

بررسی اثر ضدقارچی دی استات سدیم در نان

علیرضا صادقی ماهونک^۱ و فخری شهیدی^۲

چکیده

اثر ضد قارچی دی استات سدیم در جلوگیری از رشد برخی از کپک‌های عامل فساد نان، ابتدا در محیط کشت، و سپس در نان مسطح بررسی شد. در یک آزمایش مقدماتی اثر غلظت‌های مختلف دی استات سدیم در سطح صفر، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ قسمت در میلیون، در جلوگیری از رشد کپک‌های *Aspergillus sp.*، *Aspergillus niger*، *Rhizopus sp.* و *Penicillium sp.* در محیط کشت مطالعه گردید. معلوم شد هر چه غلظت دی استات سدیم افزایش یابد رشد کپک‌ها کندتر می‌شود، به طوری که در غلظت ۵۰۰۰ قسمت در میلیون، پس از گذشت پنج روز رشد کپک‌ها بسیار محدود می‌گردد. با توجه به نتایج حاصل از این بخش، اثر ضد کپکی غلظت‌های مختلف دی استات سدیم در نان مسطح نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در این بخش از پژوهش *Aspergillus sp.* به عنوان کپک شاخص انتخاب شد.

نتایج نشان داد که چنانچه میزان ۳۰۰۰ قسمت در میلیون دی استات سدیم به نان افزوده شود، نه تنها رشد کپک را به تأخیر می‌اندازد، از بیات شدن نان نیز تا حد زیادی می‌کاهد. این غلظت دی استات سدیم هیچ گونه اثر منفی بر بافت نان نداشت، و زمان ماندگاری نان را به چهار روز رساند. غلظت‌های بیشتر، رشد کپک را کندتر می‌کند اما بر بافت و طعم نان تأثیر منفی دارد. لذا غلظت ۳۰۰۰ قسمت در میلیون دی استات سدیم برای افزایش زمان ماندگاری نان مسطح پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: کیفیت نان، ماندگاری نان، دی استات سدیم، نگهدارنده‌های نان، کاهش ضایعات نان

مقدمه

ضایعات در ایران یک مسئله اساسی است، که به ویژه در نان بسیار چشم‌گیر می‌باشد. یکی از علل عمده ضایعات نان کپک زدگی آن است. رشد کپک در نان، افزون بر بالا بردن میزان ضایعات و زیان‌های اقتصادی، به دلیل تولید آفلاتوکسین‌ها، از جنبه سلامت و ایمنی نیز حایز اهمیت بسیار است (۲، ۶، ۸، ۱۳، ۱۴ و ۱۷). سمی‌ترین و عمده‌ترین نوع آفلاتوکسین در نان کپک زده، آفلاتوکسین B1 است، که در بدن متابولیزه شده، به آفلاتوکسین M1 و M2 تبدیل می‌شود. بین میزان آفلاتوکسین

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

نان، شامل: *Aspergillus sp.*، *Rhizopus sp.*، *Aspergillus sp.*، *Penicillium sp.* و *niger* در محیط‌های کشت PDA و SDA بررسی گردید. بر پایه نتایج به دست آمده و آزمایش‌های مقدماتی دیگر، تأثیر ماده مذکور بر کپک *Aspergillus sp.* در نان مسطح ارزیابی شد.

در بخش اول سطوح مختلف دی استات سدیم (صفر، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام)، قبل از سترون کردن به محیط کشت افزوده گردید. پس از سترون کردن محیط کشت و ریختن در پتری و بستن آن، عمل کشت کپک با کمک آنس و در کنار شعله آتش انجام پذیرفت. پتری‌ها به مدت پنج روز در انکوباتور یخچال‌دار در دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ قرار گرفتند، و سپس تیمارهای مختلف از نظر چگونگی رشد کپک‌ها مقایسه گردیدند.

