



ارائه شده توسط:

سایت ترجمه فا

مرجع جدیدترین مقالات ترجمه شده

از نشریات معتبر

تعیین نسبت‌های ایزوتوپ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ اسیدهای آلی، گلوکز و فروکتوز به وسیله

HPLC-co-IRMS در تایید آب لیمو

چکیده

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا همراه با اسپکترومتری جرمی نسبت ایزوتوپ از طریق پذیرفتن وجه مشترک اکسیداسیون شیمیایی ماده آلی (HPLC-co-IRMS) برای تعیین همزمان نسبت ایزوتوپ کربن 13 ($\delta^{13}\text{C}$) اسیدهای آلی، گلوکز و فروکتوز در لیمو و آب لیمو استفاده شد. به دلیل وجود اختلاف قابل توجه بین غلظت اسیدهای آلی و مواد قندی، دستورالعمل آزمایشگاهی به وسیله به کارگیری جهش جریان در دستگاه IRMS بهینه‌سازی شد. جریان فیلامنت به منظور افزایش حساسیت IRMS در طی استخراج تا $300\mu\text{A}$ افزایش یافت. سپس آنالیز بر روی 35 نمونه لیمو و آب لیموی به دست آمده از نقاط جغرافیایی مختلف انجام شده و آب لیموها در آزمایشگاه گرفته شد. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ متوسط، $-25/40 \pm 1/62$ ، $-23/83 \pm 1/82$ و $-25/67 \pm 1/72$ به ترتیب برای مخلوط اسیدهای آلی که عمدتاً از ترکیبات سیتریک اسید هستند، گلوکز و فروکتوز تعیین شد. این نمونه‌های معتبر تعیین یک محدوده اطمینان را در مواجهه با 30 نوع آب میوه تجاری مجاز دانستند (24 نوع آب میوه خالص و 6 نوع آب میوه حاصل از کنسانتره). در بین این 30 نمونه، مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در 10 نمونه خارج از محدوده تعیین شده بودند و ماده افزودنی از نوع C4 از اسیدهای آلی یا مواد قندی در آنها یافت شد، این افزودنی بر روی برچسب آب میوه مشخص نشده بود که برخلاف قواعد اتحادیه اروپاست.

کلمات کلیدی: HPLC-co-IRMS، نسبت ایزوتوپ کربن 13، $\delta^{13}\text{C}$ ، اسیدهای آلی، گلوکز، فروکتوز، آب لیمو،

کنسانتره لیمو، تایید

1. مقدمه

لیمو و لیمو ترش به صورت میوه‌های تازه یا آب میوه تجاری شده و در بازار وجود دارد. تاکنون، منشا جغرافیایی لیمو موضوع بحث تجاری نبوده و برچسب‌های کمی منشا آب لیمو را مشخص کرده‌اند. در نتیجه، مطالعات منشا جغرافیایی بر روی این ترکیب نادر است (بارنز، 1997؛ پلرانو، ماتزا، ماریلیانو و مارچفسکی، 2008). قیمت آب لیمو و آب کنسانتره براساس قدرت اسیدی قابل اندازه‌گیری، یعنی اساساً غلظت سیتریک اسید و میزان مواد قندی

تعیین می‌شود. بنابراین آب میوه‌های مصنوعی می‌توانند با اضافه کردن مواد قندی و یا سیتریک اسید تولید شوند. علاوه بر این، مجلس قانونگذاری اروپا قوانینی درباره تجارت آب میوه شامل نشان جغرافیایی محافظت شده (PGI) وضع کرد. افزودن ترکیبات اسیدی مختلف به علاوه اضافه کردن مواد قندی براساس قانون اروپا مجاز می‌باشد (دیرکتیو، 1995؛ دیرکتیو، 2001). استفاده از این ترکیبات مجاز در لیست ترکیبات بر روی برچسب محصول باید ذکر شود و همزمان افزودن شکر و ترکیبات اسیدی ممنوع گردد (دیرکتیو، 2001). به علاوه، افزودن مواد قندی در آب میوه‌ها از 28 اکتبر 2013 مجاز نخواهد بود (دیرکتیو، 2012). در نتیجه، اکثر کارهای تحقیقی بر روی مشخصه‌سازی صحت اجزای اصلی آب لیمو تمرکز داشته و چندین روش برای شناسایی این افزودنیها ارائه شده است.

