



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

# آنالیز مستقیم کربوهیدرات ها در پلاسماي انسانی به وسیله کروماتوگرافی یونی به همراه اسپکترومتری تراکمی (انبوه) و تشخیص آمپرسنجی ضربه ای برای استفاده به عنوان ابزار تشخیصی غیر تهاجمی

## چکیده

این مقاله نشان می دهد که تشخیص الکتروشیمیایی (*ECD*) به همراه کروماتوگرافی و اسپکترومتری جرم یونیزاسیون آبخاری انتشار الکترونی می تواند برای برآورد سریع برخی شاخص های وضعیت سلامت ارگانسیم ها به کار رود. نسبت لاکتولوز به مانیتول (*L/M*) به عنوان آزمایش غیر تهاجمی برای ارزیابی مسیرهای جذب روده ای کوچک و یکپارچگی مخاطی استفاده می شود. در این بررسی یک ارزیابی اثرات منفی دارو ضد التهابی غیر استروئیدی ملولیکام که در گروهی از سگ ها بطور خوراکی تجویز شده بود با تعیین شاخص لاکتوز مانیتول با استفاده از روش *IC- ECD-ES/MS/MS hyphenqt* انجام شد. طبق نتایج این بررسی ملولیکان نفوذپذیری معدی روده ای را تغییر داد. کوانزیم  $COQ_{10}$  ( $COQ_{10}$ ) آزمایش شد تعیین شود آیا می تواند از آسیب وارد شده معدی روده ای ناشی از ملولیکام جلوگیری کند و نشان داد که  $COQ_{10}$  می تواند درمان پیشگیرانه مؤثری باشد. سطح غلظت گلوکوپلازما هم یک عامل غیر مستقیم وضعیت اکسیدشونده در خون بود. برای اینکه اثرات مفید یک ترکیب آنتی اکسیدان دوتایی ( $\alpha$  - اسید لیپولئید و  $COQ_{20}$ ) را بر سطح کل گلوکز در مورد جوجه ها مشاهده کنیم. *ALA* و به عنوان افزودنی های غذایی در مرغذاری به کار رفت. نتایج این طرح بررسی نشان داد که سطح گلوکز در پلاسماي گروه جوجه هایی که با  $COQ_{10}$  و *ALA* تغذیه شده بودند کاهش قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل داشت.

کروماتوگرافی یونی با تشیص آمپرسنجی ضربه ای (*PAD*) که با کروماتوگرافی یون مقایسه شد با اسپکترومتری جرم توده آبشاری به عنوان ابزار تحلیلی برای کنترل سطح کربوهیدرات در سیالات بیولوژیکی بود. در تشیص الکتروشیمیایی دو شکل موج جدید بطور موفق اثرات شبکه ها را در نمونه ها بیولوژیکی نشان داد. بررسی آنالین پیوسته در غلظت های بالای نمک هم به عنوان واضح کننده روش *ms* و *k* به کار رفت. یک آزمایش جواب قبل از شناسایی *ms* برای یونیزاسیون مؤثر کربوهیدرات رقیق شه به کار رفت. اعتبار این روش نشان داد که هر دو روش به کار رفته قابل مقایسه است و مزیت های هر روش را نشان داد.

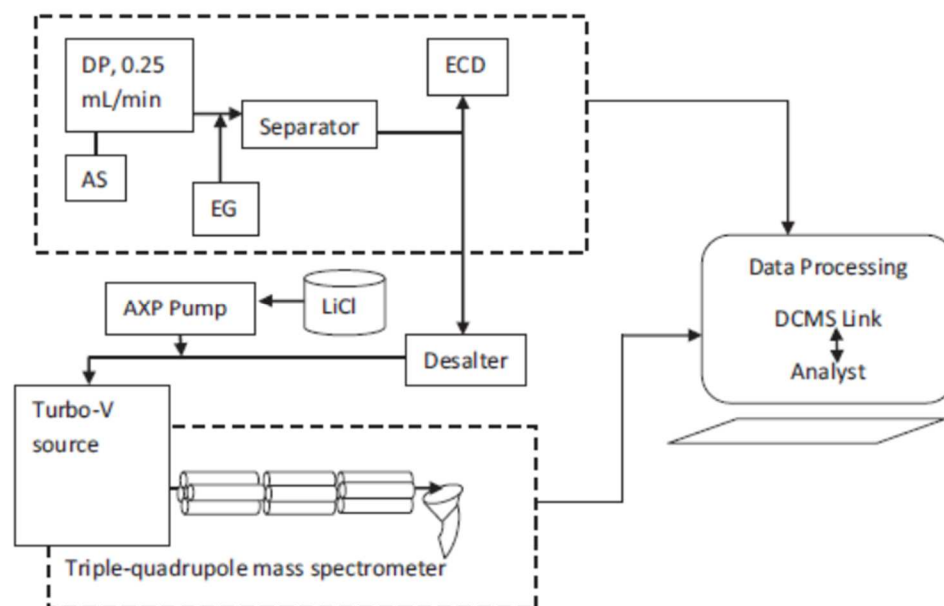
## 1- مقدمه :