به منظور بررسی اثر ضدقارچی دی‌استات سدیم در نان مسطح، آرد مورد نیاز از اداره غله خراسان تهیه گردید، و برای تخمیر از مخمر نانوائی ممتاز ساخت کارخانه ایران ملاس استفاده شد. در ابتدا به منظور بررسی ویژگی‌های پخت و خواص رئولوژیک خمیر، آرد به کار رفته، توسط دستگاه‌های فارینوگراف، آمیلوگراف و اکستنسوگراف ارزیابی گردید.

مواد مورد استفاده در پخت نان عبارت بود از آرد، آب، نمک، مخمر و دی‌استات سدیم. میزان آب مورد نیاز، براساس نتایج حاصل از فارینوگراف، $55/7\%$ کل آرد مورد استفاده تعیین گردید. از نمک به میزان 2% و مخمر خشک فعال به میزان 3% استفاده شد (۳). غلظت دی‌استات سدیم بر پایه آزمایش‌های اولیه و پخت آزمایشی نان انتخاب گردید (غلظت‌های صفر، ۲۰۰۰، ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام).

پیش از انجام آزمایش اصلی، چند آزمایش مقدماتی (پخت آزمایشی نان) صورت پذیرفت که هدف از آنها به دست آوردن بهترین شرایط پخت نان بود. پس از توزین مواد اولیه و انتخاب مقادیر مناسب، عمل آمیختن مواد و تهیه خمیر انجام گرفت. خمیر حاصل به مدت سه ساعت به منظور تخمیر در حرارت

B1 موجود در جیره غذایی گاو و میزان آفلاتوکسین M1 و M2 در شیر آن یک رابطه خطی دیده شده است (۵). این توکسین‌ها در مقابل حرارت پاستوریزاسیون پایدار هستند، و لذا در فرآورده‌هایی که از شیر آلوده تهیه می‌شود حضور دارند (۱۷). از آن جا که ضایعات نان در دامداری‌ها کاربرد زیادی یافته است، بررسی روش‌های جلوگیری از کپک زدن نان در سلامتی مردم نقش ویژه‌ای دارد. روش‌های متفاوتی برای جلوگیری از رشد کپک‌ها در نان و فرآورده‌های غلات پیشنهاد شده است (۲). اما درباره نان، به علت این که تولید آن به فعالیت مخمرها بستگی دارد، باید از موادی استفاده شود که کمترین تأثیر را در فعالیت مخمرها داشته باشد.

در سال‌های اخیر مواد مختلفی برای نگهداری نان پیشنهاد شده است، که برخی از آنها به دلیل اثر منفی بر رشد مخمرها، در فرآورده‌هایی از غلات به کار می‌روند که از سیستم بیولوژیک در تهیه آنها استفاده نمی‌شود (۳). یکی از موادی که در سال‌های اخیر برای نان مناسب تشخیص داده شده دی‌استات سدیم^۱، با نام تجاری آلویتا^۲ می‌باشد. دی‌استات سدیم یک ترکیب ملکولی از استات سدیم و اسید استیک است. این ماده دارای ۴۰ درصد اسید استیک آزاد است (۷).

بررسی‌های انجام یافته توسط پژوهشگران مختلف نشان داده است که دی‌استات سدیم در جلوگیری از رشد کپک‌های نان مؤثر می‌باشد (۷ و ۱۲). درباره اثر ضد قارچی این ماده در مواد غذایی دیگر نیز آزمایش‌هایی صورت گرفته، و گزارش شده است که استفاده از دی‌استات سدیم در خوراک سیلو شده دام و طیور با موفقیت‌هایی همراه می‌باشد (۱۵ و ۱۶).

