

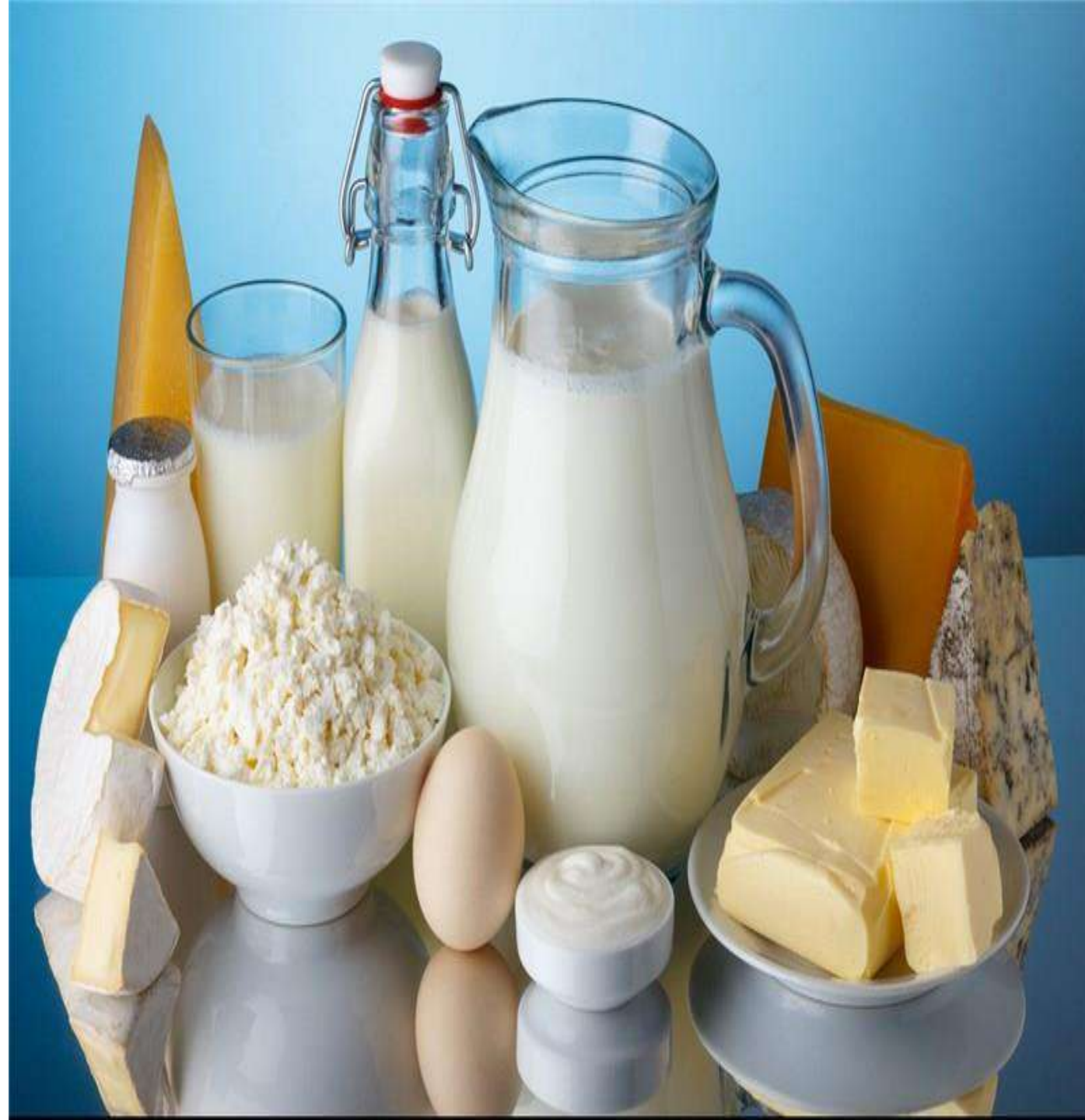


معاونت غذا و دارو

اندازه گیری ناتامایسین در لبنیات به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

تهیه شده توسط:
سهیلا سپاهی
دکتر الهام جهانمرد
آزاده معتمدی

آذر ماه ۱۴۰۱



نگهدارنده

نگهدارنده ها موادی هستند که اجازه رشد میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، مخمرها و کپک‌ها یا قارچ‌ها) را در مواد غذایی مختلفی که به صورت سسی تولید می‌شوند، نمی‌دهند.