تنش اکسیدشونده اصطلاحی کلی برای آسیب اکسیدشونده برای سلول ها و بافت ها یا اندام هاست که با نمونه های اکسیژن واکنشی ایجاد می شود. تنش اکسیدشونده سلولی ناشی از منابع بیرونی مثل الکل و داروها یا تروما یا عفونت ها یا آلاینده ها می باشد و عدم توازن بین میزان آسیب القاء شده دفاع آنتی اکسیدان مؤثر نشان می دهد. حفاظت آنتی اکسیدان طبیعی بدن که با رژیم غذایی ایجاد شده هم مقادیر آنتی اکسیدان مناسب و میکرومغذی برای سلول ها و خون حیوان فراهم می کند. برای اینکه عملکرد کامل دفاع آنتی اکسیدان را به دست آوریم ضروریست که ترکیبات غذایی مورد نیاز برای مدیریت تنش اکسیدشونده را دریافت و سطح بافت و ون را با ظرفیت آنتی اکسیدان ارزیابی کنیم. بسیاری از بیماری های تجزیه که با کاهش آنتی اکسیدان سلولی خاص مثل دیسموتاز سوپروکسید (*SOD*) و کاتالاز و ویتامین *E* و *C* و کربوکاروتنوئید و کوآنزیم *Q10* و بیلی روبین و  $\alpha$  - اسید لیپوئیک و گلوتاتیتون ایجاد می شود. اسید لیپوئیک گزارش شده که تنش آنتی اکسیدان در بیماران دیابتی و بزرگسالان سالم را کاهش می دهد. یک شاخص مهم برخی بیماری های تجزیه ای که با تنش اکسیدشونده شدید ایجاد شده با تعیین

سطح پلاسمای کربوهیدرات های خاصی که برای مثال گلوکز می باشد ارزیابی می شود. قند بالای طولانی هم باعث مشکلات دیابت طولانی مدتی و افزایش تنش اکسیدشونده می شود که به تحریک مسیر *PolyI* و تشکیل محصولات نهایی گلوکاسیون (*AGE*) و تشکیل رادیکال های اکسیژن کمک می کند. اخیراً *ALA* و *COQ10* توجه زیادی به خود جلب کرده است و به خاطر عملکرد بیولوژیکی غالبی که در ظرفیت آنتی اکسیدان آن وجود دارد بررسی ها نشان داده که *ALA* هم عوامل متابولیکی در انتقال گلوکز و استفاده از آن نشان می دهد. تولید صنعتی ماکیان و تخم مرغ برای حیواناتی که در آن مشارکت دارند خیلی پر تنش است. پس پرورش کارخانه ای در مقیاس بالا به روش های جدید پرورش ماکیان سالم نیاز دارد. در این بررسی مزیت های فراهم کردن افزودنی های غذایی با فعالیت آنتی اکسیدان مرغ ها طی افزایش صنعتی کنترل شده مشاهده شد. برای این هدف ما مرغ ها را با *COQ10* و *ALA* به عنوان افزودنی غذایی تغذیه کردیم و کل سطح قند در پلاسمای مرغ ها را ارزیابی کردم. این آزمایش با همکاری بزرگترین تولیدکننده ماکیان در اسلوونی انجام شد. اثرات همزمان این دو آنتی اکسیدان بررسی شد و ما فرض کردیم که سطح گلوکز پلاسمای می تواند شاخص مناسبی از وضعیت اکسیدشونده ارگانسیم باشد [13] در مجموع استفاده از داروهای ضد التهابی نئواسترئیدی (*NSAIDS*) در داروهای حیوانی اندک شامل درمان آسیب های حاد سیستم اسکلتی عضلانی و التهاب حاد و مصرف آن در روش های درمان جراحی شد [14] *NSAIDS* در سگ ها مکرراً محدود شد چون التهاب معده و روده ای پس از تجویز خوراکی ایجاد می کرد [15] *NSAIDS* باعث آسیب به مخاط معده روده ای می شد که افزایش بعدی نفوذپذیری مخاطی به سم ها و عوامل لومنی مثل *bilt* و ترشح پانکراس و باکتری را محدود می کرد. [16] تجویز ردياب های نفوذپذیری خاصی سایت مثل مونوساکاریدها و دی ساکاریدها برای شناسایی نقایص نفوذپذیری در سطوح مختلف دستگاه ها هم

آزمایش غربال گری تنهائی برای ارزیابی عملکرد مخاط معدی روده ای ارائه کرد [17] انسجام آزمایشات نفوذپذیری معدی روده ای نشان داده که علامتی از فرآیند چند بیماری است که در آسیب اپیتلیال نقش دارد. پس شناسایی لاکتولوز برای نسبت مانونیول در نمونه های خون/ادرار هم روش تشخیصی خوبی در بررسی های نفوذپذیری روده ای می باشد. تحت شرایط فیزیولوژیکی مونوساکاریدها با *villi* روده جذب می شوند. آتروفی *villi* باعث کاهش جذب مونوساکارید و افزایش *cryit* در محتوای لومنی می شود. نقایص مخاط روده ای با یک افزایش در نسبت مونوساکارید/دی ساکارید مشخص می شود. در بررسی کنونی اثرات منفی داروهای التهابی غیر استروئیدی ملولیکان نشان داد که گروهی از داروها با به کار بردن شاخص لاکتوز/مانوتیول ارزیابی می شوند. پس هدف دوم این بررسی تعیین اثرات ملولیکان بر مخاط معدی روده ای و بازدهی  $COQ_{10}$  در جلوگیری از آسیب القاء شده ملوکسیکان در معده روده ای باشد که سگ های سالم به وسیله مانیول/لاکتوز آسیب دیدند.