در این پژوهش اثر ضد قارچی دی‌استات سدیم بر کپک‌های از بین برنده نان در محیط کشت و در نان مسطح^۳ مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

ابتدا اثر ضدقارچی دی‌استات سدیم بر گونه‌های کپکی شاخص

1. $\text{CH}_3\text{COONa}-\text{CH}_3\text{COOH}-\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$

2. Alvita

3. In Situ

استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز گردید، و مقایسه میانگین‌ها به وسیله آزمون دانکن در سطح ۵٪ صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از کشت کپک در گرم‌خانه در حرارت $22 \pm 2^\circ\text{C}$ بعد از پنج روز، نشان داد که با افزایش غلظت دی‌استات سدیم رشد کپک کندتر و محدودتر می‌شود، به طوری که در غلظت ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام رشد هر چهار جنس کپک پس از گذشت پنج روز کاملاً متوقف شده بود.

نتایج بررسی اثر ضدقارچی دی‌استات سدیم در نان نشان داد که درصد کپک زدگی تیمارها در تمام روزها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) دارد. جدول ۱، مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارهای مختلف را در روزهای اول تا ششم (به صورت مجزا)، که به وسیله آزمون دانکن صورت گرفته است، نشان می‌دهد.

همان‌طور که در جدول ۱ مشخص است بین نمونه شاهد (فاقد دی‌استات سدیم) و بقیه تیمارها در روز اول، از نظر درصد کپک زدگی در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد. اما بین تیمارهای دیگر اختلافی دیده نمی‌شود. این امر نشان می‌دهد که کاربرد دی‌استات سدیم باعث تأخیر رشد کپک در روز اول شده است. نمودار ۱ بیانگر مقایسه میانگین کپک زدگی تیمارهای مختلف در روز اول است.

در روز دوم با توجه به نتایج جدول ۱، اختلاف بین نمونه شاهد و تیمار ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام از نظر درصد کپک زدگی معنی‌دار نمی‌باشد، اما اختلاف بین نمونه شاهد با تیمارهای دیگر در سطح ۵٪ معنی‌دار است. بین تیمار دوم و سایر تیمارها، و همچنین سایر تیمارها (۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام دی‌استات سدیم) با هم، از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. این نتایج بیانگر این است که افزودن دی‌استات سدیم باعث کندی رشد کپک شده و هر چه غلظت این ماده افزایش یابد (بیش از ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) این اثر در روز دوم نمود بیشتری دارد. نمودار ۲، مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارها را در روز دوم نشان می‌دهد.

مناسب قرار داده شد. سپس خمیر چانه‌گیری شد، و پس از دادن زمان لازم به خاطر تخمیر ثانویه (حدود ۴۵ دقیقه)، پهن گردید، و به صورت مسطح در آمد. خمیرهای پهن شده در سینی‌های مخصوص پخت قرار داده شد، و به قفسه‌های اتا‌فک پخت منتقل گردید. دمای اتا‌فک پخت 200°C و مدت زمان پخت ۲۵ دقیقه بود.

پس از پایان یافتن عمل پخت، سینی‌ها از فر خارج، و نان‌ها در دمای آزمایشگاه در شرایط کاملاً بهداشتی سرد گردیدند. سپس در کنار شعله، نان‌ها به کمک کارت تمیز و استریل به قطعات 6×6 سانتی‌متری بریده شده و این قطعات در پتری دیش‌های استریل قرار گرفتند. مرکز نان به کمک سوزن آنس و در مجاورت شعله، به هاگ یا اندام‌های قارچی آلوده شد. پس از نوشتن مشخصات کشت، پتری دیش‌ها به انکوباتور $22 \pm 2^\circ\text{C}$ منتقل گردیدند. پتری دیش‌ها روزانه از نظر رشد کپک روی نان مورد بررسی قرار می‌گرفتند، و به کمک خط کش دقیق و چراغ مطالعه، قطر منطقه پوشیده از کپک اندازه‌گیری می‌شد.

