

بررسی غلظت بنزوات سدیم در دوغ‌های توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان

رویا السادات مدنی^۱، زهرا اسفندیاری^۲، محمد سراجی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: دوغ نوشیدنی تخمیری است که مانند دیگر نوشیدنی‌ها قابلیت فساد میکروبی دارد. نگهدارنده اسید بنزوئیک و نمک آن (بنزوات سدیم) جهت کنترل فساد میکروبی در دوغ مورد استفاده قرار می‌گیرد. این در حالی است که بر اساس ضوابط سازمان غذا و دارو و سازمان ملی استاندارد ایران، استفاده از هر گونه نگهدارنده در شیر و فرآورده‌های لبنی ممنوع اعلام شده است. هدف از انجام پژوهش حاضر، تعیین میزان بنزوات سدیم در دوغ‌های توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان بود.

روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-مقطعی، غلظت بنزوات سدیم در ۳۶ نمونه دوغ تولیدی از سه برند (A، B و C) توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان در سال ۱۳۹۴، با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری در نرم‌افزار SPSS با استفاده از آزمون آماری ANOVA جهت مقایسه میانگین بنزوات سدیم در برندهای مختلف نمونه‌برداری شده دوغ صورت گرفت. در تمامی آزمون‌ها سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: طبق بررسی انجام شده، دوغ تولیدی کارخانه فراورده لبنی با برند C بیشترین میزان بنزوات سدیم ($4/84 \pm 0/55$ ppm) و برند A کمترین محتوای بنزوات سدیم با مقدار ($4/01 \pm 0/11$ ppm) را دارا بود. در همه نمونه‌های دوغ، بنزوات سدیم شناسایی شد. اختلاف معنی‌داری در غلظت بنزوات سدیم اندازه‌گیری شده در سه برند مورد مطالعه مشاهده گردید ($P < 0/001$).

نتیجه‌گیری: مشاهده غلظت پایینی از بنزوات سدیم در همه نمونه‌های دوغ مورد بررسی در مطالعه حاضر، می‌تواند به دلیل تشکیل طبیعی این ترکیب در ماست و انتقال آن به دوغ باشد. همچنین، نظر به فاصله زیاد بنزوات سدیم شناسایی شده در مطالعه حاضر با مقادیر تعیین شده در استاندارد بین‌المللی کدکس برای نوشیدنی‌های تخمیری تا مقدار 300 mg/kg ، تعیین حد مجاز بنزوات سدیم در دوغ بر اساس الگوی تغذیه‌ای بومی پیشنهاد می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دوغ، بنزوات سدیم، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

ارجاع: مدنی رويا السادات، اسفندیاری زهرا، سراجی محمد. بررسی غلظت بنزوات سدیم در دوغ‌های توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۳۹۵؛ ۱۲ (۱): ۵۸-۶۳

پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۹/۲

مقدمه

دوغ یکی از نوشیدنی‌های بومی کشور ایران و برخی ملل دیگر از جمله اروپای شرقی، خاورمیانه، آسیا (افغانستان، آذربایجان، ارمنستان، عراق، سوریه، گرجستان و ترکیه) و جزایر بالکان به شمار می‌آید که مصرف آن پیشینه تاریخی طولانی دارد (۱). بر اساس تعریف استاندارد ملی ایران، دوغ ساده نوشیدنی لاکتیکی حاصل از تخمیر شیر است که ماده خشک آن با رقیق کردن ماست یا شیر در فرایند دوغ‌سازی تنظیم می‌شود (۲). دوغ در ایران در مقیاس گسترده‌ای تولید می‌شود و بر اساس آمار وزارت جهاد کشاورزی، تولید صنعتی این نوشیدنی لبنی رو به افزایش است. بر اساس آخرین آمار گزارش شده از وزارت جهاد کشاورزی، ظرفیت اسمی تولید انواع دوغ در سال ۱۳۸۹ حدود سه میلیون تن بود که نسبت به سال قبل از آن با رشد ۲۹/۱ درصد همراه بوده است. به صورت کلی میزان تولید دوغ ۹ درصد شیر خام دریافتی در کارخانجات تولید فرآورده‌های لبنی می‌باشد (۳). یکی از مشکلات دوغ مشابه دیگر نوشیدنی‌ها، آلودگی ناشی از