نسبت غلظت بین سیتریک اسید و ایزوسیتریک اسید برای تعیین میزان سیتریک اسید اضافه شده استفاده شده است. متأسفانه محدوده نسبت غلظت بزرگ است که به ناشناخته ماندن افزودنی سیتریک اسید می‌انجامد (AIJN). سیتریک اسید، تولید شده به صورت صنعتی، از تخمیر منابع مختلف مانند چغندر و شیره نیشکر، شیره ذرت، یعنی از گیاهان مختلف با متابولیسم‌های نوع C3 و C4، به دست می‌آید. یکی از مهمترین تفاوت‌ها بین کربوهیدرات‌های این گیاهان نسبت ایزوتوپ کربن 13 آنهاست ($\delta^{13}\text{C}$ یا $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$): مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ کربوهیدرات‌های C3 در محدوده $-.24 < \delta^{13}\text{C} < -.34$ است در حالی که محدوده کربوهیدرات C4، $-.10 < \delta^{13}\text{C} < -.17$ می‌باشد (مایر- آگنشتاین، 1999). از آنجایی که لیموها متابولیسم C3 دارند، تنها مقدار قابل توجه ترکیب نوع C3 می‌تواند نسبت‌های ایزوتوپی را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین اسپکترومتری جرمی تعیین نسبت ایزوتوپ (IRMS) یک روش جایگزین برای افزودن سیتریک اسید و مواد قندی نوع C4 می‌باشد (دونر، 1985؛ جامین و همکاران، 1998a). به منظور بهبود کنترل صحت، نسبت ایزوتوپ پروتئین‌های میوه به عنوان یک مرجع داخلی استفاده شد (جامین و همکاران، 1998b). ترکیب آنالیز چند ایزوتوپی اجازه شناسایی افزودنی سیتریک اسید نوع C3 را می‌دهد (گونزالس و همکاران، 1998؛ جامین، مارتین، سانتاماریا- فرناندز و لیز، 2005). در این مطالعات یک پیش‌نیاز برای به دست آوردن اطلاعات ایزوتوپی، استخراج و جداسازی هر جزء از مخلوط میوه، و همچنین در برخی آزمایشها، سیتریک اسید نیاز به مشتق شدن و مطالعه به وسیله $^2\text{H-NMR}$ دارد. این مراحل خالص‌سازی می‌تواند استفاده از تکنیکها در کاربردهای جریان عادی کنترل صحت را محدود کند. به علاوه تعیین نسبت ایزوتوپ کربن 13 در مواد قندی

بر روی کل مخلوط انجام می‌شود (ساکاروز + گلوکز + فروکتوز) و این تعیین جهانی نسبت‌های ایزوتوپ می‌تواند برخی از افزودنیهای قندی را پنهان کند.

اخیرا پیوندی بین کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و اسپکترومتری جرمی نسبت ایزوتوپ (IRMS) به واسطه یک وجه مشترک تضمین کننده اکسیداسیون شیمیایی (CO) به دست آمد. یک مقاله مروری جدید (گودین و مک گولاک، 2010) برخی از کاربردهای این تکنیک را به تفصیل بیان می‌کند که تعیین $\delta^{13}\text{C}$ ترکیبات یکتای برگرفته از یک مخلوط پیچیده بدون گذراندن مراحل خالص سازی را انجام می‌دهد. علی‌رغم استفاده‌های بالقوه در صحت و سلامت غذا، از این روش به ندرت برای این کاربرد استفاده می‌شود. براساس دانسته‌های ما، پیوند HPLC-IRMS تنها برای عسل (کابانرو، رسیو و روپرز، 2006؛ الفلین و رازکه، 2008)، اثبات وجود کافئین (ژانگ، کجاوینسکی، فدرر، اشمیت و یوگمن، 2012) مشروب (کابانرو، رسیو، روپرز، 2008؛ کابانرو، رسیو و روپرز، 2010؛ گویون، گایارد، سالانگویی و مدینا، 2011) استفاده شده است. HPLC-co-IRMS به اندازه‌گیری نسبت $\delta^{13}\text{C}$ اجزای اصلی مشروب کمک می‌کند (گویون و همکاران، 2011)، همچنین این تکنیک برای تعیین ترکیبات لیمو که اساسا از آب، اسیدها و مواد قندی تشکیل شده است، به کار می‌رود (سوسی، فاجمن و کراوت، 2000).