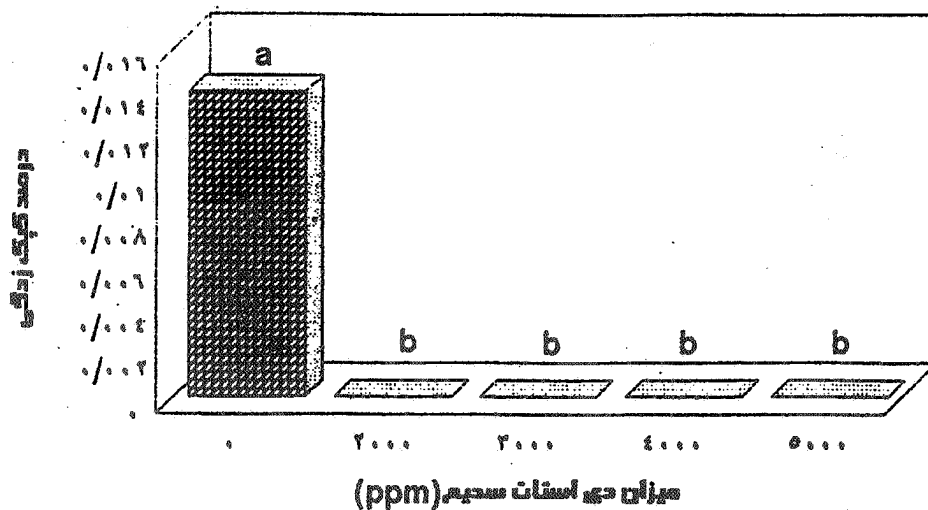
با توجه به این که رشد کپک به صورت دایره‌ای صورت می‌پذیرفت، مساحت منطقه کپک زده با اندازه‌گیری قطر دایره محاسبه گردید. از تقسیم این مساحت به سطح کل نان، درصد کپک زدگی به دست آمد. اندازه‌گیری قطر کلنی کپک، تا زمانی که تمام سطح نان به وسیله کپک پوشانده می‌شد، ادامه می‌یافت. لازم به توضیح است که در این مرحله از آزمایش از کپک *Aspergillus sp.* به عنوان کپک شاخص استفاده گردید. انتخاب آن با توجه به نتایج آزمایش‌های مقدماتی صورت پذیرفت، زیرا در آزمایش‌های مقدماتی ملاحظه گردید که چنانچه نان‌ها به هر کدام از جنس‌های دیگر آلوده شوند، *Aspergillus sp.* بیشترین رشد را بر روی نمونه‌های نان داشته و سایر نمونه‌ها را نیز آلوده می‌نماید.

همه تیمارها در پنج تکرار انجام پذیرفت، یعنی مجموعاً ۲۵ نمونه آزمایشی تهیه شد. از طرح آماری کاملاً تصادفی برای این مرحله از پژوهش استفاده شد (۱ و ۴). متغیر مورد بررسی، درصد کپک زدگی نمونه‌ها در روزهای مختلف بود. نتایج رشد کپک در طی شش روز جمع‌آوری و ثبت گردید. نتایج حاصل با

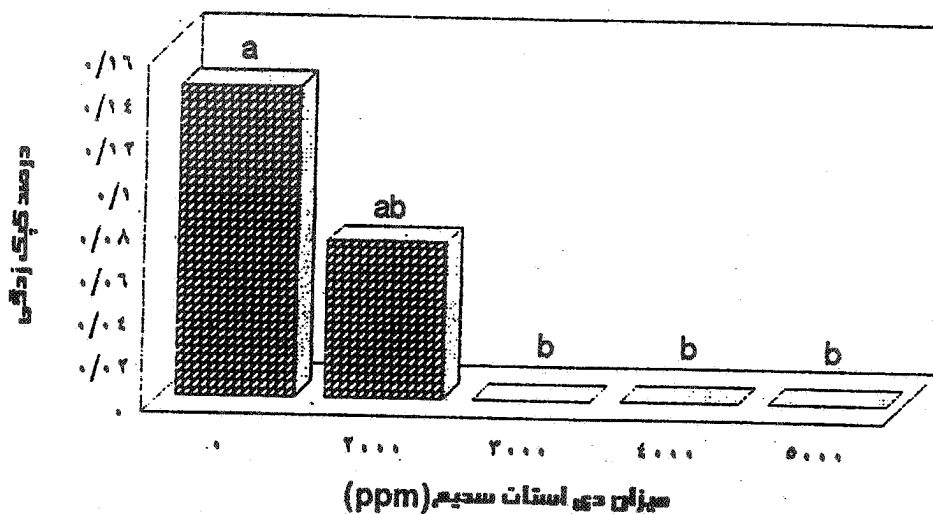
جدول ۱. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارهای مختلف در روزهای مختلف^۱