فعالیت میکروارگانیسم‌ها است که می‌تواند منجر به فساد و کاهش ایمنی مصرف آن گردد (۴، ۵). بر اساس ویژگی‌های میکروبیولوژی تعریف شده در استاندارد ملی ایران، دوغ باید عاری از هر گونه میکروارگانیسم‌های اشرشیاکلی و استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت باشد. حد مجاز برای میکروارگانیسم‌های کلی فرم و "کپک و مخمر" به ترتیب ۱۰ و ۱۰۰ واحد تشکیل دهنده کلنی (Colony forming unit یا CFU) در هر گرم است (۲). این در حالی است که گزارشاتی از آلودگی دوغ به میکروارگانیسم‌های مختلف، فراتر از حد مجاز تعریف شده در استاندارد ملی ایران منتشر شده است (۶-۹). کیفیت شیر خام، کفایت تیمار حرارتی، کیفیت میکروبی اجزای افزوده شده و مواد بسته‌بندی، سطوح در تماس با دوغ و کفایت ضدعفونی کارخانه‌های تولید کننده فرآورده‌های لبنی به عنوان نقاط اصلی آلاینده فرآورده نهایی دوغ معرفی شده است (۶). کنترل نقاط مذکور با تضمین کیفیت مستمر و دانش فنی روزآمد، نیاز به پیاده‌سازی واقعی سیستم‌های مدیریتی مانند HACCP، ISO22000،

۱- دانشجوی کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرضا، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرضا، ایران

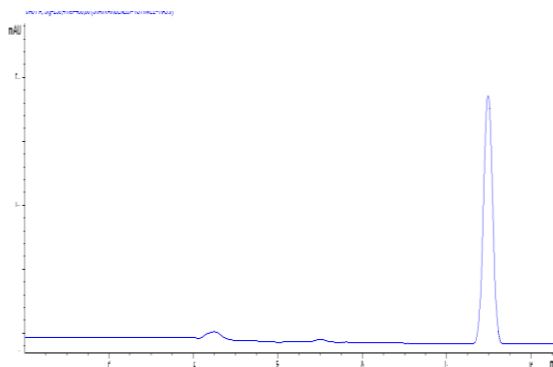
۲- دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی، واحد تحقیق و توسعه، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استاد، گروه شیمی، دانشکده شیمی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

نویسنده مسؤول: زهرا اسفندیاری

Email: research_esfandary@mui.ac.ir

ستون C₁₈ دارای طول ۱۵ cm، قطر داخلی ۳ mm و قطر ذرات ساکن ۳ μm صورت پذیرفت. استاندارد بنزوات سدیم و مواد شیمیایی مانند متانول، استات آمونیوم و اسید هیدروکلریدریک از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شد. به منظور استخراج بنزوات سدیم از نمونه‌های دوغ و آماده‌سازی آن‌ها جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، ۳ ml از دوغ به بالن ژوژه ۱۰ ml انتقال یافت. سپس، متانول به مقدار ۲ ml به آن افزوده شد. پس از انحلال کامل، نمونه با متانول به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه به مدت ۵ دقیقه اولتراسونیک و سپس، در دمای ۵۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه نگهداری گردید و پس از آن در شرایط ۴۰۰۰ دور در دقیقه به مدت چهار دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برداشته شد و در بالن ۵ ml با متانول به حجم رسانده شد. نمونه‌ها در حجم ۲۰ μl و در دمای اتاق به دستگاه تزریق شدند. محلول استاندارد مادر با غلظت ۱۰۰۰ ppm از انحلال بنزوات سدیم با آب مقطر دیونیزه تهیه شده از سیستم تصفیه آب Overseas equipment and services (کشور آمریکا) آماده‌سازی گردید. استاندارد ۱۰۰ ppm به عنوان استاندارد ثانویه با رقیق‌سازی استاندارد مادر تهیه و با استفاده از این استاندارد، استانداردهای کاری با غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰ و ۵۰ ppm جهت رسم منحنی استاندارد آماده‌سازی شد. بنزوات سدیم در نمونه‌های دوغ در تزریقی به مدت ۱۱ دقیقه و در طول موج ۲۳۰ nm، به کمک فاز متحرک متشکل از ۴۰ درصد متانول و ۶۰ درصد محلول بافر استات و شدت جریان فاز متحرک معادل ۰/۴ میلی‌لیتر بر دقیقه و دمای ستون در دمای ۲۵ درجه سلسیوس (دمای اتاق) جداسازی و شناسایی گردید. بافر استات از حل کردن ۵۷۸/۲۵ mg آمونیوم استات در ۳۰۰ ml آب مقطر دیونیزه و تنظیم pH آن تا ۴/۵ با محلول اسید هیدروکلریک ۳۷ درصد آماده‌سازی گردید (۲۳). جهت تعیین کمیت، ابتدا منحنی کالیبراسیون رسم شد و معادله خط آن به دست آمد. در نهایت، با استفاده از مساحت سطح زیر پیک به دست آمده از جزء مورد نظر و معادله خط منحنی کالیبراسیون، غلظت ترکیب محاسبه شد. پارامترهای تجزیه‌ای مورد بررسی در تحقیق حاضر، فاکتورهای خطی بودن، بازیافت، کمترین حد تشخیص روش و تکرارپذیری بود. بررسی خطی بودن و رسم منحنی کالیبراسیون، با استفاده از استانداردهای کاری در سه نقطه در محدوده مورد آزمایش بنزوات سدیم ۵۰-۱ ppm با ضریب همبستگی بالاتر از ۰/۹۹۹ صورت گرفت و سپس، غلظت نمونه‌ها با استفاده از آن محاسبه گردید. در شکل ۱ کروماتوگرامی از استاندارد ۱ ppm بنزوات سدیم ارائه شده است.