این مطالعه کاربرد HPLC-co-IRMS را برای تعیین نسبت ایزوتوپ کربن ترکیبات عمده لیمو ارائه می‌کند. استراتژی اصلی در این مقاله پیدا کردن پاسخی برای اختلاف قابل توجه غلظت بین اسیدها و مواد قندی است. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در اسیدهای آلی، گلوکز و فروکتوز در 35 نمونه قابل اعتماد لیمو و آب لیموی به دست آمده از میوه‌های آب‌گیری شده در آزمایشگاه تعیین شد. سپس 30 نوع لیمو و آب لیموی تجاری آنالیز شده و مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ آنها با مقادیر بانک اطلاعاتی قابل اعتماد مقایسه شدند.

2. آزمایشگاهی

2.1. مواد شیمیایی

آلومینیم پرسولفات و ارتوفسفریک اسید (Fischer Scientific، ایلکرچ، فرانسه) در گرید واکنشگر تجزیه هستند و بدون گذراندن مرحله خالص سازی استفاده شدند. گاز حامل، هلیوم (گرید 5/6) و CO_2 (گرید 4/5)، گاز مرجع، محصولات شرکت لینده (باسنس، فرانسه) هستند. محلولها و محلولهای رقیق با آب دیونیزه شده شناسایی می‌شوند (الگا، باکس، انگلستان).

2.2 نمونه‌ها

بانک اطلاعاتی براساس نتایج آنالیز 35 میوه قابل اعتماد از خانواده مرکبات (10 لیموترش و 15 لیمو) خریداری شده در فروشگاه میوه و آب‌گیری شده در آزمایشگاه شکل گرفت. این 35 میوه از نقاط جغرافیایی مختلف آمدند: آرژانتین (5)، برزیل (5)، شیلی (2)، ایتالیا (5)، مکزیک (5)، اسپانیا (12) و ترکیه (1). 30 نوع آب لیموی تجاری آنالیز شد، 6 نوع آنها آب کنسانتره لیمو (ABC) و 24 نوع دیگر آب میوه خالص شناخته شدند. قبل از آنالیز، همه آب میوه رقیق (به نسبت 1 به 30) و فیلتر شده (0/45 میکرومتر) و نتایج حاصل میانگین دو اندازه‌گیری بود.

2.3 آنالیز دستگاهی

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC، Ultimate 3000، Dionex، Voision-le-Bretonneux، فرانسه) به یک اسپکترومتر جرمی نسبت ایزوتوپ (Iso Prime /Elementar، Villeurbanne، فرانسه)، از طریق یک سطح مشترک مایع (Liquiface، Iso Prime /Elementar) متصل شده و با علامت CO در نام اختصاری HPLC-co-IRMS مشخص شد زیرا اکسیداسیون شیمیایی ماده آلی را تضمین می‌کند. این سیستم به طور کامل در مقاله‌ای دیگر توضیح داده شده است (گویون و همکاران، 2011). نرم‌افزار Chromeleon سیستم HPLC، IRMS و محاسبه نسبت ایزوتوپ را که به طور اتوماتیک با نرم‌افزار Ion Vantage (V-1.3.6) انجام می‌شود، اجرا می‌کند.

2.4 تعیین نسبت ایزوتوپ

25 میکرولیتر از آب میوه‌های رقیق و فیلتر شده به طور اتوماتیک در ستون کربوهیدرات (Alltech) 700CH، 300×6/5mm، اپرنون، فرانسه) ریخته شد و تا دمای 80°C گرم شد. نرخ رقیق کردن بر روی 0/4 mL min⁻¹ (رقیق‌سازی با آب دیونیزه شده) تنظیم شد. محلول رقیق شده از طریق یک شیر سه طرفه با محلولی از پرسولفات (15٪ جرمی) و ارتوفسفریک اسید (2/5٪ حجمی) به وسیله یک پمپ حلقوی در نرخ جریان 0/6 mL min⁻¹، همگن شد؛ سپس مخلوط در دمای 93°C گرم شد و به اکسیداسیون مولکولهای آلی استخراج شده انجامید. پس از خنک کردن محلول، CO₂ تولید شده از مرحله اکسیداسیون با استفاده از یک لوله PTFE متخلخل با دانسیته بالا (8-60) (قطر داخلی 1mm، ضخامت دیواره 0/4mm، اندازه روزنه 2 میکرومتر، شرکت مهندسی پلیمر بین‌المللی، تمپه، آریزونا، آمریکا) از محلول آبی استخراج شده و توسط هلیوم بر روی سطح بیرونی جاری شد. این مخلوط (هلیوم، CO₂ و بخار آب) برای خشک کردن گاز قبل از آنالیز IRMS از غشای نافیون عبور می‌کند. جریانهای هلیوم