تقاضا برای ابزارهای جدیدی که غربال گری ساده و سریع ترکیبات با خواص آنتی اکسیدان را سطوح مطابق کربوهیدرات ها را ساده کند باعث توسعه روش های آنالیز سریعی برای تعیین کربوهیدرات ها در سیالات بیولوژیکی پیچیده شد که برخی از آنها توسط آزمایشگاه ها ارائه شد [20-22] بررسی کنترل سطح کربوهیدرات ها در سیالات بیولوژیکی پیچیده روش *hyphen* آنالین  $1C-MS/MS$  با روش های متداول  $1C-ECD$  مقایسه شد. هر دو روم بطور موازی برای تعیین کمی مواد قطبی در مجموعه ماتریس بیولوژیکی با غلظت ها کم آنالیت ها استفاده شد. تعیین و اندازه گیری دی ساکاریدها و مونوساکاریدهای مختلف با روش های متفاوتی مثل حالت اسکن کامل نظارت انتخابی و نظارت واکنش چندتایی و روش های شناسایی  $PAD$  و طول موج پتانسیل استاندارد و موج پتانسیل دو مرحله ای توسعه یافته انجام شد.



شکل 1

## 2- آزمایش و بررسی

### 2-1 مواد شیمیایی :

متانول و اتانول 2- پروپانول و 1 و 4- دی الکان و استونیتریل و هگزان و اسید پرکلریک و اسید استیک و Merckl تهیه کرد و استانداردهای کربوهیدرات از *sigma-Aldrich* خریداری شد که با مقاومت  $18/2 \mu\Omega cm$  بیشتر از محلول های آبی بدست آمد. محلول ها *Stock* به صورت مونوساکاریدی و دی ساکاریدی با غلظت های  $100mm$  در آب *MO* حل شدند. محلول های *Stock* برای یک ماه دو اگر در تاریکی در نگهداری می شدند پایدار بودند. محلول استاندارد درجه بندی  $0/8$  محلول های روزانه *Stock* تهیه شد. کنترل کیفی نمونه ها از پلاسمای جوجه ها در مدت کوتاهی قبل از شروع آنالیز بدست آمد. مقادیر معلوم گلوکز و لاکتوز مانیتول هم در نمونه ها در  $80^{\circ}C$  - ذخیره شد. درستی و اصلاح آن با نمونه کنترل شده کیفی *QC* تعیین شد.

### 2-2 نمونه ها

#### 2-2-1 نمونه پلاسمای جوجه (مرغ) ها :

سطح گلوکز در نمونه های خون جوجه ها که طی 41 روز پرورش صنعتی ایجاد شده بود و افزایش یافته بود ارزیابی شد. نمونه های پلاسمای خون از 200 جوجه بدست آمده که طی دو فرآیند پرورش منظمی بود. جوجه به 4 زیرگروه تقسیم شدند که هر کدام شامل 59 جوجه بودند. پس از 12 روز حیوانات در گروه آزمایش افزودن 4 برابر  $COQ_{10}$  صورت و  $ALA$  و ترکیبی از هر دو صورت گرفت غلظت های  $COQ_{10}$  و  $ALA$  در غذا از جداول دستور غذایی محاسبه شد طوریکه جوجه ها میانگین تقریباً 5 میلی گرم  $COQ_{10}$  و 50mg از  $ALA$  در هر Kg وزن بدنی در هر روز دریافت می کردند. این آزمایش تحت شرایط رشد و سلامت مطلوب طبق پروتکل ارائه شده انجام شد. طی روز دوره تولید تمام حیوانات تحت محیطی و رشد برابر بودند. سلامت و ظاهر و رفتار هر حیوان گزارش شد و نمونه های خونی در روزهای 16 و 28 و 40 گرفته شد. از هر گروه 14 حیوان بطور تصادفی گرفته شد و 2mL از خون آنها بدست آمد و نمونه های پلاسمای هپارین شده تهیه شد. پس از حدود 24 ساعت نمونه های منجمد شده جمع آوری شده به تسهیلات آزمایشگاهی برای ذخیره درازمدت در  $-80^{\circ}C$  انتقال یافت و تا زمان مورد نیاز تحلیل در آنجا باقی ماند. چند پارامتر شیمیایی و بیوشیمیایی آنالیز شده اما در این برتری فقط نتیجه غلظت گلوکز پردازش شد.