نگهدارنده ها به طور عمده به دو دسته طبیعی و شیمیایی تقسیم بندی می‌شوند.

نگهدارنده های شیمیایی برای جلوگیری یا به تاخیر انداختن فساد مواد غذایی دارای کاربرد وسیع، اما سرطان زا و سمی هستند. بسیاری از مواد شیمیایی ضد میکروبی برای طولانی مدت بدون هیچ گونه عوارض شناخته شده ای استفاده شده اند.

امروزه مصرف کنندگان در مورد مواد نگهدارنده شیمیایی مانند نیتريت سدیم، بنزوئیک اسید، پتاسیم سوربات، پروپیونیک اسید و... که در مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند نگرانند، در نتیجه تمایل به غذاهای کمتر فرآوری شده دارند. بدین منظور استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفته است.

از جمله نگهدارنده‌های طبیعی می‌توان به سیتریک اسید، اسید اسکوربیک و باکتریوسین‌ها اشاره کرد.





معاونت غذا و دارو

نگهدارنده های مورد استفاده در محصولات لبنی



- بنزوات سدیم
- سوربات پتاسیم
- ناتامایسین



بنزوات سدیم

اسید بنزوئیک و بنزوات سدیم افزودنی های غذایی هستند که به عنوان نگهدارنده های ضد میکروبی، کاربرد گسترده ای در فرآورده های مختلف غذایی دارند بنزوات سدیم بلور بی رنگ محلول در آب با شماره تجارتي E211 است و ترکیب نمکی حاصل از اسید بنزوئیک به عنوان ساده ترین ترکیب آروماتیک کربوکسیلیک اسید می باشد. اثر نگهدارندگی و مهار کنندگی این ماده شیمیایی وابسته به PH است و در محیط اسیدی خاصیت خود را بهتر نشان می دهد. اسید بنزوئیک و نمک آن به طور گسترده جهت حذف یا کاهش فعالیت کپک و مخمر و تا حد کمتری باکتری ها به کار می رود. این نگهدارنده با اختلال در عملکرد غشا و ایجاد مشکل در تبادل مواد مورد نیاز حیات میکروارگانیسم ها و مهار آنزیم سیکل سیترات فسفریلاسیون اکسیداتیو، منجر به توقف فعالیت میکروارگانیسم ها می شود.

بنزوات سدیم در نوشیدنی های اسیدی مانند نوشابه و آبمیوه، سس و ترشیجات کاربرد زیادی دارد.

لازم به ذکر است امکان تشکیل بنزوئیک اسید به صورت طبیعی در فرآورده های تخمیری مانند ماست، پنیر و دوغ بر اساس فعل و انفعالات میکروبی می باشد.

ایجاد جهش ژنتیکی در لنفوسیت خون انسان، مشکلات پوستی و بیش فعالی در کودکان رده سنی ۳، ۸ و ۹ ساله و دانشجویان از جمله مضرات کاربرد اسید بنزوئیک و بنزوات سدیم گزارش شده است.

براساس قوانین موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصرف اسید بنزوئیک و نمک های آن در محصولات لبنی و آب میوه ها ممنوع است.





سوربات پتاسیم

سوربات پتاسیم (E202) بر طیف وسیعی از کپک و مخمرها موثر است ولی بر باکتری ها اثر ضد میکروبی کمتری دارد . همچنین بر روی میکروارگانیسم کاتالاز مثبت موثر است. بیشترین تاثیر ضد میکروبی سوربات پتاسیم در PH پایین تر از ۶ است.

این ماده به عنوان نگهدارنده در نان و سایر محصولات نانوایی، لبنیات، آبمیوه‌ها، مرباها و شربت ها، ترشی‌ها و میوه های خشک ... قابل استفاده است.

سوربات پتاسیم دمای بالا را تحمل می کند. این ماده تاثیری بر عطر و طعم مواد غذایی ندارد و با ویتامین ها و مواد معدنی و آنزیم ها وارد واکنش نمی شود.





معاونت غذا و دارو

ناتامایسین

ناتامایسین یا پیماریسین (E235) یک داروی ضد قارچ است که برای درمان عفونت های قارچی اطراف چشم استفاده می شود.

از ناتامایسین در صنایع غذایی به عنوان ماده نگهدارنده نیز استفاده می شود.

این ماده با تخمیر نوع خاصی از باکتری استرپتومایسس تولید می شود.