در 15 و 50mL min^{-1} به ترتیب برای استخراج CO_2 و خشک کردن گاز تنظیم شد. محلولهای استخراج شده در طی 1 ساعت جوشیدن هلیوم هواگیری شده و سپس تحت اتمسفر هلیوم نگهداری شدند. مدت زمان کلی یک آنالیز منحصر به فرد 1350 ثانیه است. افزایش شدت جریان فیلامنت ($+300\mu\text{A}$) به طور اتوماتیک در 600 ثانیه پس از تولید پیک CO_2 حاصل از اکسیداسیون اسیدهای آلی به وقوع پیوست.

2.5 محاسبه

جرمهای اندازه گیری شده (m/z)، 44 و 45 برای $^{12}\text{C}^{16}\text{O}_2$ و $^{13}\text{C}^{16}\text{O}_2$ هستند. نسبتهای ایزوتوپ، $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ، به صورت انحرافهای نسبی % δ در مقابل استاندارد بین المللی، (Vienna-Pee Dee Belemnite) V-PDB براساس رابطه زیر بیان می شوند:

$$\delta^{13}\text{C}_s(\%) = \left[\left(\frac{R_s}{R_{st}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

که در آن R نسبت ایزوتوپ $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ نمونه ها (s) و استاندارد بین المللی (st) می باشد. در ادامه، همه داده های ایزوتوپی، $\delta^{13}\text{C}$ ، به صورت V-PDB vs % بیان می شوند.

3 نتایج و بحث

سیستم HPLC-co-IRMS برای اعتبارسنجی آب لیمو به کار گرفته شد، چنانکه HPLC جداسازی ترکیبات و IRMS اندازه گیری نسبت ایزوتوپ کربن 13 ($\delta^{13}\text{C}$) را با سطح مشترک Liquiface انجام داده و اکسیداسیون شیمیایی (CO) ماده آلی استخراج شده را تامین می کند. محدودیت اصلی چنین سیستمی از استخراج سرچشمه می گیرد که نیاز به انجام شدن با آب دارد: حلالهای آلی نمی توانند استفاده شوند زیرا در سطح مشترک اکسید می شوند و موجب پوشانده شدن اطلاعات خواسته شده می گردند. با توجه به این نکته، انتخاب ستون کروماتوگرافی محدود می شود: یک ستون کربوهیدرات با استخراج آب در 80°C جداسازی خوبی را برای کربوهیدرات ارائه می کند اما وضوح نسبتاً ضعیفی را برای ترکیبات اسیدی آلی به ارمغان می آورد. در نتیجه پیکهای دو اسید آلی عمده، مالیک و سیتریک اسید، ادغام شده و نامتقارن هستند. در ادامه، کلمه اسیدهای آلی به سیتریک و مالیک اسید اشاره دارد چرا که در اکثر نمونه ها سیگنال اساساً مربوط به سیتریک اسید است زیرا غلظت آن می تواند تا 105 برابر بیشتر از مالیک اسید باشد (جدول S-1)؛ این مقادیر که توسط الکتروفورز موئینه تعیین شد (شرایط آزمایشگاهی در چاوت، پولیت و مدینا، 2001؛ چابری و همکاران، 2008) با محدوده نسبت مالیک اسید/سیتریک