## 2-2-2 نمونه های خون سگ :

آمیب های کلون با دارو ضد التهابی ملوکسیکان که بطور غیر استروئیدی خوراکی تجویز شده بود ارزیابی شد. هر حیوان آزمایش یک غذای 4 300mg لاکتولوز و 100mg مانوتیول روزانه دریافت کرد. شش سسک هم در تحقیق گنجانده شدند. نمونه های ون در 120 دقیقه پس از خوردن محلول قند در لوله های  $K_3EDTA$  جمع آوری شد. لوله ها در 1500g به مدت 15 دقیقه در

4°C سانتریفوژ شدند. نمونه های پلاسما در 80°C- قبل از تحلیل نسبت لاکتوز/مانیتول نگهداری شدند.

### 2-3 استخراج قندها :

در هر دو مورد آماده سازی نمونه به روش زیر انجام شد. 400mL استونیتریل به 100mL پلاسما اضافه شد. ترکیب آن به مدت 3 دقیقه تکان داده شد و به مدت 4 دقیقه در 10000g در سانتریفوژ تکان داده شد تا پروتئین آن حذف شود. 100mL سوپرناتان در 5mL مخزن ولومتری رقیق شد و به سیستم 1C-EC-MS/MS تزریق شد.

### 2-4 ابزاربندی :

برآوردهای کروماتوگرافی در یک کروماتوگرافی مایع *Dionem lcs-3000* انجام شد که شامل یک پمپ گرادیان دوتایی *Dionem* می بود و یک نمونه گیری خودکار *AS* با نمونه سرد شده و یک بخش شناساگر *DC* که با شناساگر الکتروشیمیایی و بخش ژنراتور رقیق ساز *EG* تجهیز شده بود.

### 2-5 جداسازی :

کربوهیدرات ها با استفاده از تبادل آنیونی قوی ستون آنالیز *Dionem carbopac PA10* جدا شدند و با 130nm آمونیوم مایع رقیق شده *Microbead* آگلومرات شد. کربوهیدرات ها با یک فاز ایزوکراتیک متحرک 35mm هیدروکسید پتاسیم در یک سرعت جریان 0/25mL/min جدا شد.

### 2-6 شناسایی

#### 2-6-1 شناسایی الکتروشیمیایی :

سلول شناسایی سه الکترونی یک نوع لایه نازک بود و شامل یک الکتروود کار طلائی لایه نازک قابل حمل و یک الکتروود مرجع *PH-Ag/AgCl* و یک الکتروود کنترل تیتانیوم بود یک صورت موجی



4 پتانسیل استاندارد و استفاده شده با دو صورت موج پتانسیل جدید در آنالیز کربوهیدرات مقایسه شد.

## 2-6-2 طیف سنجی تراکمی :

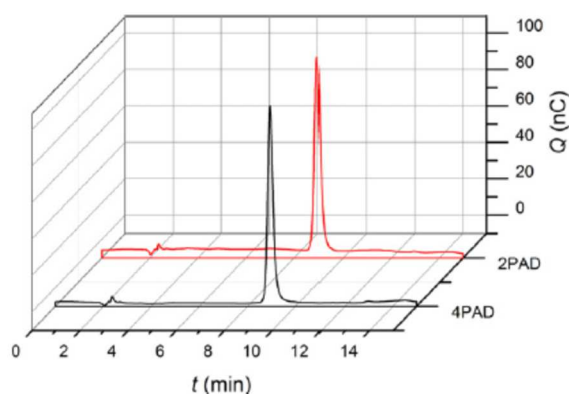
فاز متحرک با ماده جدا شده از طریق *MICROTEF* یک کاهنده آنیونی خودتنظیمی انتقال یافت و یک محلول از طریق *MICROTEF* به جریان رقیق ساز در سرعت جریان  $50\text{mL}/\text{min}$  انتقال یافت. کربوهیدرات های جدا شده به یک منبع در سیستم *QTANP LC/MS/MS* رسیدند. اسپکترومتر تراکمی در حالت مثبت با یک محلول قندی پلی پروبیلین بود. تعیین گلوکز در حالت اسکن  $ms$  در محدوده 150 تا  $500\text{m}/z$  انجام شد. یک یون شبه مولکول گلوکزی با افزودن یون لسیتوم در حالت یونیزاسیون مثبت انجام شد که تحت شرایط زیر بود :

دمای گاز توربو  $600^{\circ}\text{C}$  بود و ولتاژ به کار رفته در سوزن  $4500\text{V}+$  بود و گاز *nebolizer* در 45 تنظیم شد و گاز در 10 تنظیم شد و گاز فرعی در 65 واحد بود و فشار گاز در سلول طی  $Q_3\text{MS}$  تا مقدار متوسط تنظیم شد. پارمترهای وابسته به ترکیب برای لاکتولوز و مانیتول به صورت زیر بهینه سازی شدند : پتانسیل خوشه زدایی بین  $Q_0$  و صفحه *orifice* در  $81\text{V}$  تنظیم شد و پتانسیل ورودی  $10\text{V}$  بود و پتانسیل خروج سلول تصادفی  $20\text{V}$  بود.