پس از عمل استخراج، ناتامایسین به دست آمده تحت اثر سانتریفیوژ، فیلتر و شستشو قرار می گیرد تا محصول تولید شده خالص و با کیفیت

باشد. ناتامایسین به میزان ناچیزی در آب محلول است و نگه دارنده ای بدون طعم و بی رنگ می باشد که برای اثر بخشی نسبت به انواع

نگهدارنده های شیمیایی، وابستگی کمتری به pH دارد و در مقادیر کمتر از ۱۰ PPM بر روی بیشتر کپک ها موثر می باشد.

این ماده به دو صورت مایع و پودری تولید می شود؛ بنابراین یکی از امتیازات استفاده از ناتامایسین به جای نگهدارنده های شیمیایی است.

استفاده دیگر از آن هم به صورت پودری در ترکیب با فرمولاسیون و هم به صورت یک سوسپانسیون مایع مثل مخلوط کردن با آب نمک و

اسپری آن بر روی محصول می باشد. نقطه هدف ناتامایسین ارگسترول در دیواره سلولی می باشد.

ارگسترول یک سد ساختمانی در برابر کپک و مخمر در دیواره سلولی به وجود می آورد که مسئول نقل و انتقال

مواد غذایی در درون سلول می باشد و به همین دلیل برای بقای کپک و مخمر مهم می باشد.

به دلیل اینکه ارگسترول در دیواره باکتری ها موجود نیست این نگهدارنده بر روی باکتری ها بی اثر می باشد.





معاونت غذا و دارو

مکانیسم ناتامایسین در برابر مخمرها و کپک ها

ناتامایسین به ساختمان ارگوستول (ergosterol) موجود در دیواره سلولی مخمرها و کپک ها، که انتقال مواد غذایی را از طریق غشاء امکان پذیر می سازد، متصل می شود. هنگامی که ناتامایسین به ارگوستول متصل شود، انتقال مواد مغذی مسدود شده و موجب مرگ سلول می شود. به دلیل اینکه ارگوسترول در دیواره باکتری ها موجود نیست این نگه دارنده بر روی باکتری ها بی اثر می باشد.

مقدار LD50 این ماده در حیوانات و انسان ها متفاوت می باشد. متابولیت های ناتامایسین فاقد سمیت هستند و محصولات حاصل شکستگی ناتامایسین در شرایط مختلف ذخیره سازی، ممکن است LD50 پایین تر از ناتامایسین داشته باشند. در انسان، اگر مقدار مصرفی این ماده زیاد باشد، در طی چند روز، باعث تهوع، استفراغ و اسهال شد.





کاربرد ناتامایسین

ناتامایسین در صورت تجویز، جذب ناچیز در بدن را نشان می دهد. هنگامی که به صورت خوراکی مصرف می شود، مقدار کمی توسط دستگاه گوارش جذب نمی شود و این امر برای عفونت های سیستمیک مناسب نیست. مزایای بالقوه برای استفاده از ناتامایسین ممکن است شامل جایگزینی مواد نگهدارنده شیمیایی سنتی، تأثیر عطر و طعم خنثی و وابستگی کمتری به pH برای اثر بخشی باشد، همانطور که در مواد نگهدارنده شیمیایی معمول است.

یکی از دلایل تولیدکنندگان مواد غذایی برای استفاده از ناتامایسین، جایگزین کردن با نگهدارنده مصنوعی سوربیک اسید است. عمل ناتامایسین میکروارگانیزم های دیگر را از بین نمی برد، به این معنی که روند طبیعی غذا را تغییر نمی دهد و بر خلاف سایر داروهای ضد میکروبی، در ظاهر، طعم یا رنگ محصولات تأثیر نمی گذارد.

این ماده به دو صورت مایع و پودری تولید می شود؛ بنابراین یکی از امتیازات استفاده از ناتامایسین به جای نگه دارنده های شیمیایی است.

استفاده دیگر از آن هم به صورت پودری در ترکیب با فرمولاسیون و هم به صورت یک سوسپانسیون مایع

مثل مخلوط کردن با آب نمک و اسپری آن بر روی محصول می باشد.