میزان دی استات سدیم	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم
۰ ppm (شاهد)	۰/۰۱۴ ^a	۰/۱۴۲۸ ^a	۲۰/۶۸۲ ^a	۴۹/۱۴۰ ^a	۱۰۰ ^a	۱۰۰ ^a
۲۰۰۰ ppm	۰ ^b	۰/۰۷۲ ^{ab}	۲/۴۹۶ ^b	۱۵/۰۸۶ ^b	۵۰/۹۵۶ ^b	۸۶/۸۰۸ ^b
۳۰۰۰ ppm	۰ ^b	۰ ^b	۱/۴۰ ^{bc}	۳/۵۴۸ ^c	۱۹/۱۴۴ ^c	۳۹/۸۶۴ ^c
۴۰۰۰ ppm	۰ ^b	۰ ^b	۰/۰۷۷ ^{cd}	۱/۹۸۰ ^c	۸/۸۲۶ ^{cd}	۲۴/۸۲۶ ^c
۵۰۰۰ ppm	۰ ^b	۰ ^b	۰ ^d	۰/۰۲۲ ^d	۱/۱۷۴ ^d	۴/۵۱۶ ^d

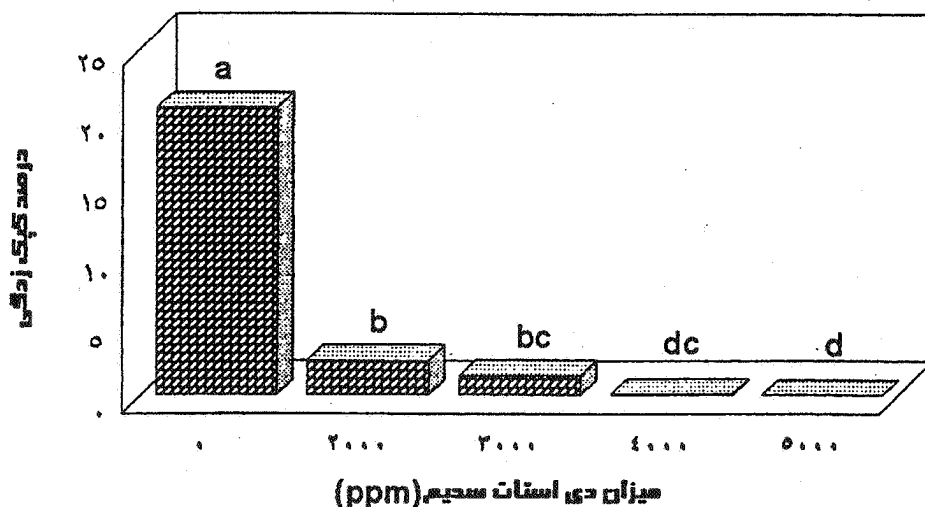
۱. تفاوت میانگین‌هایی که با حروف مشابه شده‌اند از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($P > 0.05$).
 ۲. از آن‌جا که آنالیز واریانس در مورد هر کدام از روزها به صورت جداگانه صورت گرفته، بین حروف مشابه در روزهای مختلف هیچ‌گونه ارتباطی موجود نیست.