شکل ۱. کروماتوگرام محلول استاندارد بنزوات سدیم با غلظت ۱ ppm با زمان بازداری ۱۱ دقیقه

ISO22001، ISO22002، ISO22003، ISO22004 و ISO22005 دارد. استقرار چنین سیستم‌هایی اجباری نیست و با توجه به هزینه‌های اقتصادی که دارد، ممکن است تولید کنندگان فرآورده‌های غذایی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی متقاضی دریافت این گواهی‌نامه‌ها نباشند (۱۰). به همین دلیل احتمال دارد که کارخانجات فرآورده لبنی جهت حل مشکل تغییر عطر، طعم و باکتریدگی دوغ به واسطه فعالیت میکروارگانیسم‌ها و افزایش زمان ماندگاری و بازاریابندی محصول، از نگهدارنده‌ها استفاده کنند (۱۱، ۶). یکی از رایج‌ترین ترکیبات نگهدارنده در تولید دوغ که در گزارشات مختلفی در ایران به آن اشاره شده است، اسید بنزوئیک و نمک آن بنزوات سدیم می‌باشد (۱۵-۱۱). بنزوات سدیم با فرمول شیمیایی C₇H₅O₂Na، یک بلور بی‌رنگ محلول در آب با شماره تجارتي E211 است و از ترکیب هیدروکسید سدیم و اسید بنزوئیک E210 تولید می‌شود. اثر نگهدارندگی و مهارکنندگی این ماده شیمیایی وابسته به pH می‌باشد و در محیط اسیدی خاصیت خود را بهتر نشان می‌دهد. اسید بنزوئیک و نمک آن به صورت گسترده‌ای جهت حذف یا کاهش فعالیت کبک و مخمر و تا حد کمتری باکتری‌ها به کار می‌رود. تأثیر اسید بنزوئیک با کاهش pH درون سلولی، اختلال در عملکرد غشا و ایجاد مشکل در تبادل مواد مورد نیاز حیات میکروارگانیسم، مهار آنزیم سیکل سترات و فسفریلاسیون اکسیداتیو صورت می‌گیرد (۱۶). بر اساس استاندارد بین‌المللی کدکس، استفاده از بنزوات سدیم در نوشیدنی‌های تخمیری تولید شده از شیر تا مقدار ۳۰۰ mg/kg مجاز شناخته شده است (۱۷). بر اساس قوانین کشور ایران، این نگهدارنده جهت افزودن به دوغ به دلیل نامشخص بودن دریافت روزانه آن از چند منبع غذایی، احتمال بیشتری گرفتن از مقدار مصوب ۵ mg/kg وزن بدن به عنوان حد دریافت مجاز پذیرش روزانه (Acceptable daily intake یا ADI) و ایجاد عوارض جانبی نامطلوب بر سلامت مصرف کنندگان ممنوع اعلام شده است و در صورت شناسایی این ترکیب، پروانه ساخت فرآورده دوغ در حالت تعلیق قرار می‌گیرد و تولید کنندگان این محصول، باید جریمه نقدی پرداخت نمایند. در واقع این وضعیت به عنوان تقلب غذایی شناخته می‌شود (۲۲-۱۸، ۱۲). مطالعه‌ای در خصوص اندازه‌گیری بنزوات سدیم در دوغ در شهر اصفهان در سال ۱۳۹۲ صورت گرفت (۱۱)، اما نظر به اهمیت پایش و نظارت مستمر این نگهدارنده در محصول دوغ برای ارگان‌های نظارتی مانند سازمان غذا و دارو و مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و نیاز به انتشار اطلاعات مربوطه در منابع علمی، مطالعه دیگری با هدف، تعیین میزان بنزوات سدیم با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا در دوغ‌های توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان، مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها

