مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۹ شماره ۳/ سال ۱۳۹۸/ صفحات ۴۳ تا ۵۲

اثر تخمیر و روش‌های پخت با مادون قرمز و سنتی بر کاهش میزان آفلاتوکسین نان لواش

ویدا پاشایی[۱] و سیمین حق نظری[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۷

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
[۲] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
[*]مسئول مکاتبه: Email: haghnazari.simin@znu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: نان بخش مهمّی از رژیم غذایی خانواده‌های ایرانی را تشکیل می‌دهد. با توجّه به سهولت رشد کپک‌ها به‌خصوص کپک *آسپرژیلوس* بر روی مواد اولیّه نان‌های سنّتی و خود نان، امکان تولید سم آفلاتوکسین از این نوع کپک‌ها در آن‌ها زیاد است. مطالعات مختلف نشان داده است که بهترین و مطمئن‌ترین روش سم‌زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین‌ها استفاده از گونه‌های مؤثر میکروبی نظیر مخمر ساکارومیسس‌سریویسیه می‌باشد که در فرمولاسیون نان‌ها، جزء مواد اولیّه لازم است. با توجه به امکان آلودگی آردهای مصرفی به آفلاتوکسین، انجام مرحله تخمیر نان با مخمر فوق‌الذکر برای کاهش میزان آفلاتوکسین، اهمیت بیشتری می یابد. **هدف**: هدف از این تحقیق بررسی تاثیر کارایی تخمیر، اشعه مادون قرمز و پخت سنتی در کاهش میزان آفلاتوکسین نان لواش می‌باشد. **روش کار**: در این تحقیق تأثیر مخمر فوری نان در کاهش آفلاتوکسین‌کل قبل و بعد از تخمیر در دمای ۲۸°C و به مدّت ۱ ساعت در خمیر نان لواش مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این عملکرد دستگاه مادون قرمز توربو ویو در کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل با روش متداول پخت نان لواش مقایسه گردید. **نتایج**: میزان آفلاتوکسین‌کل در نمونه‌های خمیر پس از تخمیر ۸۷/۰۴ درصد نسبت به شاهد (نمونه قبل از تخمیر) کاهش یافته بود. همچنین تأثیر روش پخت نان لواش، با کمک تشعشع مادون‌قرمز و روش کلاسیک به ترتیب نشان‌دهنده کاهش ۹۰/۳۳ درصدی و ۸۹/۹۵ درصدی در کاهش میزان آفلاتوکسین بوده است که اختلاف معنی داری را بین دو روش پخت نشان نداد. **نتیجه گیری**: لذا مجموعا می‌توان نتیجه گرفت که عمل تخمیر مرحله ضروری برای ایجاد کیفیت مناسب و تامین سلامت نان می‌باشد. همچنین تأثیر روش پخت با اشعه مادون قرمز و روش پخت سنّتی، در نابودی سم آفلاتوکسین در نان یکسان عمل می‌کنند لذا برخلاف وجود سایر اثرات روش‌های پخت، این دو روش در ایمنی نان از نظر نابودی سم آفلاتوکسین، تفاوتی با یکدیگر ندارند.

واژگان کلیدی: آفلاتوکسین، اشعه مادون قرمز نزدیک، تخمیر، نان

مقدمه

نان از پرمصرف‌ترین اقلام غذایی در ایران می‌باشد. میزان مصرف سالانه نان برای هر نفر ایرانی ۲۰۰ - ۱۸۰ کیلوگرم برآورد شده است (خسروی‌نیا و همکاران ۲۰۰۶). مهمترین نگرانی و چالش میکروبی در ارتباط با نان، آلودگی‌های قارچی وسموم آن‌ها مانند

آفلاتوکسین‌ها است که شامل G_1, G_2, B_1, B_2 می‌باشند (بامیار و همکاران ۱۳۹٤).