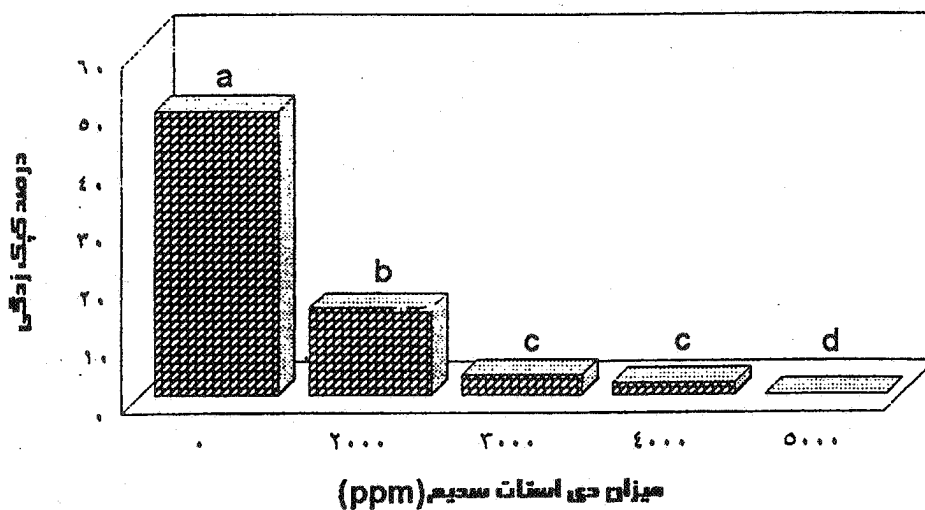
نمودار ۱. مقایسه میانگین درصد کپک‌زدگی تیمارها در روز اول



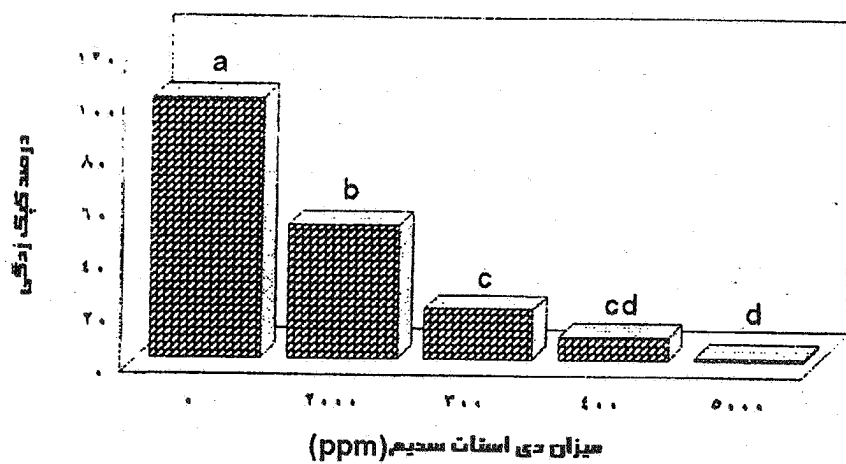
نمودار ۲. مقایسه میانگین درصد کپک‌زدگی تیمارها در روز دوم



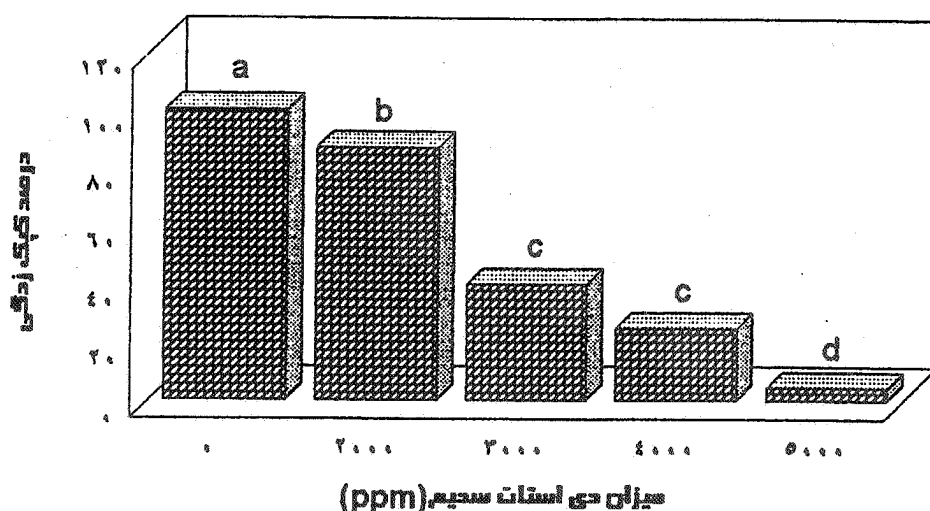
نمودار ۳. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارها در روز سوم



