جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی نحوه اندازه‌گیری آکریل‌آمید در نان‌های مسطح سنتی شهرستان کرمان به روش SPE-GC/FID

محمد مهدی متقی[a*]، مسعود هنرور[b]، سیدمهدی سیدین اردبیلی[b]، میترا مهربانی[c]

[a] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرمان، گروه شیمی، کرمان
[b] استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، تهران
[c] دانشیار دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده داروسازی، گروه فارماکوگنوزی، کرمان

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۶/۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۶/۲۶

چکیده

مقدمه: آکریل‌آمید یک ترکیب سرطان‌زا می‌باشد که در دسته مشخصی از غذاها که فرایند حرارتی را سپری کرده‌اند بوجود می‌آید. این تحقیق با هدف اندازه‌گیری و مقایسه میزان آکریل‌آمید در انواع نان‌های سنتی پخت شده در شهرستان کرمان با استفاده از روش ارزان قیمت و در دسترس GC- FID انجام گردید.

مواد و روش ها: برای تهیه هر نمونه نان به تفکیک، از چهار نوع نان تافتون، سنگک، لواش و بربری به طریق نمونه‌برداری تصادفی طبقه‌ای از نوع میدانی و با مراجعه به مناطق تعیین شده و بسته به جمعیت نانوایی‌ها نمونه‌برداری انجام شد و به منظور استخراج و اندازه‌گیری مقدار آکریل‌آمید از کارتریج استخراج فاز جامد "Oasis HLB" و بکارگیری دستگاه GC- FID مجهز به ستون قطبی DB-FFAP استفاده گردید.

یافته‌ها: با توجه به نتایج بدست آمده غلظت آکریل‌آمید در هر یک از نمونه نان‌های تافتون، سنگک، لواش و بربری به ترتیب ۱۴۱، ۱۰۱، غیرقابل اندازه‌گیری (بسیار ناچیز) و ۱۲۷ نانوگرم بر گرم (ppb) محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: استخراج فاز جامد، روش بسیار مناسبی برای آماده‌سازی نمونه است، که آنالیت را به وسیله جذب روی فاز جامد، از محلول مورد نظر جداسازی و تغلیظ می‌نماید. با استفاده از تکنیک SPE و بکارگیری ستون‌های قطبی در دستگاه گازکروماتوگراف با آشکارساز یونش شعله‌ای در حالت Splitless می‌توان آکریل آمید را تا حد ۵۰ نانوگرم بر گرم در مواد غذایی اندازه‌گیری کرد.

واژه‌های کلیدی: *آشکارساز یونش شعله، آکریل‌آمید، استخراج فاز جامد، کروماتوگرافی گازی، نان سنتی*

* نویسنده مسئول مکاتبات
email: motaghi.mehdi@gmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

نان‌های سنتی ایران که در مقایسه با نان‌های حجیم باید آنها را نازک و مسطح نامید، از قدیم در شهرها و روستاهای ایران به شکل‌های مختلف تهیه و مصرف می‌شده‌اند و هنوز هم در الگوی تغذیه اکثریت مردم به ویژه قشر کم درآمد جامعه نقش قابل توجهی دارند. در ایران حدود ۶۰٪ پروتئین و انرژی مورد نیاز روزانه از نان تأمین می‌شود (ایزدبار و همکاران، ۱۳۷۲)، لذا با توجه به اهمیت و جایگاه نان که یکی از ارزان‌ترین و مهمترین موادغذایی مورد استفاده انسان می‌باشد، ضرورت برنامه‌ریزی پیرامون کیفیت و سلامت آن بیش از پیش احساس می‌شود (میرفخرایی، ۱۳۷۲).