آفلاتوکسین‌ها گروهی از مایکوتوکسین‌ها و متابولیت-های ثانویه تولید شده به وسیله قارچ‌ها می‌باشند که دارای بیش‌ترین درجه سمّیت در بین مایکوتوکسین‌ها هستند. آفلاتوکسین‌ها توسط قارچ‌هایی چون *آسپرژیلوس‌پارازیتیکوس*[1] و *آسپرژیلوس‌فلاوس*[2] به-وجود می‌آیند که به‌علت ماهیّت سمّی می‌تواند باعث ایجاد سرطان در انسان و حیوان گردند (هورفر ۱۳۸۹). *آسپرژیلوس‌فلاووس*، آفلاتوکسین B_1, B_2 و*آسپرژیلوس‌پارازیتیکوس*، آفلاتوکسین‌های B_1, B_2, G_1 G_2, را تولید می‌کند (هادی‌زاده‌معلم و همکاران ۲۰۱۰). آفلاتوکسین‌ها دارای ۱۷ نوع ایزومر از انواع M_1, M_2 B_1, B_2, G_1, G_2,می‌باشند. دربین آن‌ها آفلاتوکسین B_1 تا به حال دارای بیش‌ترین اثر سرطان‌زایی در کبد بوده است (هورفر ۱۳۸۹). کپک‌هایی که این سموم را تولید می‌نمایند، می‌توانند به وسیله رشد قارچی، محصولاتی چون گندم، جو، ذرت و سایر انواع غلات را پیش از برداشت، در طول برداشت و یا در طول انبارکردن آلوده نمایند. حضور این سموم در غلات سبب آلودگی مواد غذایی، انسان‌ها و حیوانات می‌گردد (هورفر ۱۳۸۹). قارچ *آسپرژیلوس‌فلاوس*، به‌طور گسترده در طبیعت موجود می‌باشد و می‌تواند بر روی خوشه‌های ذرت، گندم، جو، برنج، پنبه دانه، قهوه و بسیاری مواد غذایی دیگر رشد کند. قارچ‌ها در شرایط رطوبت زیاد، گرما و وجود شرایط مناسب آفلاتوکسین تولید می‌کنند. سنتز سم هنگامی که رطوبت بالای ۱۳ درصد و دما C ۲٤° تا C ۳۷° می‌باشد؛ تشدید می‌گردد به همین دلیل است که مناطق گرم و مرطوب بهترین محیط جهت تولید آفلاتوکسین‌ها می‌باشد (جک‌دیمیک و همکاران ۲۰۰۹). برای کنترل مایکوتوکسین قبل از برداشت، جلوگیری از شرایطی که رشد قارچ وتولید سموم را تشدید می‌کند نظیر میزان رطوبت محصولات انبار شده، دما، شرایط دانه، ترکیب گاز هوا، فعل و انفعالات میکروبی داخلی و وجود نگهدارنده‌های شیمیایی و بیولوژیکی می‌بایستی کنترل شوند. روش‌های متعددی برای کاهش آفلاتوکسین‌ها شامل روش فیزیکی (تمیز کردن، حرارت دادن، اشعه‌دهی) روش شیمیایی (ترکیبات شیمیایی، گاز اوزون) و روش بیولوژیکی (استفاده ازباکتری‌ها، مخمرها) درمواد غذایی مختلف ازسال ۲۰۰۰ تا ۲۰۱۵ ارائه شده است (جلیلی ۲۰۱۵). مطالعات مختلف نشان داده است که بهترین و مطمئن‌ترین روش سم زدایی مواد غذایی آلوده به مایکوتوکسین‌ها، استفاده از گونه-های مؤثر میکروبی نظیر باکتری‌های لاکتیکی و مخمر-هاست که قادر به کاهش دادن این سموم می‌باشند (رهایی و همکاران ۲۰۱۰).

ساکارومایسس سرویسیه

ساکارومایسس سرویسیه میکروارگانیزمی که به صورت مخمر خشک فعال در نانوایی استفاده می شود، برای نگهداری نیاز به یخجال نداشته و به تغییرات دمایی مقاوم و دارای قابلیت نگهداری طولانی است و قادر به افزایش سرعت تخمیر نان به میزان دو برابر مخمرهای تازه می باشد. دمای مطلوب رشد این مخمر در محدوده ۳۰ الی ۳۵ درجه سانتیگراد بوده و این مخمر علاوه بر تاثیر در تخمیر سریع نان، در سم‌زدایی آرد از طریق جذب سطحی سم موثر است. ساکارومیسس سریویسیه در سلامت انسان نقش دیگری دارد به طوری که تحقیقات شوجسکا و کلودزیه نشان می دهد، واریته boulardii این میکروب قادر به درمان اسهال ناشی از مصرف آنتی بیوتیک در انسان می باشد (شوجسکا و کلودزیه ۲۰۱۵). از طرف دیگر این مخمر به عنوان مکمل غذایی در تامین ویتامینهای گروه B و پروتئین غذایی به عنوان دارو قابل استفاده است (چلیک و همکاران ۲۰۱۸).

[1]- *Aspergillus parasiticus*
[2]- *Aspergillus flavus*

تأثیر تخمیر بر روی کاهش میزان آفلاتوکسین در محصولات غذایی هندی توسط ریدی[1] و همکاران در سال ۲۰۱۰ بررسی شده و نتایج نشان داد که حرارت و تخمیر، محتوای آفلاتوکسین B_1 را کاهش می‌دهد و حداکثر کاهش در نان مشاهده شد. ساکارومیسس سریویسیه علاوه بر کمک به سلامت محصولات نانوایی، موجب افزایش حجم این محصولات و تولید عطر و طعم و بافت بهتر می شود (اومه و همکاران ۲۰۱۹)