در پژوهش توصیفی-مقطعی حاضر، ۳۶ نمونه دوغ گرمادیده بدون گاز تولید شده از سه برند A، B و C (هر یک دوازده نمونه) و توزیع شده در سطح عرضه شهر اصفهان در سال ۱۳۹۴ جمع‌آوری و به آزمایشگاه دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل گردید. در این مطالعه جهت اندازه‌گیری بنزوات سدیم در دوغ، از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا ساخت شرکت Hewlett-Packard آمریکا (Hewlett-Packard 1090-II liquid, America) مجهز به پمپ چهار حلاله، انژکتور Rheodyne ۷۱۲۵i و آشکارساز DAD (Diode Array Detector) استفاده شد (۲۳). جداسازی بنزوات سدیم در

سدیم در تمام دوغ‌های مورد بررسی در چهار برند مختلف توزیع شده در شهر ساری به دست آمد. میانگین مقداری گزارش شده در برندهای مختلف ۱۹/۴، ۲۰، ۲۱/۵ و ۲۲ mg/kg گزارش گردید (۱۵). در مطالعات فوق‌الذکر بنزوات سدیم در کلیه نمونه‌های ایران و دوغ شناسایی شده است (۲۵، ۱۵، ۱۴، ۱۱). بررسی متون نشان می‌دهد که اسید بنزوئیک و نمک آن ترکیباتی هستند که امکان تولید آن‌ها به صورت طبیعی در شیر و فرآورده‌های لبنی با پایه تخمیری، با مسیرهای مختلف از جمله تبدیل اسید هیپوریک طبیعی موجود در شیر به اسید بنزوئیک، تجزیه فنیل آلانین و ترکیب آن با بتانفیل پروپیونیک اسید و اسید سینامیک و یا اتوکسیداسیون بنزالدئید توسط سویه‌های خاص باکتری اسید لاکتیک امکان‌پذیر است (۳۱-۲۶).

نتایج بررسی حاضر عدم تطابق با دیگر مطالعات صورت گرفته، در ارتباط با عدم وجود بنزوات سدیم در کلیه نمونه‌های دوغ و ایران را دارد (۳۳، ۳۲، ۱۳، ۱۲). اکبری ادراگانی و همکاران نتیجه‌گیری کردند که مقدار بنزوات سدیم در ۲۹/۵ درصد از ۲۷ نمونه دوغ توزیع شده در سطح عرضه شهر تهران از استاندارد ملی ایران بیشتر بوده است. مقدار این نگهدارنده در مطالعه فوق mg/kg ۱۸/۳-۲۳۴۵/۱ گزارش گردید (۱۳). وصال و همکاران ۶۰ نمونه دوغ بدون گاز توزیع شده در سطح عرضه تهران در فصل تابستان را بررسی نمودند. بیشترین و کمترین غلظت بنزوات سدیم به ترتیب ۴۹/۳ و ۴/۶ mg/kg اندازه‌گیری شد. همچنین، مشخص شد که ۱۰ تا ۱۴ درصد از دوغ‌های نمونه برداری شده در فصل تابستان فاقد بنزوات سدیم بوده‌اند (۱۲). از جمله دلایل احتمالی تفاوت نتایج به دست در مطالعات صورت گرفته و همچنین، وجود اختلاف معنی‌دار در بین نمونه‌های دوغ مورد بررسی از برندهای مختلف تولیدی در مطالعه حاضر در ارتباط با مقدار بنزوات سدیم، می‌توان به عواملی مانند تعداد نمونه‌ها، کیفیت میکروبی شیر، فصل شیردهی، نوع استراتر به کار رفته در تولید ماست، شرایط بهداشتی در خط فرآوری دوغ و روش شناسایی بنزوات سدیم ذکر کرد که در مطالعات دیگر نیز به آن‌ها اشاره شده است (۳۶-۳۴، ۲۹، ۲۸، ۲۶).