کیفیت نان به عوامل مختلف از جمله نوع گندم، شیوه پخت، نوع نان، روش عمل‌آوری و ... بستگی دارد (اصغرزاده،۱۳۸۳). یکی از موادی که در اثر شرایط نامطلوب پخت و با توجه به نوع نان در این فرآورده تشکیل می‌شود آکریل‌آمید می‌باشد (Ahrne *et al.*,2007; Brathen & Knutsen, 2005). آکریل‌آمید از سال ۱۹۹۴ براساس طبقه‌بندی آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC[1]) به عنوان عامل محتمل سرطان‌زا در انسان (Class 2A) شناخته شد (IARC, 1994). سپس برای اولین بار در سال ۲۰۰۲ سازمان ملی غذا در سوئد[2] و دانشگاه استکهلم[3] گزارش کردند که مقادیر قابل توجهی از آکریل‌آمید در مواد غذایی بر پایه نشاسته مانند چیپس، سیب زمینی سرخ شده و بیسکویت یافت گردیده است (SNFA, 2002; Tareke *et al.*, 2002). آکریل‌آمید در بدن به گلایسیدآمید متابولیزه می‌شود که ترکیبی فعال بوده و از اِپواکسیداسیون باند دوگانه در ساختمان آکریل‌آمید تولید می‌شود (Lingnert *et al.*, 2002). مطالعاتی که بر روی عوارض و سمیت ناشی از مواجهه با آکریل‌آمید صورت گرفته‌است نشان دادند که مواجهه طولانی مدت با آکریل‌آمید می‌تواند منجر به آسیب وارد کردن به سیستم عصبی در حیوان و انسان شود (Doerge *et al.*, 2005; Lopachin, 2004).

بر اساس آنچه گفته شد موسسات بین‌المللی، فعالان حوزه سلامت و مواد غذایی و محققین به این نتیجه رسیدند که درک دقیق و کامل فرآیندهای منجر به تولید آکریل‌آمید و مطالعه راه‌های جلوگیری از تولید آکریل‌آمید در فرآورده‌های غذایی در کنار بهبود روش‌های اندازه‌گیری این ترکیب از اهمیت فراوانی برخوردار است. تاکنون در ایران تحقیقات قابل توجهی در خصوص اندازه‌گیری میزان آکریل‌آمید در فرآورده‌های غلات صورت نپذیرفته و یا گزارشی در این خصوص ثبت نشده است. در سال ۲۰۰۵ «کمیته مشترک سازمان خواربار جهانی و سازمان بهداشت جهانی برای افزودنیهای مواد غذایی»[4] گزارشی مبنی بر میزان متوسط حضور آکریل‌آمید در غلات و مواد غذایی بر پایه غلات در کشورهای اروپایی منتشر کرد. در انواع نان متوسط محتوای آکریل‌آمید ۴۴۶، در انواع شیرینی، کلوچه و کیک ۳۵۰ و در غلات صبحانه ۹۶ میکروگرم بر کیلوگرم گزارش شده‌است (JECFA, 2005).

مواد و روش ها

- مواد شیمیایی و دستگاه ها

استاندارد آکریل‌آمید، متانل، کلرید سدیم، اسید فرمیک، n- هگزان، با خلوص بالا (extra pure) از شرکت مرک (Merck) آلمان تهیه گردید. آب بدون یون (Ultra Pure Water) با استفاده از دستگاه MilliQ ، Millipore ، USA از آب دوبار تقطیر تهیه شد. کارتریج SPE از نوع (Oasis HLB, 3ml/60mg) محصول شرکت Waters، دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل ۳۴۲۰ شرکتBEIFEN، ژنراتور تولید هوا، هیدروژن، نیتروژن (99.999%) مدل NHA-500 شرکت BCHP ، دستگاه آسیاب مدل Braun KSM2 و سانتریفیوژ یخچالدار مدل U-320R شرکت BOECO آلمان، شیکر لوله IKA Vortex مدل GENIUS3، ساخت اسپانیا استفاده شد.

- نمونه برداری

در مرحله اول جمع‌آوری نمونه‌ها به طریق نمونه‌برداری تصادفی طبقه‌ای از نوع میدانی و با مراجعه به مناطق تعیین شده و بسته به جمعیت نانوایی‌ها انجام شد. برای تهیه هر

[1] International Agency for Research on Cancer
[2] Swedish National Food Authority
[3] Stockholm University
[4] JECFA (Joint Expert Committee on Food Additives)

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نمونه نان (چهارنوع نان : تافتون، سنگک، لواش و بربری)، از یک نانوایی چهار نان از سه پخت صبح، ظهر و عصر مجموعاً دوازده نان تهیه و به آزمایشگاه منتقل و پس از خشک کردن نمونه‌ها در دمای محیط (۲۸°C) ، با استفاده از دستگاه آسیاب‌برقی به ذرات کوچک (اندازه ذرات حداکثر ۱ میلی‌متر) تبدیل و مخلوط گردیدند و عملیات آماده‌سازی ۱۰۰ گرم نان خشک که نمونه‌ای مخلوط از هر دوازده نان بود انجام و برای استخراج آکریل‌آمید مورد استفاده قرار گرفت.