اشعه مادون قرمز

اشعه مادون قرمز بخشی از طیف الکترومغناطیسی است که در بین امواج مایکروویو و نورمرئی قرار دارد و در محدوده طول موجی بین ۱۰۰۰– ۰/۵میکرومتر واقع است. محدوده جذب انرژی در مواد غذایی در طیفی باریک از امواج مادون قرمز و در محدوده طول موجی ٦ تا ۱۱ میکرومتر اتّفاق می‌افتد. منطقه طیفی مادون قرمز خود به سه قسمت مادون قرمز نزدیک، مادون قرمز میانی و مادون قرمز دور تقسیم می‌شود (روسن‌تال و همکاران ۱۹۹٦). حرارت ناشی از مادون قرمزنزدیک را می‌توان با استفاده از یک لامپ هالوژن ایجاد کرد. لامپ هالوژن، تابشی در محدوده طیفی نور-مرئی ولی با فرکانس بالاتر را ساطع می‌کند. مادون قرمزنزدیک عمق نفوذ بیش‌تری از مادون قرمزمیانی و مادون قرمزدور دارد (سی‌هان و همکاران ۲۰۰۹). حرارت ناشی از تابش امواج مادون قرمز، شکل کار-آمدی از اعمال حرارت در مقایسه با حرارت معمول می‌باشد که باعث کاهش مصرف انرژی نیز می‌شود (کریشنا مورتی و همکاران ۲۰۱۱). اشعه مادون قرمز نزدیک به عنوان تکنیکی جهت پخت نان، روشی مؤثر در کاهش زمان پخت با حصول نتایج موفّقی در کیفیّت نان می‌باشد. از جمله مزایای روش اشعه مادون قرمز، کاهش زمان پخت، سرعت انتقال بالای حرارت، قابلیت نفوذ حرارتی بالا در نان، کاهش هزینه‌های انرژی، حرارت یکنواخت‌تر نسبت به روش حرارتی معمول، کم-ترین آسیب به کیفیّت ماده غذایی، حفظ ویتامین‌های ماده غذایی و بالاخره امکان کنترل پارامترهای حرارتی است (اسجولد براند و اندرسون ۱۹۸۹).

هدف

با توجّه به این‌که در طی انبارداری، ممکن است گندم در سیلو در شرایط دمایی و رطوبتی مناسب رشد قارچ‌ها قرار گرفته و در نتیجه منجر به تولید آفلاتوکسین شود و در نهایت این سم، وارد آرد و نان مصرفی شود. لذا هدف در این پروژه بررسی تأثیر تخمیر و روش‌های پخت سنّتی و حرارت اشعه مادون قرمز نزدیک بر میزان کاهش آفلاتوکسین‌کل در نان لواش در غلظت‌های بالای سم آفلاتوکسین می‌باشد تا دریافت که فرآیندهای مذکور چه میزان در کاهش سم آفلاتوکسین‌کل مؤثرند و این‌که آیا میزان این سم، به کم‌تر از حد مجاز در استاندارد مربوطه خواهد رسید.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی

آرد: آرد سبوس گرفته با درجه استخراج ۸۷/۵ درصد در پخت نان لواش با ١٤/٢ درصد رطوبت، پروتئین حداقل ۱۱/۵ درصد و خاکستر ۰/۸۵ درصد به کار رفت.

مخمر خشک فوری: از شرکت خمیر مایه فریمان خریداری و به میزان ۱/۵ – ۰/۵ درصد وزن آرد مصرف شد.

سم آفلاتوکسین: ۲۰۰۰ نانوگرم آفلاتوکسین(G_2, G_1, B_2, B_1) حل شده در یک میلی‌لیتر متانل که به تعداد ۳ ویال از آزمایشگاه فاروق تهران خریداری شد.

کیت آزمایش آفلاتوکسین RIDASCREEN Aflatoxin Total ساخت کشور آلمان استفاده شد.

لوازم و دستگاه‌ها

دستگاه پخت مادون قرمز توربو ویو: در پخت نان به روش مادون‌قرمز از دستگاه Flavor Wave Turbo

[1]- Uma Reddy

دارای لامپ هالوژن تولید کننده امواج مادون قرمز نزدیک در محدوده طیفی ۳- ۰/۷۸ میکرومتر استفاده شد. به دلیل این‌که عمق نفوذ امواج مادون قرمز پایین می‌باشد، برای داشتن ضخامتی معادل ۷ میلی‌متر که ماکزیمم عمق نفوذ امواج مادون قرمز می‌باشد، لذا برای پخت نان‌های مسطّح استفاده شد.

دستگاه پخت نان سنّتی: فر پخت نان دوار پرتابل با حرارت شعله مستقیم مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ٥٦٤٨ ساخته شده، استفاده شد.

روش تهیّه نان لواش

۱۰۰کیلوگرم آرد با آب به میزان ۱۰۰ کیلوگرم و ۲ درصد نمک و مخمر به میزان ۱/۵ درصد اضافه کرده و در خمیرگیر حدود ۱۰ دقیقه مخلوط کرده تا یکنواخت شود بعد عمل تخمیر در دمای ۲۸°C به مدّت ۱ ساعت انجام شد، بعد ۵۰ گرم از خمیر را به صورت چونه در آورده روی آن‌ها را با پارچه متقال پوشانده و ۱۰ دقیقه به حال خود گذاشته تا عمل تخمیر ثانویه انجام و بافت اسفنجی شده بعد عمل پخت در تنور به مدّت ۲۵ ثانیه در دمای ۲۰۰°C انجام شد (استاندارد ملّی ایران به شماره ۵۸۱۰).