به صورت کلی مقدار پایین بنزوات سدیم در بررسی حاضر می‌تواند نشان دهنده امکان تشکیل طبیعی اسید بنزوئیک در ماست به عنوان ماده اولیه دوغ و انتقال آن به این نوشیدنی باشد. همچنین، نظر به مقدار پایین بنزوات سدیم در دوغ که تفاوت زیادی با استاندارد بین‌المللی کدکس (۳۰۰ mg/kg) دارد، حد مجازی از این نگهدارنده در فرآورده لبنی دوغ توصیه می‌شود. این پژوهش با تعیین مقدار تشکیل شده طبیعی از اسید بنزوئیک در ماست در حال پیگیری است تا بتوان حد پذیرش این نگهدارنده را در دوغ تعریف نمود.

نتیجه‌گیری

وجود بنزوات سدیم در کلیه نمونه‌های دوغ مورد بررسی در مطالعه حاضر در مقدار کم، می‌تواند به دلیل تشکیل طبیعی این ترکیب در شیر یا فرآورده‌های لبنی باشد. با توجه به مجاز شناخته شدن بنزوات سدیم در استاندارد بین‌المللی کدکس برای نوشیدنی‌های تخمیری شیر، تعیین حد مجاز این نگهدارنده در دوغ بر اساس الگوی تغذیه‌ای بومی در اصفهان یا کشور ما ایران پیشنهاد می‌شود.

باز یافت به نسبت مقدار به دست آمده، پس از آنالیز برای هر یک از آنالیت‌ها در نمونه غنی شده (نمونه‌ای است که به آن مقدار مشخصی از محلول استاندارد مورد نظر به صورت دستی اضافه شده باشد)، به میزان قابل انتظار آن‌ها گفته می‌شود (۲۴). مقادیر باز یافت در مطالعه حاضر بیش از ۹۲ درصد محاسبه گردید. حد تشخیص روش به صحت و دقت قابل اندازه‌گیری گفته می‌شود و مفهوم ریاضی آن میانگین سیگنال ایجاد شده توسط نمونه شاهد به علاوه ۳ برابر انحراف معیار است (۲۴). حد تشخیص در مطالعه فوق برابر با ۰/۵ mg/l بود. درصد انحراف معیار نسبی بین ۰/۱۹۹ تا ۶/۵۰۵ بود که نشان دهنده تکرارپذیری خوب دستگاه است. اطلاعات به دست آمده از مقدار بنزوات سدیم در نمونه‌های دوغ، در نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و با استفاده از آزمون‌های توصیفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. از آزمون ANOVA برای مقایسه میانگین بنزوات سدیم در برندهای مختلف نمونه‌برداری شده دوغ و از آزمون Duncan برای تعیین میزان تفاوت‌ها بین میانگین نتایج استفاده گردید. در تمامی آزمون‌ها سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۱ میانگین بنزوات سدیم در نمونه‌های دوغ نشان داده شده است. طبق این جدول میزان بنزوات سدیم در دوغ تولیدی در کارخانه فرآورده لبنی برند C بیشترین (۴/۵۵ ppm) و برند A کمترین (۰/۱۱ ppm) بود.