- استخراج و اندازه‌گیری آکریل‌آمید

۱۰ گرم از هر یک از نمونه نان‌های همگن شده توزین و به داخل ظرف ۵۰ میلی‌لیتری (لوله سانتریفیوژ درب پیچ‌دار) ریخته شد. ۲۸ میلی‌لیتر متانل ۷۵٪ در آب (%V/V) به انضمام ۱ میلی‌لیتر از هرکدام از محلولهای Carrez I(15g ofpotassium hexacyanoferrate [II] trihydrate in 100ml water) و Carrez II(30g of Zinc sulfate in 100ml Water) به منظور پاکسازی محیط به آن افزوده گردید. محتوی ظرف به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۲۵ °C و rpm ۱۰۰ شیکرشده و سپس در ۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه و با سرعت ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ گردید. توسط پیپت حبابدار، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول روئی[1] به یک لوله شیشه‌ای منتقل و داخل حمام بخار ۴۵ °C و تحت جریان گاز نیتروژن تا حجم نهایی۵ میلی‌لیتر تبخیر گردید. برای خالص‌سازی[2] بهتر آنالیت، محلول نهایی از کارتریج SPE مطابق دستورالعمل شرکت سازنده عبور داده‌شد (Oasis HLB, 3ml/60mg).

۰/۵µl از محلول حاصل از فرآیند SPE به دستگاه گاز کروماتوگراف BEIFEN مدل ۳۴۲۰ مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای[3] تزریق گردید(Splitless mode). ستون[4] استفاده شده در دستگاه از نوع DB-FFAP به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ۰/۲۵ میکرومتر ضخامت پوشش فاز ساکن داخلی بود. دمای محفظه تزریق ۲۳۰°C، دمای آشکارساز ۲۶۰°C و برنامه دمایی آون به شرح ذیل تنظیم گردید:

۱۰۰°C (hold 0.5 min)→ ۲۰۵°C @ ۱۵°C/min.

گاز حامل نیتروژن با فشار ثابت ۰/۷ مگاپاسکال و سرعت ۱/۴ ml/min از داخل ستون جریان داشت.

- تجزیه و تحلیل آماری

از هریک از نان‌های مورد بررسی مطابق روش نمونه برداری ۱۰ نمونه آماده و با سه تکرار مورد آزمایش قرار گرفت. جهت انجام آزمون آماری داده‌ها، از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ و مفروضات α<۰/۰۵ و β=۰/۲ استفاده شد. آنالیز آماری داده‌های حاصل از مطالعه با استفاده از روش‌های آمار توصیفی و آمار تحلیلی انجام گرفت.

یافته‌ها

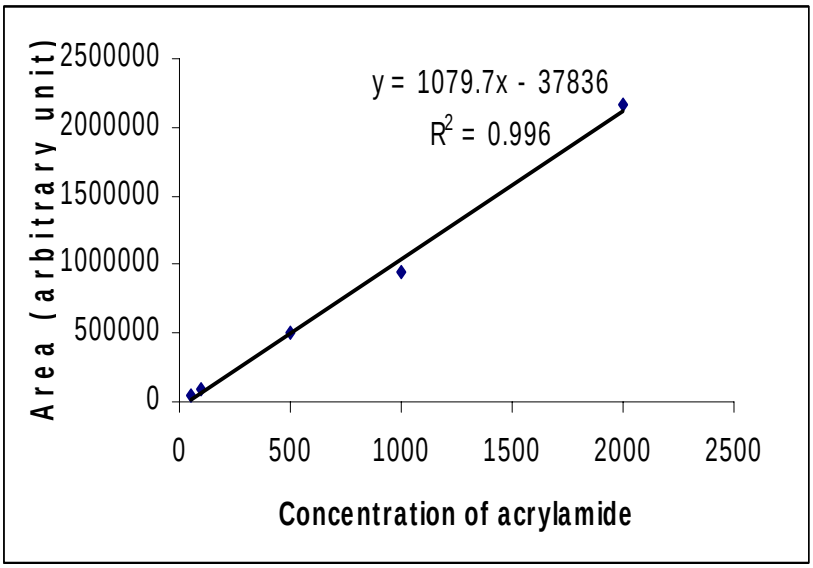
- برنامه دمایی

DB-FFAP, 30m, 0.25 mm i.d., 0.25µm film thickness
Sample: Spike with 100µg acrylamide
Inj.Temp.: 230 ºC, Splitless
Carrier gas: Nitrogen, constant pressure
Oven Temp.: 100 ºC (hold 0.5 min) to 205 ºC @15 ºC/min
Det. : FID @ 260 ºC