آلوده کردن آرد

با توجه به این که میزان اولیه سم آفلاتوکسین آرد لواش ۷ نانوگرم در گرم بوده‌است، لذا با افزودن عمدی این سم، به میزان ۱۶۳,۷۵ نانوگرم بر گرم بر پایه وزن خشک آرد، به‌صورت محلول درمتانل به آرد افزوده شد.

روش تهیّه تیمارها

برای پخت نان از دستگاه فر نوری مادون قرمز توربو ویو[1] با دمای ۲۰۰°C به مدّت ۲۵ ثانیه استفاده شده است. برای پخت نان به روش سنّتی نمونه‌ها در دمای ۲۰۰°C به مدّت ۲۵ ثانیه در نانوایی نان لواش با دستگاه نیمه اتوماتیک دوّار یکپارچه پخته شد.

خشک و آسیاب کردن نمونه‌ها

نان‌ها را تا رطوبت ٤٪ خشک کرده و سپس با آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شد.

نحوه استخراج نمونه‌های آرد، خمیر، نان

استخراج نمونه‌ها مطابق دستورالعمل کیت RIDASCREEN Aflatoxin Total صورت گرفت. ۲ گرم نمونه را داخل لوله آزمایش ریخته و ۱۰ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد به آن اضافه و به مدّت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۰°C هم‌زده شد. مخلوط حاصل، توسط کاغذ-صافی به‌طور کامل صاف شد، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره صاف شده، با ٦۰۰ میکرولیتر آب‌مقطر رقیق شد.

اندازه‌گیری آفلاتوکسین بر اساس روش ELISA

سطح آلودگی به آفلاتوکسین‌کل (G_2 ,G_1 ,B_2 ,B_1) نمونه‌های آماده شده با کیت RIDASCREEN Aflatoxin Total (ساخت کشور آلمان) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. برای این منظور ۵۰ میکرولیتر از محلول‌های استاندارد و نمونه-های آماده‌سازی شده به کمک سمپلر به حفره‌های میکروپلیت (ول[2]) اضافه شد. برای هر استاندارد و نمونه، سرسمپلر جداگانه استفاده گردید. ۵۰ میکرولیتر محلول کنژوگه آنزیمی و ۵۰ میکرولیتر محلول آنتی-بادی به حفره‌های میکروپلیت اضافه شد و هم‌زده و سپس به مدّت ۳۰ دقیقه به دور از نور و در دمای اتاق انکوبه شد، سپس مایع موجود در میکروپلیت را خارج کرده و با ضربه زدن ملایم به میکروپلیت و قرار دادن آن به شکل وارونه بر روی کاغذهای جاذب رطوبت مایع موجود در حفره‌ها به‌طور کامل تخلیه شد، بعد همه حفره‌ها با ۳۰۰ میکرولیتر بافر مخصوص شستشو، سه بار شسته شده و هر بار، بعد از تخلیه‌ی مایع شستشو، میکروپلیت به‌طور وارونه بر روی چند لایه دستمال کاغذی قرار داده شد تا به‌طور کامل باقی مانده‌ی آب شستشو خارج شود و به این ترتیب، موادی که بعد از این مدّت در واکنش شرکت نکرده بودند، خارج شدند،

[1] -Flavor Wave Oven Turbo

[2]- Wells

سپس ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا به هر حفره افزوده و هم‌زده شد و ۱۵ دقیقه در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شد در نهایت، محلول توقف واکنش به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به حفره‌ها اضافه شده و میزان جذب هر نمونه، در طول موج ٤٥٠ نانومتر خوانده شد واطلاعات مربوط به میزان جذب هر حفره توسط ELISA READER (دستگاه فتومتر در آخرین بخش از تست ELISA به‌طور اختصاصی برای خواندن نمونه‌ها) به تفکیک ثبت شد.

طرح آماری مورد استفاده

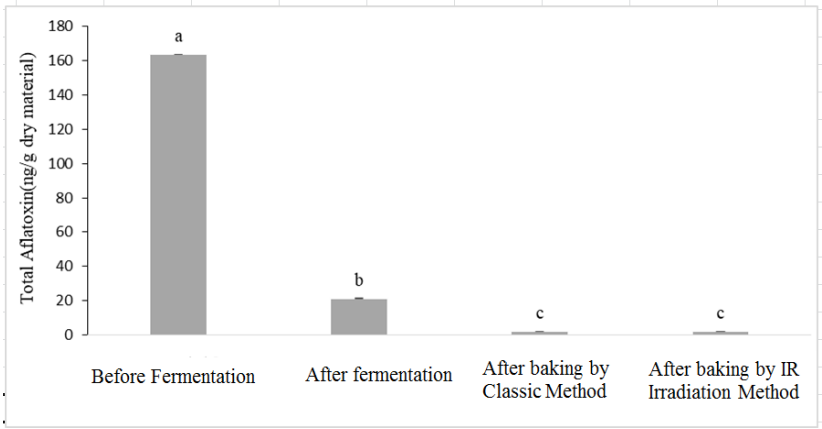
از روش فاکتوریل بر پایه طرح کامل تصادفی و برای مقایسه میانگین‌ها روش دانکن به‌کار گرفته شد. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار MSTATC صورت گرفت.