معاونت غذا و دارو

کاربرد ناتامایسین در صنایع غذایی:

- سالادهای میکس بسته بندی شده برای جلوگیری از رشد قارچ ها
- به عنوان نگه دارنده در صنایع گوشتی و لبنی
- جایگزین نگه دارنده سنتتیک اسید سوربیک
- خامه ترش، ماست
- پنیرهای ورقه ای
- انواع سس ها





کاربرد ناتامایسین در پنیر

ناتامایسین در انواع پنیرهای سخت، نیمه سخت و تازه سبب جلوگیری از رشد کپک ها در سطح پنیر شده و در نتیجه از ایجاد بوی نامطبوع و نرم شدن بافت پنیر جلوگیری می کند. همچنین ناتامایسین از رشد مخمرها در پنیر و تولید گاز و بوی بد جلوگیری کرده و سبب افزایش زمان ماندگاری پنیر می گردد. استفاده از ناتامایسین در پنیر به این صورت است که، یا این ماده را بر روی پنیر اسپری می کنند و یا ممکن است پنیر در محلول آن غوطه ور شود. در پنیر های پوشش داده شده استفاده از ناتامایسین تا اندازه ای متفاوت است، به صورتی که در این حالت ناتامایسین به پوشش اضافه می شود. برای فعال باقی ماندن آن همزمان با رسیدن پنیر در طی ماهها و یا حتی بعضی اوقات سال ها باید به پوشش آن اضافه شود.





کاربرد ناتامایسین در ماست :

دلیل استفاده از این ماده در ماست موجب می شود تا ماست از کپک زدن و تغییر طعم آن جلوگیری می کند. به طور طبیعی کپک و مخمر در هوا وجود دارند، به همین علت می تواند در سطح ماست رشد کند و ظاهر نامطلوب، بافت شل و طعم بدی را به وجود آورد. بنابراین مصرف ناتامایسین در ماست باعث طولانی تر شدن زمان ماندگاری ماست می گردد. همینطور ماست هایی که حاوی میوه هستند در معرض فساد با قارچ های که از میوه به آن منتقل شده اند قرار دارند. ناتامایسین در مقابل میکروب های حساس اثر کشندگی دارد به خصوص بر روی قارچ هایی که ممکن است تولید کننده ی مایکوتوکسین باشند موثر است.



کاربرد ناتامایسین در دوغ :

ناتامایسین در دوغ مانع از رشد کپک ها می شود. این ماده از رشد مخمر در دوغ جلوگیری می کند. از گاز دار شدن دوغ، ایجاد بوی نامطبوع و تغییرات طعم و رنگ ناشی از فعالیت مخمر ها جلوگیری می کند. بنابراین استفاده از ناتامایسین در دوغ زمان ماندگاری دوغ را نیز افزایش می دهد.



روش اندازه گیری ناتامایسین

اندازه گیری ناتامایسین در نمونه های لبنیات توسط دستگاه HPLC انجام می شود.
استاندارد سازی:

محلول ذخیره ناتامایسین (1000 ppm): 0/1 گرم ناتامایسین را وزن کرده و با متانول به حجم 100 میلی لیتر برسانید.
از محلول ذخیره 1000 ppm، 500 میکرولیتر را با محلول آب- متانول فوق به حجم 10 میلی لیتر رسانید. غلظت محلول حاصل 50 ppm می باشد.

5 میلی لیتر از محلول 50 ppm را در بالن ژوژه 50 میلی لیتری با محلول آب- متانول به حجم رسانید. غلظت محلول نهایی 5 ppm می باشد.

استاندارد کاری: با پیپت 10 میلی لیتر از استاندارد ذخیره 5 ppm، به ترتیب 10، 8، 6، 4 و 2 میلی لیتر برداشته و در بالن ژوژه 50 میلی لیتری ب با محلول آب- متانول به حجم رسانده شد.
غلظت استاندارد های حاصل به ترتیب 1، 0/8، 0/6، 0/4 و 0/2 می باشد.
آماده سازی نمونه:

10 گرم یا 10 سی سی از نمونه مورد نظر را در یک بالن ژوژه 200 میلی لیتری ریخته و 100 سی سی متانول HPLC Grade به آن اضافه کرده و به مدت 90 دقیقه هم بزنید.

50 میلی لیتر آب به بالن اضافه کرده و به مدت 60 دقیقه درون فریزر قرار دهید.
محلول حاصل را با کاغذ صافی صاف کرده. محلول زیر صافی را به دمای محیط رسانده و قبل از تزریق با صافی 45 میکرونی صاف کرده و به دستگاه تزریق کنید.



معاونت غذا و دارو

با تشکر از توجه شما