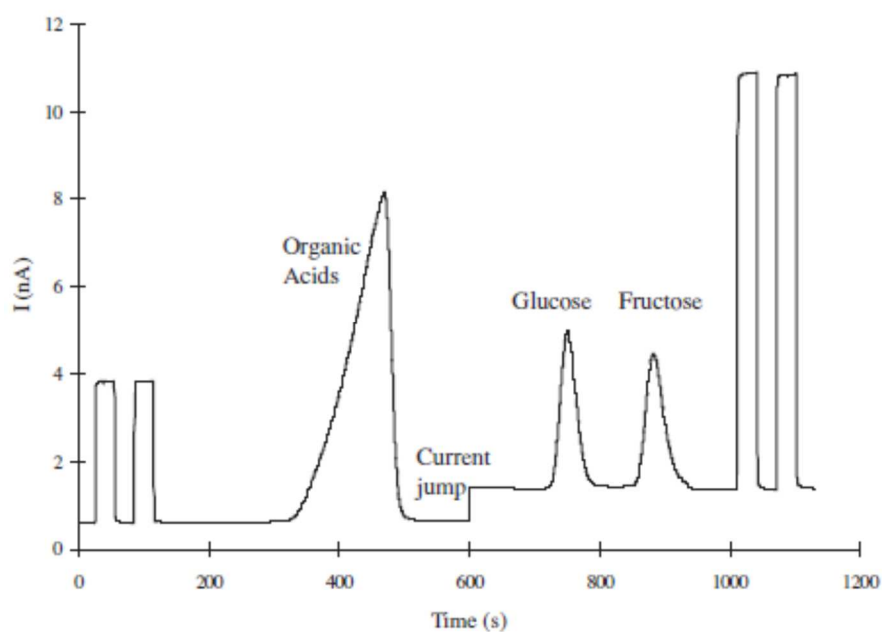
اسید که قبلاً توضیح داده شد، سازگار است (سوسی و همکاران، 2000؛ آفنور، 1986). آزمایشهای گذشته همیشه با آب کمی اسیدی با ستون مشخصه اصلاح شده انجام می‌شد، بنابراین برای ستون جدید، یک مرحله آماده سازی (1 ساعت استخراج با محلول اسیدی $[H_2SO_4] = 3mmol$) برای بازتولید نتایج این مطالعه یک پیش‌نیاز است. این آماده‌سازی خواص ستون را به صورت هیدرولیز لحظه‌ای که در مونوساکارید مشاهده می‌شود تغییر می‌دهد؛ در نتیجه، سیگنال ساکاروز در کروماتوگرام مشاهده نمی‌شود زیرا این ماده به گلوکز و فروکتوز هیدرولیز شده است (شکل 1). این یک محدودیت به حساب نمی‌آید زیرا آنالیز آب لیموهای تجاری با ستون NH_2 (5 میکرون، $250 \times 4/6mm$ ، استخراج استونیتریل- آب، 75/25 حجمی/حجمی) با استفاده از یک انکسارسنج به عنوان شناساگر هیچ ساکاروز دیگری را شناسایی نکرد: این امر نشان‌دهنده هیدرولیز کامل ساکاروز به گلوکز و فروکتوز در طی پروسه آماده‌سازی آب میوه است. در شکل 1، سیگنال گلوکز و فروکتوز حاصل انطباق گلوکز و فروکتوز سنتز شده طبیعی و به دست آمده از ساکاروز طبیعی هیدرولیز شده است. مقادیر تکرارپذیری و بازتولید $\delta^{13}C$ اجرا شده بر روی پیک اسیدهای آلی، به ترتیب 0/27% و 0/41% تعیین شد. علاوه بر این، دقت و خطی بودن این روش با مطالعه اثر تغییر غلظت بر نسبتهای $\delta^{13}C$ با یک محلول سنتز شده دارای سیتریک اسید، گلوکز و فروکتوز تایید شده است (شکل S-1). در محدوده غلظت 0/5 - 2/5g/L، نسبت $\delta^{13}C$ سه ترکیب (با محاسبه خطای آزمایش) مربوط به مقدار هدف به وسیله EA-IRMS تعیین شد.

جدول 1. مقادیر $\delta^{13}C$ آب لیمو و آب لیمو ترش تهیه شده از منابع جغرافیایی مختلف و آب گیری شده در آزمایشگاه (% vs V-)

(PDB)

نمونه	منبع	اطلاعات	$\delta^{13}C$ (‰)		
			اسیدهای آلی	گلوکز	فروکتوز
A1	آرژانتین	لیمو	-29/20	-27/20	-29/22
A2	آرژانتین	لیمو	-28/26	-26/10	-26/59
A3	آرژانتین	لیمو	-28/16	-25/92	-28/82
A4	آرژانتین	لیمو	-28/99	-25/87	-28/57
A5	آرژانتین	لیمو	-27/02	-25/18	-26/24
A6	برزیل	لیمو ترش	-23/45	-21/48	-24/06
A7	برزیل	لیمو ترش	-24/76	-22/49	-24/88
A8	برزیل	لیمو ترش	-23/75	-23/39	-23/56
A9	برزیل	لیمو ترش	-24/53	-22/47	-23/85
A10	برزیل	لیمو ترش	-24/22	-21/96	-24/07
A11	شیلی	لیمو	-27/41	-25/17	-27/66