نتایج و بحث

کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل در طی تخمیر و پخت نان لواش بر حسب ماده خشک

همان‌طوری‌که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد کاهش معنی‌داری در میزان آفلاتوکسین‌کل نان لواش طی مرحله تخمیر در بر حسب ماده خشک مشاهده شده است ولی با توّجه به روش پخت نان لواش با اشعه مادون قرمز و روش سنّتی، کاهش معنی‌داری مشاهده نشد که بیانگر کارایی برابر این دو روش پخت، در کاهش میزان آفلاتوکسین نان لواش می‌باشد.

قابل ذکر است که کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل در مرحله تخمیر برابر ۸۷/۰٤ درصد می‌باشد. کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل بعد از پخت با روش سنّتی ۸۹/۹۵ درصد و با روش مادون قرمز ۹۰/۳۳ درصد می‌باشد. البتّه باید به این نکته توجّه شود که این کاهش فقط مربوط به مرحله بعد از پخت بدون در نظر گرفتن مرحله تخمیر می‌باشد یعنی تقریبا ۹۰ درصد از آفلاتوکسین باقی مانده از مرحله تخمیر، در مرحله پخت کاهش یافته است. همچنین در این پژوهش مشخّص شد که در هر دو روش پخت با اشعه مادون قرمز و روش سنّتی کاهش میزان آفلاتوکسین تفاوت معنی‌داری را در سطح ۹۵٪ نداشته است. از این موضوع می‌توان نتیجه گرفت که کارایی اشعه مادون قرمز نزدیک در کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل با روش سنّتی یکسان می‌باشد.



شکل ۱- کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل در طی تخمیر و پخت نان لواش بر حسب ماده خشک

Figure1- Variation in Total Aflatoxin amounts during fermentation & baking of the Lavash based on dry weight
Different superscripts represent significant difference at P< 0.05.

در توجیه نتایج این پژوهش همانند پژوهش‌های قبلی در فرآیند تخمیر، میزان آفلاتوکسین کاهش یافته است. کاهش ۸۷/۰٤ درصدی میزان آفلاتوکسین به دلیل استفاده از مخمر خشک فوری و زمان و دمای مناسب تخمیر بوده و مخمر *ساکارومیسس‌سرویزیه* با آنزیم-های تجزیه کننده خود مانند استیل ترانسفراز در

ساختار این سم تغییر به‌وجود می‌آورد و از خاصیّت سمّی آن می‌کاهد. همچنین *ساکارومیسس‌سرویسیه* به‌علت حضور عامل باندکننده بتاگلوکان و مانان در دیواره سلولی خود قادر به اتّصال مولکول‌های این سم به دیواره سلولی خود و بی‌حرکت شدن (کلاته کردن) آن می‌شود و میزان آن را کاهش می‌دهد. همچنین مخمر از طریق جذب سطحی آفلاتوکسین‌ها به دیواره سلولی خود، می‌تواند در جذب آن مؤثر باشد که در مرحله پخت نان، در اثر دناتوره شدن پروتئین‌های دیواره سلولی مخمر، سموم جذب شده در سطح سلول مخمر در اثر حرارت تجزیه و تخریب می شوند. (کریمی‌دستجرد و همکاران ۲۰۱۲) که به این ترتیب، تقریبا ۹۰ درصد از آفلاتوکسین باقی مانده از مرحله تخمیر، در مرحله پخت کاهش می یابد. از طرف دیگر، کاهش ۹۰ درصدی آفلاتوکسین با اشعه مادون قرمز نزدیک، به‌دلیل تخریب و باز شدن پیوند دوگانه در انتهای حلقه فوران در ساختمان آفلاتوکسین توسط اشعه می‌باشد که باعث می‌شود خاصیّت سمی آفلاتوکسین از بین برود (لیندن فلسر و کیگلر ۱۹۷۰).

در سال ۲۰۰۷ شتی و همکاران بیان کردند که حرارت‌دهی باعث دناتوره شدن پروتئین‌ها یا تشکیل محصولات واکنش میلارد در دیواره سلولی مخمر شده و یا با انحلال بعضی از مانوپروتئین‌های موجود در دیواره سلولی مخمر، نفوذ پذیری دیواره سلولی را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش دسترسی مکان‌های اتّصال مخفی دیواره سلولی می‌شود.

در پژوهش مشابهی توسط اسکوت در سال ۱۹۹۱ شرایط متفاوت از بین رفتن آفلاتوکسین‌ها مورد بررسی قرار گرفت و نتایج حاصل بیانگر این بوده است که .نزدیک به ۵۰ درصد از آفلاتوکسین‌های B_1, G_1 در طول تخمیر خمیر گندم می‌توانند نابود شوند، که این نتیجه با نتایج این تحقیق که بر مبنای انهدام آفلاتوکسین کل بوده است، تا حدی مطابقت می‌کند.