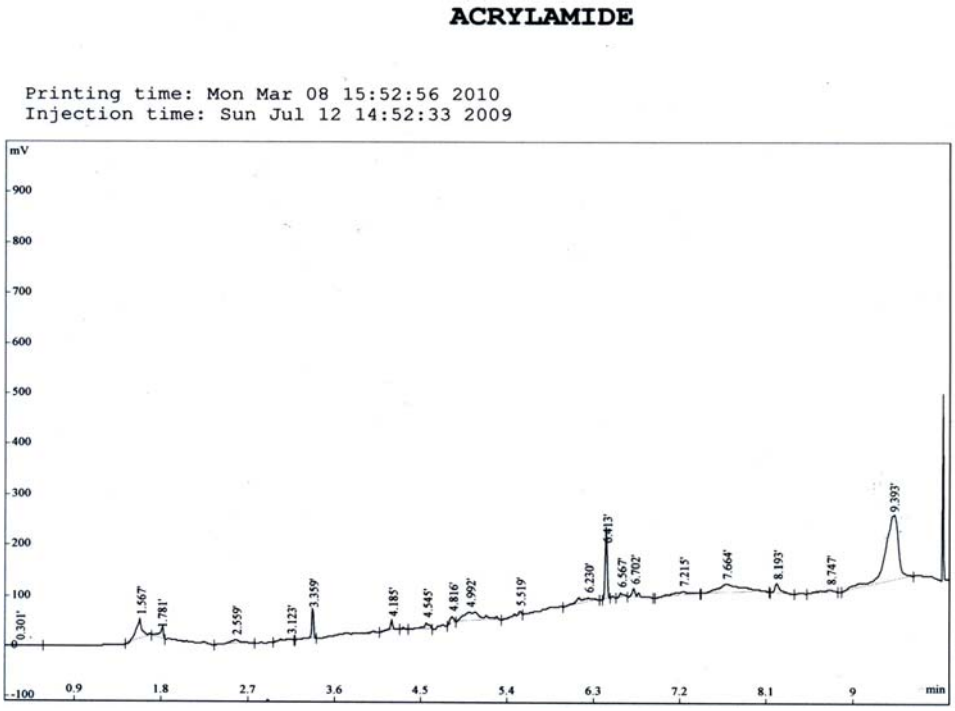
منحنی کالیبراسیون با Spike کردن نمونه شاهد (خمیر هر نوع نان که با شرایط مشابه نمونه اصلی در دمای معمولی خشک گردیده بود) با آکریل‌آمید استاندارد و غلظت‌های(ppb) ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ ترسیم و آنالیز نمونه‌ها با Spike کردن آنها با محلول استاندارد آکریل‌آمید با غلظت ثابت به منظور حضور ۱۰۰µg آکریل‌آمید استاندارد در نمونه مورد آزمایش و مقایسه نتیجه با آنالیز شاهد، انجام گردید (نمودار ۱).

با توجه به نتایج بدست آمده غلظت آکریل‌آمید در هر یک از نمونه نان‌های مورد مطالعه تافتون، سنگک، لواش و بربری به طور متوسط و به ترتیب ۱۴۱، ۱۰۱، غیرقابل اندازه‌گیری و ۱۲۷ نانوگرم بر گرم (ppb) بدست آمد (جدول ۱). رنج خطی روش (ng/g ۵۰-۴۰۰۰) و حد تشخیص (۳۰ ng/g) و انحراف استاندارد نسبی(%RSD) برابر ۵/۲۴ با ۱۰ بار تکرار محاسبه شد. برای نان لواش میزان آکریل‌آمید آنقدر کم بود که امکان اندازه‌گیری آن با این روش وجود نداشت.