جدول ۱. میانگین بنزوات سدیم (ppm) در ۱۲ نمونه دوغ مورد آزمون از برندهای A، B و C

برند خریداری شده	فاصله غلظت یافت شده	میانگین \pm انحراف معیار
A	۳/۹-۴/۲	۴/۰۳ \pm ۰/۱۱*
B	۳/۰-۵/۲	۴/۳۵ \pm ۰/۶۰*
C	۴/۰-۵/۶	۴/۸۴ \pm ۰/۵۵**

** اختلاف معنی‌دار در میانگین مقدار بنزوات سدیم در دوغ‌های تأمین شده از برندهای A و B با برند C وجود دارد.

بحث

مطالعه حاضر نشان دهنده وجود مقادیر ناچیز از بنزوات سدیم در محدوده ppm ۳-۵/۶ در تمام نمونه‌های دوغ می‌باشد. این موضوع تأیید کننده مطالعات قبلی صورت گرفته در ترکیه و ایران است (۲۵، ۱۱). بررسی نتایج به دست آمده از مطالعه صورت گرفته در کشور ترکیه نیز، نشان از مقدار پایین اسید بنزوئیک در تمام نمونه‌های ایران (Ayran) (عنوان محصول دوغ در ترکیه) در حدود mg/l ۱۶/۵۴-۱/۵۴ داشت (۲۵). همچنین، در مطالعه قبلی صورت گرفته در ایران، مقدار بنزوات سدیم در نمونه‌های دوغ تولید شده در استان اصفهان، mg/l ۹/۷۷-۰/۹۴ گزارش گردید (۱۱). مقدار بنزوات سدیم در نمونه‌های مطالعه حاضر، کمتر از دو مطالعه صورت گرفته دیگر در تهران (۱۴) و ساری (۱۵) می‌باشد. در مطالعه‌ای در تهران روی ۱۳۰ نمونه دوغ، میانگین بنزوات سدیم ۲۱/۳ mg/kg بود و این نگهدارنده در کلیه نمونه‌های مورد بررسی شناسایی گردید (۱۴). علاوه بر این، یافته‌های مشابهی مبنی بر وجود بنزوات

اصفهان که در انجام پژوهش حاضر نهایت همکاری را نمودند، تشکر و قدردانی می‌نمایند.

بدین وسیله نویسندگان مقاله از مسؤولان دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی

References

- Ehtiati A, Shahidi F, Mohebi M, Yavarmanesh M. Evaluation of WPC and EPS producing starter cultures effect on some physical properties of doogh. *Iran J Nutr Sci Food Technol* 2013; 9(4): 295-303. [In Persian].
- Iranian National Standard Organization. Doogh-Specification and test method. No. 2453 [Online]. [cited 2008]; Available from: URL: <http://www.isiri.org/portal/files/std/2453.pdf> [In Persian].
- Najafi P, Asadollahi M. Examination of the production content of milk and dairy products in Iran [Report]. Tehran, Iran: Agri-Jahad Report; 2010. p. 22-3. [In Persian].
- Sospedra I, Rubert J, Soriano JM, Manes J. Incidence of microorganisms from fresh orange juice processed by squeezing machines. *Food Control* 2012; 23(1): 282-5.
- Elvira L, Duran CM, Urrejola J, Montero de Espinosa FR. Detection of microbial contamination in fruit juices using non-invasive ultrasound. *Food Control* 2014; 40: 145-50.
- Mehraban Sangatash M, Sarabi Jamab M, Nourbakhsh R, Gholasi F, Vosough AS, Mohsenzadeh M. Evaluation of microbiological contamination sources on swelling of Iranian yoghurt drink during production processes. *Journal of Food Research* 2011; 21(1): 45-56. [In Persian].
- Sadeghi Sarvestani V, Hosseinzadeh S, Poormontaseri M, Fazeli M. Monitoring various types of clostridium botulinum in four kinds of food stuff using multiples PCR. *J Fasa Univ Med Sci* 2014; 3(4): 380-6. [In Persian].
- Fallahi F, Madani M. Study of contamination of different dairy products distributed in Isfahan to saprophytic fungi. *Biological Journal of Microorganism* 2014; 3(11): 59-70. [In Persian].
- Farajvand N, Alimohammadi M. Prevalence of staphylococcus aureus in four famous brand of Doogh produced in Iran. *Iran J Health Environ* 2014; 7(1): 85-94. [In Persian].
- Payan R. Principles of the hygiene and safety in the food industry. 2nd ed. Tehran, Iran: Aeejh Publication; 2011. p. 237-62. [In Persian].
- Esfandiari Z, Badiy M, Mahmoodian P, Sarhangpour R, Yazdani E, Mirlohi M. Simultaneous determination of sodium benzoate, potassium sorbate and natamycin content in Iranian yoghurt drink (Doogh) and the associated risk of their intake through Doogh consumption. *Iran J Public Health* 2013; 42(8): 915-20.
- Vesal H, Mortazavian AM, Mohammadi AR, Esmaeili S. Potassium sorbate and sodium benzoate levels in doogh samples consumed by the Tehran market measured using high performance liquid chromatography. *Iran J Nutr Sci Food Technol* 2013; 8(2): 181-90. [In Persian].
- Akbari-Adergani B, Eskandari S, Bahremand N. Determination of sodium benzoate and potassium sorbate in "Doogh" samples in post market surveillance in Iran 2012. *J Chem Health Risk* 2013; 3(1): 65-71.
- Zamani MF, Esmaeili AF, Moradi-Khatoonabadi Z, Shaneshin M, Torabi P, Shams Ardekani MR, et al. Sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in Iranian doogh. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2014; 7(2): 115-9.
- Amirpour M, Arman A, Yolmeh A, Akbari AM, Moradi-Khatoonabadi Z. Sodium benzoate and potassium sorbate preservatives in food stuffs in Iran. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2015; 8(2): 142-8.
- Belitz HD, Grosch W. Food chemistry. 2nd ed. Berlin, Germany: Springer Verlag; 1987.
- Codex standard for fermented milks [Online]. [cited 2003]; Available from: URL: http://www.fao.org/input/download/standards/400/CXS_243e.pdf
- Nair B. Final report on the safety assessment of Benzyl Alcohol, Benzoic Acid, and Sodium Benzoate. *Int J Toxicol* 2001; 20(Suppl 3): 23-50.
- McCann D, Barrett A, Cooper A, Crumpler D, Dalen L, Grimshaw K, et al. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: A randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007; 370(9598): 1560-7.
- Yilmaz S, Unal F, Yuzbasioglu D. The in vitro genotoxicity of benzoic acid in human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology* 2009; 60(1-3): 55.
- Ciardi C, Jenny M, Tschoner A, Ueberall F, Patsch J, Pedrini M, et al. Food additives such as sodium sulphite, sodium benzoate and curcumin inhibit leptin release in lipopolysaccharide-treated murine adipocytes in vitro. *Br J Nutr* 2012; 107(6): 826-33.
- Beezhold BL, Johnston CS, Nocht KA. Sodium benzoate-rich beverage consumption is associated with increased reporting of ADHD symptoms in college students: a pilot investigation. *J Atten Disord* 2014; 18(3): 236-41.
- Guarino C, Fuselli F, Mantia AL, Longo L. Development of an RP-HPLC method for the simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, natamycin and lysozyme in hard and pasta filata cheeses. *Food Chem* 2011; 127(3): 1294-9.
- Iranian National Standard Organization. Milk and milk products-determination of aflatoxin M1 by HPLC method and immunoaffinity column clean up-Test method. No. 7133 [Online]. [cited 2012]; Available from: URL: <http://isiri.org/Portal/file/?44712/7133.pdf> [In Persian].
- Yildiz A, Erdogan S, Saydut A, Hamamci C. High-performance liquid chromatography analysis and assessment of benzoic