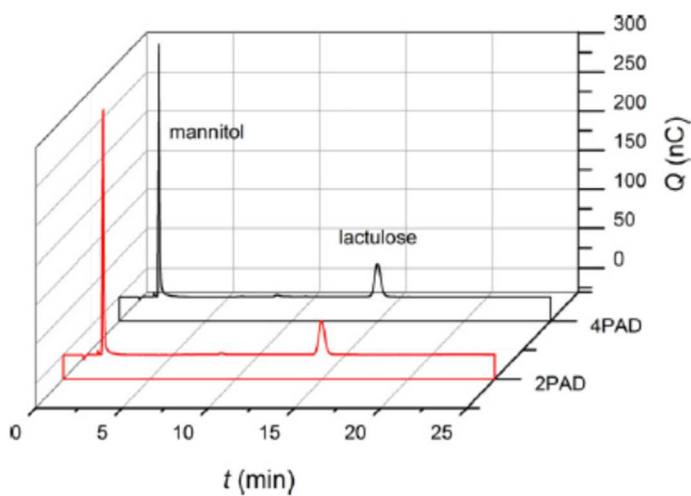
## 2-7 تحلیل داده ها :

نرم افزار *Sciex Analyst* برای انجام آنالیز داده و یکپارچه سازی حداکثر به کار رفت با توجه به دامنه وسیع و انواع متفاوت روش های تعیین منحنی های درجه بندی نمایی و خطی و موزون با نمونه های *QC* طی توسعه روش به کار رفت. نمونه های درجه بندی در دسته هایی تهیه شد و در فریزر در  $40^{\circ}\text{C}$  برای 12 روز نگهداری شد درحالی که نمونه های کنترل روزانه تهیه شد. مقادیر بدست آمده پایداری قندها را حداقل برای دو هفته در فریزر اثبات کرد. منحنی های درجه

بندی با چند استاندارد درجه بندی از  $0/1mm$  تا  $100mm$  گلوکز و  $0/01mm$  تا  $10mm$  مانیتول و لاکتوز تهیه شد. مقادیر ثبت شده ( $b$ ) و ضریب همپوشی و انحراف سیال شیب با استفاده از منحنی درجه بندی موزون بدست آمد. فاکتورهای وزنی از معادله  $f_w = 1/(100 + 56x_i)^2$  بدست آمد. حد شناسایی و حد اندازه گیری از فواصل اطمینان اندازه گیری شد. تمام آماره ها با استفاده از *Statgrafic ver4* صورت گرفت و یک  $t$  تست هم برای ارزیابی تفاوت بین گروه ها از نظر سطح پلاسمای آنالیت ارزیابی شد و رابطه بین سطوح غلظت و زمان ارزیابی شد. یک سطح احتمال  $P < 0/05$  از نظر آماری قابل توجه بود.



شکل 2

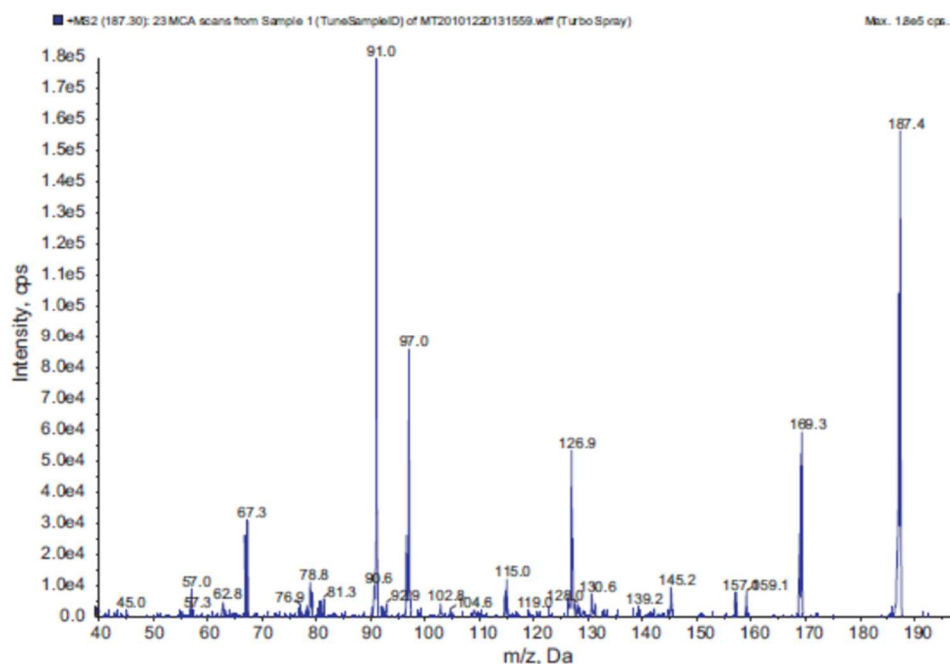


شکل 3

### 3- نتایج و بررسی :

روش مؤثری از اندازه گیری و تعیین کربوهیدرات در نمونه های بیولوژیکی و محصولات غذایی بر اساس کروماتوگرافی تبادل آنیونی به همراه شناسایی الکتروشیمیایی در الکترودهای کار طلا بدست آمد. در شناسایی الکتروشیمیایی کربوهیدرات یک موج بالقوه 4 تایی برای الکترودهای کار AV به کار رفت که از فعالیت الکتروکاتالیزی کربوهیدرات ها در سطوح مقادیر PH اندک استفاده می کند. جریان ایجاد شده به نسبت غلظت کربوهیدرات است پس شناسایی خوب و ارزیابی را امکان می دهد. این روش ارزان است و در بسیاری از آزمایشگاه ها به کار می رود. در نمونه ای الکتروشیمیایی در الکترودهای AV از موج 4 مرحله ای استفاده کرد و با طول موج جدید مقایسه کردیم. در موج پتانسیل ضربه ای فالسازی شرطی کاتدی سطح الکترودها به کار رفت و نتایج آن حساسیت را در مقایسه با طول موج استاندارد نشان می دهد. منحنی های درجه بندی تزریق 10mL محلول گلوکز بین 1/0mm و 10mm به صورت زیر است :