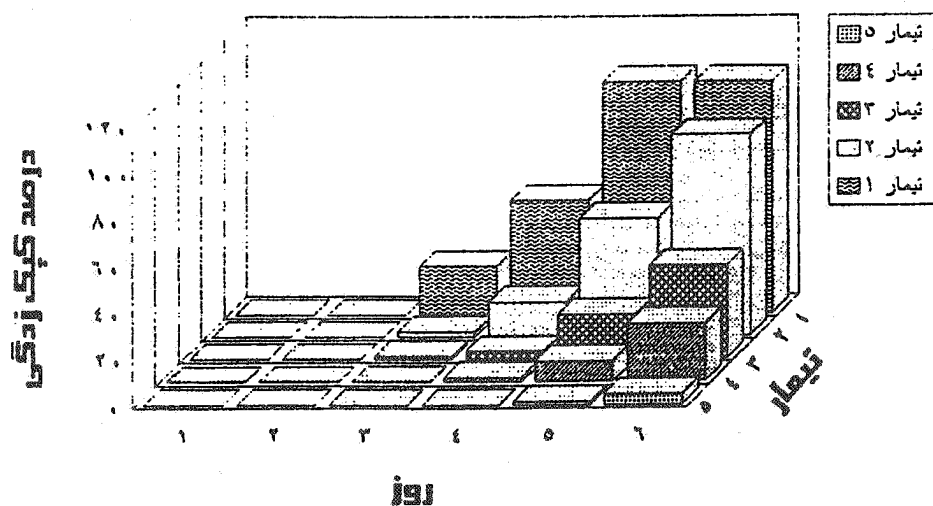
نمودار ۴. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارها در روز چهارم



نمودار ۵. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارها در روز پنجم



نمودار ۶. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارها در روز ششم



نمودار ۷. مقایسه میانگین درصد کپک زدگی تیمارهای مختلف در روزهای اول تا ششم

را تحت تأثیر قرار داده و باعث می‌گردد که بافت نان سفت شده و بوی استیکی از آن به مشام برسد. لذا غلظت ۳۰۰۰ پی پی ام دی استات سدیم، که تا چهار روز کپک زدگی نان را به تأخیر انداخته و از طرفی هیچ گونه اثر سوء بر کیفیت ارگانولپتیک نان نداشته است، به عنوان غلظت مناسب پیشنهاد می‌گردد. بررسی‌های جنبی مشخص نمود که این غلظت دی استات سدیم باعث تأخیر در بیاتی نان نیز می‌شود. با توجه به تمامی جوانب می‌توان پیشنهادهای زیر را ارائه نمود:

۱. هر چند استفاده از هیچ ماده افزودنی نمی‌تواند جایگزین

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج پژوهش گویای این است که دی استات سدیم یک ماده مناسب برای جلوگیری از رشد کپک در نان می‌باشد، و چنانچه محدودیت‌های تکنولوژیک و قانونی اجازه دهد، هر چه غلظت آن بیشتر شود رشد کپک به میزان چشم‌گیری کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط پژوهشگران دیگر هم‌خوانی دارد (۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲).

