ روز) می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله از طرح تحقیقاتی که با بودجه پژوهشی و حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز به انجام رسیده است استخراج شده و بدین وسیله قدردانی می-گردد.

منابع مورد استفاده

فتحی آچاچلویی ب، آزاد مرددمیرچی ص، حصاری ج، نعمتی م، ۱۳۸۸. مقدار مایکوتوکسین پاتولین در آب میوه‌های تولیدی چند کارخانه آب میوه‌سازی شمال غرب کشور. مجله پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی دنشگاه تبریز ۱۹: ۱-۱۱.

فتحی آچاچلوی ب، سید شریفی ر، ۱۳۸٤. ارائه راهکاری برای کاهش مقدار سم پاتولین در صنایع آبمیوه سازی. شانزدهمین کنگره ملی صنایع غذایی ایران، صفحه‌های ۲٤-۲۳.

Anderson SS, Costa SR, Almedia AAC, Cabral CE and Rabur HR, 2010. Infulence of package, type of fulva. International Journal of Food Microbial 142: 156-163.

Andersson A and Josefsson E, 1979. Patulin in fruit, berries and juices. Methods for its elimination. Vaar-foeda 31: 365-374.

Bechet J and Thonart P, 1978. The principal mycotoxins and their importance in foodstuffs, In Serie syntheses bibliographiques. No: 20. Apria, Paris. Pp. 165.

Cemeroglu B, 1992. Meyve ve sebze isleme endustrisinde temel analiz metodlari. Biltav yayinlari. Yay. No: 02-2, Ankara. 380s.

Cheraghali AM, Mohammadi HR, Amirahmadi M, Yazdanpanah H, Abouhossain G, Zamanian F, Ghazi Khansari M and Afshar M, 2005. Incidence of Patulin contamination in apple juice produced in Iran. Food Control 16: 165-167.

Drusch S, Kopka S and Kaeding J. 2007. Stability of patutin in a juice –like aqueous model system in the presence of ascorbic acid. Food chemistry 100: 192-197.

Eksi A, 1988. Meyve suyu durutma teknigi. Gida Teknolojisi Dernegi. Yay. No: 9. Ankara.127 s.

Gokmen V and Acar J, 1998. Incidence of patulin in apple juice concentrates produced in Turkey. Journal of Chromatograpy 815: 99-102.

Ozcelik S, 1982. Patulin uretiminde etki eden bazi faktorlar. Gida dernegi.org. Yil7-Mart-Nisan. Sayi:2

Rice SL, Beuchat LR and Wortington RE, 1977. Patulin production by Byssochlamys spp. in fruit juices. Applied and Environmental Microbiology 34: 791-796.

Wheeler JL, Harrison MA and Koehler PE, 1987. Presence and stability of patulin in pasteurized apple cider. Journal of Food Science 52: 479-480.

WHO (world Health Organisation), 1995. Evaluation of certain food additives and contaminets. In: 44th report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives.Technical report series 859 Geneva, Switzerland: World Health Organization. Pp: 36-38.

Yazici S and Velioglu YS, 2002. Effect of thiamine hydrochloride, pyridoxine hydrochloride and calcium-d-pantothenate on the patulin content of apple juice concentrate. Nahrung, Weinheim 46: 256-257.