برای 2PAD  $(Q_{max}(cn) = (2/02 \pm 0.05)c + 39 \pm 18)$  و برای 2PAD  $(Q_{max}) = (2) + 39 + (1/99 \pm 0.05)$  و برای نمودار 2 کروماتوگراف های نمونه گلوکز در نمونه های پلاسمای بدست آمده از پتانسیل 4 مرحله استاندارد در PA10 carbopac در دوره های ایزوکراتیک و الکترولیت آنالین 5mm از KOH را به عنوان رقیق ساز نشان می دهد. تمام برآوردهای الکتروشیمیایی آلاسیتول و کربوهیدرات ها در نمونه های پلاسمای جوجه ها و سگ ها موج شناخته شده جدید ارزیابی شده و با طول موج پتانسیل استاندارد و روش های ms تعیین شد. نمودار 3 هم مقایسه کروماتوگرام های مانترول و لاکتوز در نمونه های پلاسمایی بدست آمده با شناسایی آمپرسنجی پالس شده/جداگانه را نشان می دهد.



شکل 4

چون *PAD* انتخابی نیست ضروری است که از اسپکترومتری جرمی برای شناسایی استفاده کنیم که انتخاب بهتری برای انتخاب خداکثر نامعلوم آن است. مقایسه زیاد یون از فرآیند جداسازی *K* نویزهای ناخواسته ایجاد می کند پس این روش برای جفت شدن آنلاین به *ms* مناسب نمی باشد. شوری زیاد و رقیق شدن هیدروکسید فرار هم باعث میانبر الکتریکی و *plug* با توجه به بلوری شدن نمک می وشد که قبل از *ms* باید حذف شود. پس مواد رقیق ساز و جداکننده باید از طریق متوقف کننده آنیونی تولید شود. استفاده از تعیین برنده با ظرفیت بالا هم *destal* الکتروود شیمیایی را به روش مؤثری برای تبدیل هیدروکسید به اب الص امکان می دهد. خنثی ساز بدست آمد که با ترکیبی از الکتروولیز آب و تبادل یونی بدست آمد.  $H^+$  با اکسیداسیون آب بدست آمد که با یون های  $K^+/Na^+$  رقیق ساز تبادل یافت که با رقیق سازی خنثی شد. شناساگر رسانایی در فاصل *ms* برای کنترل توقف رقیق ساز *PH* مقدار زیاد ایجاد شد و نویز زمینه ای کاهش یافت و نتیجه آن با شناسایی *ms* تعیین شد در روش جایگزین برای افزودن پس

ستون کاهش جزئی رقیق ساز  $KOH/NaOH$  به منظور ایجاد افزودن با یون های باقی ماند انجام شد. این جریان باید در مقدار ثابتی حفظ شود تا از خط مبنا جلوگیری شود و این روش طی رقیق سازی گرادیان به کار می رود به این دلیل ما پیوسته یک محلول ترتیب یافته به جلوی فاصل می فرستیم پس عامل  $[m + Li]^p$  پاسخ در حالت مثبت با تشکیل یون های به خوبی تقویت شده است. از سویی دیگر یون های  $[m + Li]^p$  در حالت منفی به خوبی قابل شناسایی نیست. طیف جرم نمونه گلوکز در  $adducd$  لیستوم به  $LOD$  امکان می دهد که در سطح زیر  $Pmol$  بدست آید.  $LOQ$  برای کربوهیدرات هایی است که انتخاب شده تقریباً  $0/02$  می باشد. روش های به کار رفته  $LC/MS/MS$  از نظر انتخاب و دقت درستی ارزیابی شد و دامنه قابل قبولی را نشان داد. پایداری روش های انتخاب شده با استفاده از نمونه های  $QC$  طی توسعه روش حاصل شد. دو مجموعه نمونه  $QC$  فراهم شد که یکی در فریزر نگهداری شد و دیگری بطور تازه با توجه به استانداردهای مبنای روزانه بدست آمد. مقادیر بدست آمد پایداری متدها برای حداقل دو هفته در فریزر اثبات کرد ( $4^{\circ}C$ ) هیچ تغییر قابل برآوردی در شدت سیگنال نمونه های کنترل در دمای اتاق مشاهده نشد. پارامترهای غربال گری و نتایج اعتبار روش های تحلیل به کار رفته در جدول 1 آمده است.