تأثیر تخمیر بر روی کاهش آفلاتوکسین B_1 در محصولات غذایی خمیری توسط ریدی و همکاران در سال ۲۰۱۰ بررسی شده و نتایج حاصل از پژوهش ایشان نیز نشان داد که حرارت و تخمیر محتوای آفلاتوکسین را کاهش می‌دهد. حداکثر میزان کاهش در نان مشاهده شد. همچنین بررسی اثر تخمیر کاهش قابل توجّهی در مقدار آفلاتوکسین پس از ۲ ساعت تخمیر را نشان داد.

در پژوهش بامیار و همکاران در سال ۱۳۹٤ اثر فرآیند تهیّه نان بر روی تغییرات سطوح آفلاتوکسین خشک (مخلوط B_1, B_2 G_1, G_2) اضافه شده به آرد، بررسی شد. میزان آفلاتوکسین موجود در خمیر در دو مرحله تخمیر اولیّه و تخمیر نهایی توسط مخمرهای خشک فعّال، خشک فوری و مخمر تر اندازه‌گیری شد. بیش‌ترین میزان کاهش آفلاتوکسین در تخمیر اولیّه و مربوط به مخمر خشک فوری بوده است که به دلیل فعّال شدن آنزیم‌ها در طی تخمیر به تنهایی یا در ترکیب با حرارت می‌تواند باعث نابودی آفلاتوکسین‌ها شود. به‌عبارت دیگر در طی پخت احتمال می‌رود که این سم‌های حساس شده در اثر تخمیر با وجود مقاوم به حرارت بودن از بین بروند (بامیار و همکاران ۱۳۹٤) که با نتایج تحقیق حاضر که از مخمر خشک فوری جهت تخمیر نان استفاده شد، نیز مطابقت می‌کند.

در تحقیقی توسط رایس، میزان آفلاتوکسین B_1 در آرد کامل، خمیر و نان بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که در طی تهیّه خمیر میزان سم آفلاتوکسین به شدت کاهش می یابد، که این کاهش در نتیجه فرآیندهای اکسیداتیو یا هیدرولیتیک حاصل شده بود. از بین رفتن آفلاتوکسین‌ها در طول پروسه پخت نان از آرد گندم یا آرد ذرّت محدوده کاهش بین صفر تا ۲۵ درصد را نشان داد که این کاهش در حضور برومات‌ها افزایش یافت (رایس ۱۹۷۸). از طرف دیگر، وجود رطوبت در مواد غذایی باعث افزایش درصد تجزیه و از بین رفتن آفلاتوکسین‌ها در برابر حرارت می‌شود. این کار تحت

تأثیر هیدرولیز حلقه لاکتونی در غلظت‌های مؤثر رطوبت و درجه حرارت انجام می‌گیرد. حضور رطوبت در محیط سبب تحریک واکنش‌های شیمیایی در وقعیّت-های مختلف برخی مایکوتوکسین‌ها شده و در نتیجه سمیّت آن‌ها را تغییر می‌دهد (چراغ‌علی و همکاران ۲۰۰۷).

نتیجه گیری

این بررسی نشان می‌دهد که فرآیند تخمیر در طی پروسه تهیّه نان یکی از مراحل مهّم و تأثیرگذار در کاهش میزان آفلاتوکسین می‌باشد. در این پژوهش کاهش ۸۷/۰٤ درصدی در میزان آفلاتوکسین بعد از مرحله تخمیر مشاهده شد که در مقایسه با پژوهش‌های دیگر، بیش‌ترین میزان کاهش بوده است که دلیل آن استفاده از مخمر خشک فوری و زمان و دمای مناسب تخمیر بوده است.

از بررسی پخت نان به روش سنّتی و اشعه مادون قرمز نزدیک، نتایج یکسانی به دست آمد که بیانگر کارایی یکسان این دو روش حرارتی در کاهش میزان آفلاتوکسین‌کل می‌باشد. چون احتمال آلودگی گندم پیش از برداشت، در طول برداشت و یا انبار کردن به سم آفلاتوکسین وجود دارد که با تخمیر مناسب می‌توان مقدار جزئی و احتمالی آفلاتوکسین در آرد را کاملا از بین برد. با توجّه به این‌که حد مجاز مجموع آفلاتوکسین‌ها در گندم، آرد، نان ۱۵ نانوگرم بر گرم می‌باشد و میزان آفلاتوکسین‌کل بعد از تخمیر به میزان کمتر از ٥ نانوگرم بر گرم کاهش یافته است پس می-توان نتیجه گرفت در بین همه روش‌هایی که برای از بین بردن آفلاتوکسین در غلات کاربرد دارد بهترین و مؤثرترین روش، تخمیر توسط مخمر *ساکارومیسس-سریویسیه* می‌باشد.

منابع مورد استفاده

استاندارد ملّی ایران شماره ۵۸۱۰، ۱۳۸۱، غلات و فرآورده‌های آن، نان لواش، آیین کار تولید.

استاندارد ملّی ایران شماره ۵۹۲۵، ۱۳۸۰، خوراک انسان و دام، بیشینه رواداری مایکوتوکسین‌ها.

بامیار الف، محمدزاده میلانی ج و نظری س ج، ۱۳۹٤. تأثیر انواع مخمر بر میزان آفلاتوکسین B_1 طی فرآیند تهیه نان. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۵ (۳)، ۳٤٦-۳۳۹.