-24/12	-23/74	-25/25	ليمو	شيلي	A12
-24/83	-22/30	-24/53	ليمو	ايطاليا	A13
-28/43	-25/95	-25/81	ليمو	ايطاليا	A14
-27/12	-26/67	-26/11	ليمو	ايطاليا	A15
-27/05	-26/35	-26/57	ليمو	ايطاليا	A16
-25/28	-23/70	-25/11	ليمو	ايطاليا	A17
-22/81	-21/02	-23/59	ليمو ترش	مکزیک	A18
-24/01	-21/78	-23/63	ليمو ترش	مکزیک	A19
-25/19	-22/97	-24/50	ليمو ترش	مکزیک	A20
-23/99	-21/87	-24/13	ليمو ترش	مکزیک	A21
-24/09	-22/19	-25/11	ليمو ترش	مکزیک	A22
-25/85	-23/64	-24/33	ليمو	اسپانيا	A23
-25/74	-23/67	-25/05	ليمو	اسپانيا	A24
-25/01	-22/36	-24/37	ليمو	اسپانيا	A25
-25/62	-24/09	-24/45	ليمو	اسپانيا	A26
-25/08	-22/78	-23/71	ليمو	اسپانيا	A27
-25/23	-21/85	-24/85	ليمو	اسپانيا	A28
-25/72	-25/14	-25/24	ليمو	اسپانيا	A29
-26/44	-25/93	-25/27	ليمو	اسپانيا	A30
-24/69	-24/51	-24/62	ليمو	اسپانيا	A31
-24/46	-22/08	-24/30	ليمو	اسپانيا	A32
-23/94	-21/10	-24/34	ليمو	اسپانيا	A33
-27/82	-26/03	-28/21	ليمو	اسپانيا	A34
-26/54	-25/12	-26/66	ليمو	ترکيه	A35

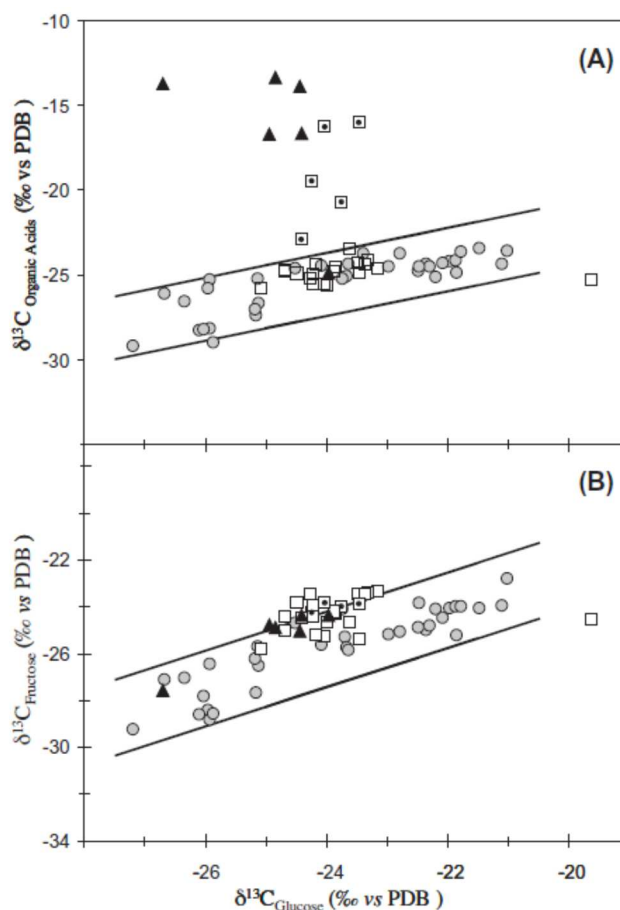


شکل 1. کروماتوگرام به دست آمده برای آب لیموها (رقیق‌سازی 1 به 30) آنالیز شده توسط HPLC-co-IRMS. جهش پیک با افزایش شدت جریان فیلامنت IRMS (+300 μ A).