- acid in yogurt, Ayran, and cheese in Turkey. *Food Anal Methods* 2011; 5(3): 591-5.
26. Sieber R, Butikofer U, Bosset JO. Benzoic acid as a natural compound in cultured dairy products and cheese. *International Dairy Journal* 1995; 5(3): 227-46.
 27. Urbiene S, Leskauskaite D. Formation of some organic acids during fermentation of milk. *Polish J Food Nutr Sci* 2006; 15(3): 277-81.
 28. Qi P, Hong H, Liang X, Liu D. Assessment of benzoic acid levels in milk in China. *Food Control* 2009; 20(4): 414-8.
 29. Javanmardi F, Nemati M, Ansarin M, Arefhosseini SR. Benzoic and sorbic acid in soft drink, milk, ketchup sauce and bread by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2015; 8(1): 32-9.
 30. Mroueh M, Issa D, Khawand J, Haraty B, Malek A, Kassaify Z, et al. Levels of benzoic and sorbic acid preservatives in commercially produced yoghurt in Lebanon. *J Food, Agri Environ* 2008; 6(1): 62-6.
 31. Iammarino M, Di TA, Palermo C, Muscarella M. Survey of benzoic acid in cheeses: contribution to the estimation of an admissible maximum limit. *Food Addit Contam Part B Surveill* 2011; 4(4): 231-7.
 32. Kucukcetin A, SIK B, Demir M. Determinaiton of sodium benzoate, potassium sorbate, nitrate and nitrite in some dairy products. *Gida* 2008; 33: 159-64.
 33. Koyuncu N, Uylaser V. Benzoic acid and sorbic acid levels in some dairy products consumed in Turkey. *Asian J Chem* 2009; 21(6): 4901-8.
 34. Garmiene G, Salomskiene J, Jasutiene I, Macioniene I, Miliauskiene I. Production of benzoic acid by lactic acid bacteria from *Lactobacillus*, *Lactococcus* and *Streptococcus* genera in milk. *Milchwissenschaft* 2010; 65(3): 295-8.
 35. Hornickova S, Dragounova H, Hejtmankova K, Michlov T, Hejtmankova A. Production of benzoic acid in fermented goat's and sheep's milk. *Scientia Agriculturae Bohemica* 2014; 45(4): 247-53.
 36. Esfandiari Z, Badiy M, Maracy MR, Sarhangpour R, Yazdani E, Mahomoodian P. Examination of natamycin content in iranian yoghurt drink (Doogh) produced in dairy processing plants in Isfahan, Iran. *J Health Syst Res* 2013; 9(13): 1585-94. [In Persian].

Assessment of Sodium Benzoate Concentration in Doogh Distributed in Isfahan, IranRoya Alsadat Madani¹, Zahra Esfandiari², Mohammad Saraji³**Original Article****Abstract**

Background: Doogh is a fermented beverage in which microbial spoilage is possible. Benzoic acid and its salt (sodium benzoate) are added to Doogh as antimicrobial preservative to control microbial spoilage. However, the use of this preservative has been prohibited in milk and dairy products such as Food and Drug Administration and Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Thus, the aim of the present study was to determine sodium benzoate concentration in Doogh distributed in Isfahan, Iran.

Methods: In this descriptive, cross-sectional study, the sodium benzoate concentration of 36 samples of 3 brands of Doogh (A, B, and C) distributed in Isfahan in 2015 were assessed using high performance liquid chromatography (HPLC). Collected data were analyzed using ANOVA in SPSS software. All P values of smaller than or equal to 0.05 were considered significant.

Findings: Results showed that the highest and lowest concentrations of sodium benzoate were found in brand C and A Doogh with amounts of 4.84 ± 0.55 and 4.03 ± 0.11 ppm, respectively. Sodium benzoate was detected in all Doogh samples. A significant difference was observed in sodium benzoate concentration between the 3 different dairy brands ($P < 0.001$).

Conclusion: The existence of low concentrations of sodium benzoate in all Doogh samples may be due to the natural occurrence of this compound in yoghurt and its transfer to Doogh. Furthermore, due to the great difference of the detected sodium benzoate in the current study with the permitted amount in Codex International Standard for Fermented Drinks (300 mg/kg), it is suggested to define the permitted level of sodium benzoate in Doogh based on national nutritional pattern.

Keywords: Doogh, Sodium benzoate, High performance liquid chromatography (HPLC)

Citation: Madani RS, Esfandiari Z, Saraji M. Assessment of Sodium Benzoate Concentration in Doogh Distributed in Isfahan, Iran. J Health Syst Res 2016; 12(1): 58-63.

1- MSc Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shahreza Branch, Shahreza, Iran

2- Department of Research and Development, Department of Food and Drug, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan Iran

3- Professor, Department of Chemistry, School of Chemistry, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Corresponding Author: Zahra Esfandiari, Email: research_esfandiari@mui.ac.ir