[1] Supernatant [2] Clean up [3] FID [4] Column



نمودار ۱- منحنی کالیبراسیون بدست آمده برای روش SPE-GC/FID و معادله خط مربوط به آن



شکل ۱- گازکروماتوگرام تزریق ۱ µl محلول آبی حاصل از استخراج آکریل آمید استاندارد (غلظت ۲۰۰ ppb) spike شده به نمونه شاهد (خمیر) با دستگاه GC/FID با بهره گیری از فرآیند SPE . (Rt=6.413 & Area=195770)

جدول ۱- میانگین مقدار آکریل آمید تولید شده در نان‌های مورد مطالعه(ppb)

نوع نان	میانگین (± انحراف استاندارد)	بیشینه	کمینه	تعداد نمونه
تافتون	۱۴۱/۳۷ ± ۱/۲۴	۱۵۹	۱۳۰	۱۰
بربری	۱۲۷/۰۲ ± ۰/۹۵	۱۳۸	۱۱۵	۱۰
سنگک	۱۰۱/۲۱ ± ۱/۰۱	۱۱۶	۷۳	۱۰
لواش	غیر قابل اندازه‌گیری	-	-	۱۰

بحث

اکثر محققین از روشهای پیشرفته مانند LC/MS/MS و یا GC/MS به منظور تشخیص و تعیین میزان آکریل‌آمید استفاده کرده‌اند.

Castleو همکاران در سال۲۰۰۲ استفاده از روش‌های LC-MS/MS و GC-MS را برای تجزیه مستقیم و تعیین مقدار آکریل‌آمید با نتایجی قابل قبول گزارش نمودند.

Tareke و همکاران در سال ۲۰۰۲ آکریل‌آمید موجود در مواد غذایی که به طور معمول مصرف می‌شوند را با دو روش LC-MS/MS و GC-MS تعیین کردند و همچنین اهمیت تکنیک پختن را در تشکیل آکریل‌آمید در موادغذایی را مورد بررسی قرار دادند. وقتی که موادغذایی به روش جوشاندن تهیه شدند مقدار آکریل‌آمید به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به روش سرخ کردن کاهش یافت. همچنین رابطه بین دما و زمان حرارت دهی را بررسی کردند.

در این تحقیق تلاش گردید با ساده‌ترین امکانات موجود در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی شهرستان کرمان میزان آکریل‌آمید در نمونه‌های نان ارزیابی گردد. گاز کروماتوگرافی روشی سریع و نسبتاً کم هزینه برای دنبال کردن بسیاری از ترکیبات و آنالیت‌ها مانند آکریل‌آمید در موادغذایی می‌باشد. آشکارساز FID، یک آشکارساز یونیزاسیون است که تقریباً به تمام مواد آلی حساس است. امتیازاتی همانند حساسیت بالا، پایداری مناسب، دامنه گسترده خطی بودن پاسخ، سادگی کاربرد، سهولت نگهداری و قابلیت کاربرد وسیع و قیمت ارزان، سبب شده است که FID عمومی‌ترین و پر کاربردترین آشکارساز کروماتوگرافی گازی باشد (امامی، ۱۳۸۳).

با توجه به اینکه انواع نمونه‌های حاصل از غلات حاوی مقادیر قابل توجه نشاسته و پروتئین می‌باشند لذا از مخلوط آب و متانل به عنوان حلال استفاده گردید تا از تورم و ژلاتینه شدن نمونه و در نتیجه کاهش بازده استخراج جلوگیری شود (SNFA, 2002).

آماده‌سازی نمونه در یک روش تجزیه‌ای از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، زیرا در بسیاری موارد، علی‌رغم وقت زیادی که صرف می‌شود، به عنوان منشأ بسیاری از خطاهای کار، شناخته می‌شود. در گذشته آماده‌سازی نمونه، شامل انحلال نمونه، خالص سازی و استخراج بود که توسط استخراج مایع – مایع صورت می‌گرفت. اما امروز SPE نسبت به LLE ترجیح داده می‌شود، که این ارجحیت، به دلیل عملکرد سریع و آسان، فاکتور پیش‌تغلیظ زیاد، تنوع فاز جامد، عدم نیاز به مصرف مقادیر زیاد حلال‌های آلی، جذب گونه‌های مورد نظر روی فاز جامد با پایداری مناسب و حد تشخیص پایین می‌باشد (Simpson, 2000). استخراج فاز جامد، روشی برای آماده‌سازی نمونه است، که آنالیت را به وسیله جذب روی فاز جامد، از محلول مورد نظر جداسازی و تغلیظ می‌نماید. این عمل به وسیله شویش آنالیت با یک یا چند حلال مناسب جهت تجزیه دستگاهی ادامه می‌یابد. عوامل مختلف درخلال فرآیندهای جذب آنالیت روی جاذب و واجذب شدن آن با یک شوینده باید بهینه شوند. امروزه SPE به عنوان یکی از مهمترین روش‌های استخراج و پیش تغلیظ شناخته شده است (Fontanas *et al.*, 2007).