هورفر ع، ۱۳۸۹. تعیین میزان سم آفلاتوکسین (تا حد مجاز) در نان مصرفی و بررسی عوامل رشد آن و ارایه راه‌کارهای مؤثر. مرکز پژوهش‌های غلات، ۸۸۰۰۲ ، ۱۲۹ -۱.

Cheraghali A, Yazdanpanah H, Doraki N, Aboulhossain G, Hassibi M and Aliabadi S, 2007. Incidence of aflatoxin in Iran pistachio nuts. Food Chemistry Toxicology 45(5): 812-816.

Çelik K, Muzaffer Denli M, Savas. Reduction of Toxic 2019. Effects of Aflatoxin B1 by Using Baker Yeast (Saccharomyces cerevisiae) in Growing Broiler Chicks Dietscerevisiae) in Growing Broiler Chicks Diets. Engormix. Technical publication. Mart Univ. Animal Science Dept. 17100 - Çanakkale - Turkey; 2 Çukurova Univ. Animal Science Dept. Adana – Turkey.

Hadizadeh Moalem SH, Gholampour Azizi I and AzarmiM, 2010. Prevalence of aflatoxin B_1 in feedstuffs in northern Iran. Global Veterinary Journal 4: 8-144.

Jakic Dimic D, Nesic K and Petrovic M, 2009. Contamination of cereals with aflatoxins metabolites of fungi *Aspergillus flavus*. Biotechnology in Animal Husbandry 25: 1203-1208.

Jalili M, 2015. A review on aflatoxins reduction in food. Iranian Journal of Health Safety and Environment 3(1): 445-459.

Karimi dastjerd A, Tajabadi Ebrahimi M, Sharifan A and et al, 2012. Binding ability of some Iranian Native *Lactobacillus spp*. to Aflatoxin M_1. Journal Microbial Biotechnology 4: 7-12.

Khosravinia HA and Rahimi Sh, 2006. Effective application of dry bread and bakery waste in poultry and animal feeding. www.inf.

Krishnamurthy K, Jun S, Irudayaraj J and Demirci A, 2011. Infrared radiation heating for food safety improvement in Infrared heating for food and Agricultural processing. NW, Taylor and Francis Group, pp. 225 - 226.

Lindenfelser L.A and Ciegler A, 1970. Studies on aflatoxin ddetoxification shelled corn by ensiling. Journal of Agricultural Food Chemistry 640-643.

Rahaie S, Razavi SH and Emam jomeh Z, 2010. The ability of *Saccharomyces cerevisiae* strain in aflatoxin reduction in pistachio nuts. Journal Food Science and Technology 7: 8-81.

Reiss J, 1987. Mycotoxins in food stuffs. XI: Fate of aflatoxin B_1 during preparation and baking of whole meal wheat bread. Cereal Chemistry 55: 421-423.

Rosenthal I, Rosen B and Bernstein S, 1996. Surface pasteurization of Cottage cheese. Milchwissenschaft 51: 198 – 201.

Scott P M, 1991. Possibilities of reduction or elimination of mycotoxins present in cereal grains, in Chelkowski. Journal Cereal Grain Mycotoxins Fungi and Quality in Drying and Storage Amsterdam London, New York, Tokyo: Elsevier 72- 529.

Seyhun N, Ramaswamy H, Sumnu G, Sahin S and Ahmed J, 2009. Comparison and modeling of microwave tempering and infrared assisted microwave tempering of frozen potato puree. Journal of Food Engineering 92: 339 – 344.

Shetty P H, Hald H and Jespersen L, 2007. Surface binding of aflatoxin B_1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. International Journal of Food Microbiology 113: 41-46.

Shin Y Sh, Sung W, Chang M H and Hwang J Y, 2008. Effect of far Infrared oven on the qualities of bakery products. Journal of Culinary Science and Technology 6: 105-118.

Skjöldebr C and Andersson C, 1989. A comparison of infrared bread baking on conventional baking. Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy 24: 91-101.

Szajewska H, Kolodziej, M. 2015. Systematic review with meta-analysis: Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. Alimentary Pharmacology & Therapeutics. 42 (7): 793–801.

Uma Reddy M, Gulla S and Nagalakshmi AVD, 2010. Effect of fermentation on aflatoxin reduction in selected food products. Food Science Technology and Nutrition 4:93-99.

Umeh S O, Okpalla J, Okafor J N C, 2019. Novel Sources of Saccharomyces Species as Leavening Agent in Bread Making. International Journal of Trend in Scientific Research and Development (IJTSRD) Volume: 3 | Issue: 2. Available Online: www.ijtsrd.com e-ISSN: 2456 – 6470.

Upadhaya S D, Park MA, Ha JK, 2010. Mycotoxins and their biotransformation in the rumen, a review. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences (AJAS) 23: 60-1250.