Parameters	Glucose			Mannitol	Lactulose
Detection mode	SIM ( $Q_1/Q_2$ )	2PAD	4PAD	MRM	MRM
m/z parent ion	187.4 (M+Li) <sup>+</sup>			189.2 (M+Li) <sup>+</sup>	349 (M+Li) <sup>+</sup>
m/z fragments	91.0			171.3/96.8/81.1	330.9/187/97.2
Linearity range	0.5–100 $\mu$ M	0.1–500 $\mu$ M	0.1–500 $\mu$ M	0.05–100 $\mu$ M	0.01–100 $\mu$ M
R <sup>2</sup>	0.9996	0.9956	0.995	0.9994	0.9998
LOD	0.2 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M	0.02 $\mu$ M	0.01 $\mu$ M
LOQ	0.5 $\mu$ M	0.4 $\mu$ M	0.4 $\mu$ M	0.05 $\mu$ M	0.02 $\mu$ M
Precision (n=6)	3.87%	3.52%	3.52%	4.47%	5.05%
Accuracy (n=5)	4.02%	2.79%	2.72%	3.05%	3.32%
Selectivity	RS>2.0	RS>2.0	RS>2.0	No interference	No interference

جدول 1

Day	Control group		CoQ <sub>10</sub> 5 mg/kg daily		CoQ <sub>10</sub> + ALA 5 mg + 50 mg/kg daily		ALA 50 mg/kg daily	
	mg/L	Rel %	mg/L	Rel %	mg/L	Rel %	mg/L	Rel %
16	20.2 ± 1.7	0.0	25.8 ± 0.6	0.0	25.1 ± 0.8	0.0	29.6 ± 1.1	0.0
28	25.2 ± 3.1	25.2	27.2 ± 1.3	5.2	27.3 ± 0.2	8.9	30.7 ± 1.1	3.5
40	24.0 ± 0.8	19.1	27.5 ± 0.5	6.6	25.6 ± 0.3	2.1	27.8 ± 1.4	-6.1
Sum		44.3		11.8		11.0		-2.6

## جدول 2

Day	<sup>a</sup> Mannitol (μM)	<sup>a</sup> Lactulose (μM)	L/M index	<sup>b</sup> CoQ <sub>10</sub> (mg/L)	"Placebo" L/M index
1	0.70 ± 0.07	1.09 ± 0.17	1.58 ± 0.31	0.28 ± 0.09	0.98 ± 0.33
7	0.68 ± 0.13	0.82 ± 0.11	1.25 ± 0.26	0.53 ± 0.11	1.00 ± 0.30
14	0.70 ± 0.08	0.73 ± 0.13	1.05 ± 0.18	0.65 ± 0.16	1.04 ± 0.27

<sup>a</sup> Concentrations of sugars were measured with IC-MS/MS in MRM mode at  $m/z = 865$ .

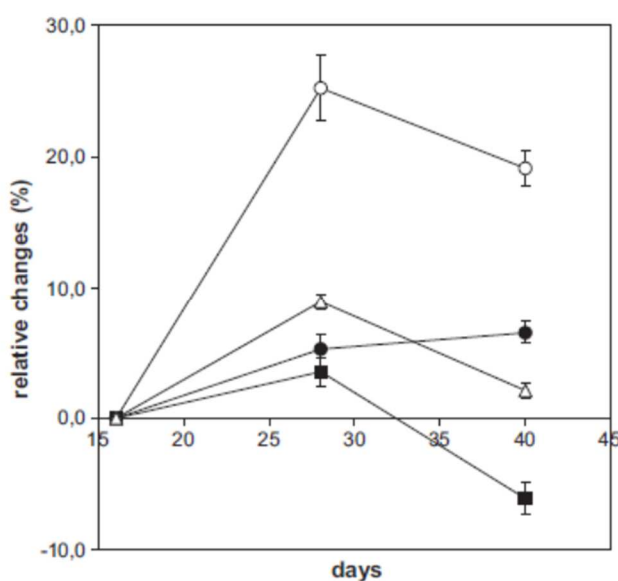
<sup>b</sup> Concentration of CoQ<sub>10</sub> was measured with LC-MS in SIM mode at  $m/z = 865$ .

## جدول 3

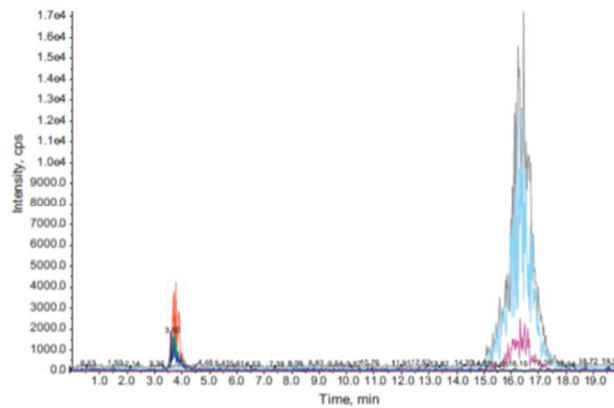
### 3-1 اعتبار روش :