در خاتمه میتوان استفاده از ستون قطبی DB-FFAP به همراه کارایی و حساسیت بسیار بالا دستگاه گاز کروماتوگراف BEIFEN مدل ۳۴۲۰ را رمز موفقیت این تحقیق به شمار آورد.

نتیجه‌گیری

با توجه به این نتایج، در صورتیکه حداکثر میزان مجاز مواجهه روزانه با آکریل‌آمید ۰/۳–۰/۸ µg/kg bw/day باشد (Dearfield *et al.*, 1988)، در این صورت می‌توان میزان دریافت روزانه آکریل‌آمید از نان های سنتی در شهرستان کرمان را با توجه به میانگین مصرف روزانه هر فرد زیر حد مجاز دانست. البته پیشنهاد می‌شود با استفاده از دستگاه‌های پیشرفته مانند GC-MS، LC-MS-MS و با روش‌های مختلف استخراج، تحقیقات بر روی انواع نان در مناطق مختلف با توجه به شرایط متفاوت پخت ادامه یابد تا بهترین نوع نان و مطلوبترین شرایط پخت بطور دقیق تعیین گردد.

منابع

اصغرزاده، ع. (۱۳۸۳). بررسی ضایعات نان در شهر تهران، مرکز پژوهش‌های غلات، مؤسسه مطالعات و پژوهش‌های

بازرگانی، تهران.

امامی، س. و رحیمی، ح. (۱۳۸۳). راهنمای علمی استفاده، نگهداری و رفع عیب از دستگاه های کروماتوگرافی گازی با ستون موئینه. انتشارات نوپردازان، ص ۱۷-۱۱.

ایزدبار، ج. و سمیعی، م. (۱۳۷۲). گندم، آرد، نان، هسته خودکفایی. تحقیقات صنایع آرد و نان. تهران، صفحه۱۱۱.

میرفخرایی، ف. (۱۳۷۲). گزارش نهایی طرح بررسی میزان، علل ضایعات نان در خانواده‌ها و دکاکین شهر تهران، انستیتو تغذیه و صنایع غذایی کشور.

Ahrné, L., Andersson, C. G., Floberg, P., Rosén, J. & Lingnert, H. (2007). Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking. *LWT - Food Science and Technology, 40*(10), 1708-1715

Brathen, E. & Knutsen, S. H. (2005). Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry, 92*(4), 693-700.

Castle, L., Campos, M. J. & Gilbert, J. (2002). Determination of acrylamide monomers in hydroponically grown tomato fruits by capillary gas chromatography mass spectrometry. *Journal of science and food agriculture*; 54: 549-555.

Dearfield, K. L., Abernathy, C. O., Ottley, M. S., Brantner, J. H. & Hayes, P. F. (1988). Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research, 195*(1), 45-77.

Dearfield, K. L., Douglas, G. R., Ehling, U. H., Moore, M. M., Sega, G. A. & Brusick, D. J. (1995). Acrylamide: a review of its genotoxicity and an assessment of heritable genetic risk. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 330*(1-2), 71-99.

Doerge, D. R., Young, J. F., McDaniel, L. P., Twaddle, N. C. & Churchwell, M. I. (2005). Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F1 mice. *Toxicology & Applied Pharmacology, 202*, 258-267.

Fontanas, N., Marce, R. M. & Borrull, F. (2007). Review: New formation in sorptive extraction techniques for polar compounds. *Journal of chromatography A*; 115: 214-231.

JECFA. (2005). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 1-47.

International Agency on Research on Cancer. (1994). *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of some industrial chemicals to humans: Acrylamide*. Lyon, France.

Lingnert, H., Grivas, S., Jagerstad, M., Skog, K., Tornqvist, M. & Aman, P. (2002). Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavia Journal of Nutrition, 46*(4), 159-172.

Lopachin, R. M. (2004). The Changing View of Acrylamide Neurotoxicity. *NeuroToxicology, 25*(4), 617-630.

Simpson, N. J. K. (2000). Solid-phase extraction, principles, techniques and applications. ed, Marcel Dekker

Swedish National Food Agency. (2002). *Analytical methodology and survey results for acrylamide in foods*: http://www.slv.se/engdefault.asp.

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. & Toernqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural & Food Chemistry, 50*, 4998-5006.

Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S. & Toernqvist, M. (2000). Acrylamide: a cooking carcinogen? *Chemical Research in Toxicology, 13*.

Tritscher, A. M. (2004). Human health risk assessment of processing-related compounds in food. *Toxicology Letters*(149), 177−186.