The effect of fermentation and baking with infrared and traditional methods on the reduction of aflatoxin in lavash bread

V Pashaei[1] and S Hagh Nazari *[2]

Received: February 5, 2018 Accepted: September 29, 2018
[1]MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
[*]Corresponding author: E mail:haghnazari.simin@znu.ac.ir

Introduction: Bread is an important part of the Iranian families' diet. Due to the ease of mold growth, especially *Aspergillus flavus* on raw materials, it is possible to produce aflatoxin from these types of molds on the bread. The production of Mycotoxins in foods and feeds is a problem of major concern in all over the world. So, the most important microbial concern and challenge associated with bread are fungal infections and their toxins such as aflatoxins that include G2, B2, B1, and G1. There are several ways to reduce aflatoxin from foodstuffs including physical methods (cleaning, heating, radiation) chemical methods (chemical compounds, ozone gas) and biological methods (using bacteria, yeasts). Also, various studies have shown that the best and most reliable method for detoxification of contaminated foods with mycotoxins is the use of effective microbial species, such as *Saccharomyces cerevisiae*, which is an essential ingredient in the formulation of breads. *Saccharomyces cerevisiae*, also known as ‘’baker's yeast’’, is one of the most widely commercialized species and one of the effective adsorbent, rich in protein (40-45%), whose biological value is high and is also rich in vitamin B complex. This microorganism is used as active dry yeast in baking, which does not require refrigeration and had a longer shelf-life and better temperature tolerance than fresh yeast that would rise twice as fast, cutting down on baking time. The optimum temperature for growth of S. cerevisiae is 30–35 °C. With the respect that wheat in the silage during storage may be subjected to optimum temperature and humidity, conditions which is favorable for the growth of fungi and aflatoxin production in flour and bread, so S. cerevisiae can be used in baking for detoxification (via surface adsorption) and generating the carbon dioxide by the fermentation which is used as a leavening agent in bread and other baked goods. The leavening step is an essential stage in the fermentation of dough. S. cerevisiae does not only induce and increase the volume of dough through gas incorporation but helps creating the desired flavor and texture. Also, *Saccharomyces cerevisiae* is used as a probiotic in humans and animals. Especially, a strain *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* is industrially manufactured and clinically used as a medication. Investigations confirm that *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii* is effective in reducing the risk of antibiotic- associated diarrhea in children and adults.

So, the aim of this project is to investigate the effect of traditional fermentation, conventional baking and IR baking methods on the rate of aflatoxin reduction in lavash bread.

Material and methods: In this research, the effect of instant yeast of bread was investigated on the reduction of aflatoxin during fermentation of Lavash bread dough at 28 Degree Centigrade for ۱ hour. For this reason, 100 kg of flour with 100 kg of water, 2% salt and 1.5% yeast were mixed for about 5 minutes until became uniform dough, then fermented at $28^{\circ}C$ for 1 hour Afterwards covered with a translucent cloth, and allowed secondary fermentation was occurred for 2 minutes and then followed by baking in the oven for 25 seconds at 200 degree centigrade as Iranian National Standard No. 5 procedure. Besides, the performance of the infrared Turbo wave device was compared to conventional method for reducing the amount of total aflatoxin during the baking of the lavash bread.

Results and discussion: The results showed that the amount of reduced total aflatoxin in the fermented samples was 87.4% compared to the control samples before fermentation. Also, the effect of Lavash bread baking methods by infrared and a traditional manner showed 90.33% and 89.95% on the reduction of the amount of total aflatoxin respectively. It can be interpreted that *Saccharomyces cerevisiae* changes the structure of aflatoxin with its degrading enzymes such as *acetyltransferase* and reduces its toxic properties. Also, due to the presence of beta-glucan and manan as the binding agents in the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae*; it is able to attach these kinds of toxin molecules to its cell wall and block them. Also, yeast can be effective in adsorption the aflatoxins to its cell wall which in the baking stage, due to the denaturation of yeast cell-wall proteins, the absorbed toxins on the yeast cell surface decomposed and destroyed under the heating action.

Conclusion: It can be concluded that fermentation is a necessary stage in the production of breads to create a good quality from the point of good texture, organoleptic concern, extending the shelf life of food product and ensures the safety of the bread and health of consumers. Because fermented bakery product has shown that has not toxins in higher amount than standard limit and Mycotoxins due to fermentation decomposes. On the other hand, baking can also decompose Mycotoxins structures. There are many kinds of baking machines which has different effect on the bread quality. So, new technologies such as infrared radiation helps to rapid heat transmission in baking stage therefore, it may influence on the fast degradation of toxic compounds. In this article in addition of investigation on fermentation effect on decreasing Aflatoxin amount, the conventional method of baking compared with Infra-red baking effect on omitting Aflatoxin compounds. But we found that although the amount of Aflatoxin in irradiated baked bread is lower than conventional baked bread, statistically the effect of baking method with infrared rays and conventional methods has similar effect for the destruction of aflatoxin in bread. Therefore, in spite of other differences between Infrared method and conventional method of baking, they do not differ in their effects on destruction of Mycotoxin among baking stage. As a result, the fermentation process with the active bread yeast function among suitable time and temperature plus baking stage can guarantee the health of bread.

Key Words: aflatoxin, near infrared radiation, fermentation, bread