با توجه به نتایج آزمایش‌های مختلف مشخص می‌شود که غلظت‌های بیش از ۳۰۰۰ پی پی ام ویژگی‌های ارگانولپتیک نان

۳. در زمینه اثر ضد بیاتی این ترکیب باید بررسی‌های بیشتر و عملی‌تری صورت پذیرد.
۴. در این پژوهش اثر دی‌استات سدیم بر نان‌های مسطح بررسی گردید، لازم است در خصوص سایر نان‌ها نیز پژوهش‌های بیشتر صورت گیرد.
۵. با این که نتایج پژوهشگران گویای ایمنی مصرف دی‌استات سدیم می‌باشد، اما با توجه به میزان بالای مصرف نان در ایران، لازم است در زمینه آثار پاتولوژیک این ماده بیشتر بررسی گردد.
- روش مناسب تولید نان گردد، اما با توجه به وضعیت فعلی تولید، عرضه و مصرف نان در کشور، به نظر می‌رسد در حال حاضر چاره‌ای جز استفاده از مواد نگهدارنده بدون زیان در تولید نان نیست.
۲. نظر به این که اکثر مواد نگهدارنده دارای آثار جنبی هستند، لذا باید تلاش شود از مواد نگهدارنده ایمن در مواد غذایی استفاده گردد. دی‌استات سدیم یک نگهدارنده ایمن است که می‌تواند با به تأخیر انداختن رشد کپک‌ها، باعث افزایش ماندگاری نان شود.

منابع مورد استفاده

۱. بصیری، ع. ۱۳۷۳. طرح‌های آماری در علوم کشاورزی. انتشارات دانشگاه شیراز.
۲. جیمز، ام. جی. ۱۳۷۶. میکروبیولوژی غذایی مدرن (ترجمه علی مرتضوی و همکاران). جلد دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
۳. رجب‌زاده، ن. ۱۳۷۲. تکنولوژی نان. انتشارات دانشگاه تهران.
۴. غروی، م. ۱۳۷۱. بررسی فلور میکروبی نان‌های خشک از نظر وجود کپک‌های توکسین‌زا و جستجوی آفاتوکسین در آنها. پایان‌نامه دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
۵. کوهستانی، ق. و ک. بختیاری‌زاده. ۱۳۷۲. بررسی میزان آفاتوکسین M1 در شیر پاستوریزه مشهد. پایان‌نامه دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.
۶. مرتضوی، ع. و ف. طباطبایی. ۱۳۷۶. توکسین‌های قارچی. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.
7. Barret, F. 1990. Extending the keeping quality of bakery product. *Baker's Digest*. 44(4): 48-49 & 67.
8. Bruemmer, B. 1986. Mycotoxins and food safety, *J. Food Tech*. 36(7): 59-62.
9. Bruemmer, J. M. and G. Morgenstern. 1985. Measures for prevention of mold growth on bread. *Getriede mehl-und Brot*. 39(7): 198-200.
10. Bruemmer, J. M. and G. Morgenstern. 1984. Measures for prevention of mold growth on bread. *Getreide, Mehl-un Brot*. 38(2): 52-56.
11. Bruemmer, J. M., H. Stephan and G. Morgenstern. 1982. Measure for prevention of mold growth. *Getreide, mehl-und Brot*. 36(9): 237-239.
12. Charalambous, J. 1986. *Handbook of Food and Beverage Stability*. Academic Press, New York.
13. Ellenhorn, M. J. and D. G. Bacelouck. 1988. *Medical Toxicology*. Elseveier, Holand.
14. Frazier, W. C. and C. W. Westhoff. 1988. *Food Microbiology*. 5th Ed., McGraw-Hill Int. Editions, UK.
15. Glabe, E.F. and J. K. Maryanski. 1981. Sodium diacetate: An effective mold inhibitor. *Cereal Food Worlds* 26(6): 285-289.
16. Plegg, S. D, J. G. Linn and D. W. Crawford. 1986. Sodium diacetate improves stability of corn hylage. *The Weekly Newspaper for Agribusiness* 58(19): 23-26.
17. Yousef. A. E. and E. H. Marth. 1990. *Stability and Degradation of Aflatoxin M1*. Dept. of Food Sci. and Res. Institute, University of Wisconsin, Madison, USA.