با توسعه روش *LC-ECD/MS/MS* روش ها با پارامترهای اعتبار اصلی حاصل شد که در جدول 1 آمده است و تفائت قابل توجهی در داده های معتبر مشاهده نمی شود که با یکی از روش ها تناسب داشته باشد. مزیت این روش ها خاص طی استفاده کاربردی در تعیین نمونه ها به کار می رود. پس روش *LC-ECD* معمول ترین روش مناسب برای شناسایی کربوهیدرات است درحالیکه *LC/MS/MS* انتخاب بهتری برای نمونه های مشکل ساز فراهم کرده و ابزار انتخابی برای آن است. یک ویژگی برجسته آن در کانال های کنترل یونی است که شناسایی ترکیبات رقیق سازی همزمان و حذف زمینه ترکیبات غیر کربنی ماتریس نمونه و فاز متحرک را امکان پذیر می سازد. در انتقال گلوکتوز بررسی چند واکنشی مشخصه برای بررسی کربوهیدرات ها در نمونه های پلاسما به کار رفت. نتایج نمودار 5 نشان داد که غلظت گلوکز در پلاسما طی 40 روز افزایش یافت. در گروه کنترل غلظت نهایی در 40 روز 19/1٪ بالاتر از غلظت ها در 16 روز محاسبه از روز اول بود. در مورد *COQ<sub>10</sub>* غلظت نهایی آن تقریباً 7٪ بالاتر بود و در مورد *fodder* طی 16 روز فقط 2٪ بیشتر بود. بهترین نتایج با *ALA* خالص بدست آمد که غلظت گلوکز پلاسما نهایی 6٪ کمتر

بود. پس نشان می دهد در سطح گلوکز کاهش طی تجویز *fodder* با *ALA* چهار برابر شده است. نتایج ما مطابق با آثار است و نشان می دهد که *COQ10* و *ALA* اضافه شده به غذا باعث کاهش گلوکز پلاسما می شود و اثر خوبی در مورد دیابت دارد. اگر به عنوان افزودنی غذایی مصرف شود طیف سنجی جرمی هم پیشرفتی در آنالیز کمی ترکیب با ایجاد دانه های یون مولکولی با فراهم کردن آزمایش اثر انگشت ایجاد می کند. مانیتول و لاکتولوز در حالت *MRM* برآورد شدند. یون والد برای مانیتول  $189/M/Z$  بود و یون های تکه ای  $17/3$  و  $96/8$  و  $81/M/Z$  بودند. برای لاکتولوز یون والد انتخاب شده  $349/M/Z$  و یون تکه ای  $330/9$  و  $187$  و  $97/2$  بود یک کروماتوگرام نمونه و با انتقال یون مانیتول و لاکتولوز در نمودار 6 آمده است. در حالت *MRM* مقادیر شاخص *L/M* می تواند در خون سگ حتی تا 48 ساعت پس از کاربرد آن در کاربرد ملولیکان ایجاد شود. پس از تجویز دارو مقادیر بالاتر شاخص *L/M* در پلاسما ایجاد شده مکمل  $Q_0Q_{10}$  بین بهبود و کلونی آن مواردی ایجاد کرد که از طریق مقادیر کمتر شاخص *L/M* قابل مشاهده است. غلظت  $Q_0Q_{10}$  در پلاسما با *LC/MS/MS* در حالت *MRM* ارزیابی شد و نتایج در جدول 3 آمده است.



شکل 5



شکل 6

#### 4- نتیجه گیری ها :

ترکیبی از کروماتوگرافی یون با *MS* که با *T desalter* آنلاین و یونیزاسیون بهتر مجهز شده بطور موفق برای نمونه های واقعی به کار رفت. روش های توسعه یافته مطمئن می باشد و حساس است و برای تعیین کربوهیدرات در مایعات بیولوژیکی انتخابی می باشد. مقایسه بین روش های به کار رفته همپوشی بهتر نشان داد و نتایج ارائه شده اثبات کرد که *LC-EC* بهتر است به ویژه زمانی که مولکول های قطبی اندکی را بخواهیم جدا کنیم و در نمونه بافت و خون شمارش کنیم. توسعه روش جدید دو ضربه ای نشان داد که بهینه سازی جدید در شناسایی الکتروشیمیایی ضربه هنوز امکان پذیر است. در الکتروود طول موج کاتدی دو مرحله ای فعالسازی دوباره به کار می رود. مکانیسم فعالسازی دوباره الکتروود در موج دو فاز روش الکتروشیمیایی جدیدی برای طلا از نظر محل کاتالیزی و در سطح الکتروود طلا نشان داد. صورت موج دو مرحله ای با حذف کاتالیزی به افزایش فراوانی نمونه گیری را امکان پذیر کرد که می تواند پیشرفت قابل توجهی در سیستم رقیق سازی سریع ایجاد کند.





این مقاله، از سری مقالات ترجمه شده رایگان سایت ترجمه فا میباشد که با فرمت PDF در اختیار شما عزیزان قرار گرفته است. در صورت تمایل میتوانید با کلیک بر روی دکمه های زیر از سایر مقالات نیز استفاده نمایید:

لیست مقالات ترجمه شده ✓

لیست مقالات ترجمه شده رایگان ✓

لیست جدیدترین مقالات انگلیسی ISI ✓

سایت ترجمه فا ؛ مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده از نشریات معتبر خارجی