در ماتریس غذایی، اندازه‌گیری همزمان نسبت‌های ایزوتوپ $\delta^{13}\text{C}$ در هر ترکیب به دلیل تفاوت‌های زیاد در نسبت غلظت می‌تواند دشوار باشد، یعنی اشباع پیک یا شدت سیگنال بسیار کم اتفاق می‌افتد. در آب لیمو، نسبت غلظت مواد قندی / سیتریک اسید در محدوده 3-57 می‌باشد (جدول S-1). نسبت غلظت بیشتر از 4 از تعیین همزمان مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ به دلیل اشباع پیک سیتریک اسید و یا شدت کم سیگنال مواد قندی براساس سطح رقیق‌سازی یا حجم وارد شده جلوگیری می‌کند. این مشکل با اعمال یک جهش جریان به وسیله مقایسه با جهش پیک استفاده شده در سایر کاربردهای IRMS برطرف شد. جهش پیک شامل تغییر میدان مغناطیسی و شدت تله جریان است که مطالعه مولکول‌های مختلف را میسر می‌سازد (به عنوان مثال N_2 و CO_2). به طور مشابه و برای اولین بار در ارتباط HPLC-co-IRMS، یک جهش جریان در طی مرحله کروماتوگرافی که تنها شامل افزایش در شدت تله جریان بود، اعمال شد. در طی استخراج آب لیمو، جهش 300 میلی‌آمپری در شدت تله جریان به فیلامنت اعمال شد که شدت را از 200 به 500 میلی‌آمپر رساند. میدان مغناطیسی با تغییر نسبت ایزوتوپ همان مولکول مطالعه شده، CO_2 تغییر نمی‌کند. این جهش جریان هنگامی که مقیاس زمانی بین سیتریک اسید و اولین ماده قندی استخراج شده بزرگ است، امکان‌پذیر می‌باشد؛ این جهش حساسیت IRMS را افزایش می‌دهد که اختلاف بین غلظت‌ها را جبران کرده و تعیین همزمان $\delta^{13}\text{C}$ در مواد قندی و سیتریک اسید را ممکن می‌سازد (شکل 1). هنگامی که شیر گاز مرجع پالسه‌های CO_2 مرجع استفاده شده برای تعیین کمی $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ فراهم می‌کند، دو پالس در ابتدا و انتهای انجام کار دستگاه به منظور تعیین نسبت ایزوتوپ گاز مرجع تحت شرایط دو اندازه‌گیری، یعنی پیش و پس از افزایش شدت جریان فیلامنت، نمایش داده می‌شود. در شکل 1، یک کروماتوگرام معمولی از آب لیموی استخراج شده در شرایط توضیح داده شده در بخش آزمایشگاهی نشان داده شده است، جدا شدن از خط مبنا، در 600s، نتیجه جهش شدت جریان فیلامنت است.

تحت این شرایط آزمایشگاهی، 25 نوع از مرکبات قابل اعتماد، 8 نوع لیمو ترش و 17 نوع لیمو، که از یک فروشگاه محلی خریداری شده و در آزمایشگاه آبگیری شد، آنالیز گردید. این مرکبات، از نقاط جغرافیایی مختلف تهیه شدند. برای هر نمونه، از تکنیک HPLC-co-IRMS به منظور تعیین نسبت ایزوتوپ $\delta^{13}\text{C}$ در سیتریک اسید، گلوکز و

فروکتوز استفاده شد. نتایج مرکبات قابل اعتماد در جدول 1 آمده است. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در اسیدهای آلی در محدوده $-29/20$ ‰ تا $-23/45$ ‰ است که با مطالعات قبلی مطابقت دارد (جامین و همکاران، 1998a؛ جامین و همکاران، 2005). محدوده مشابهی از مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ برای مواد قندی، گلوکز ($-27/20$ ‰ تا $-21/02$ ‰) و فروکتوز ($-29/22$ ‰ تا $-22/81$ ‰) به دست آمد. کاهش $1/8 \pm 0/9$ درصدی (محاسبه شده از جدول 1) در غلظت کربن 13 در ساختمان کربن فروکتوز قابل مشاهده است. $\delta^{13}\text{C}$ برای شکر کروی از نسبت منفرد گلوکز و فروکتوز محاسبه شد که در آن مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ به مقادیر گزارش شده در مقالات بسیار نزدیک است (جامین و همکاران، 1998a؛ جامین و همکاران، 2005). داده‌ها بر روی دو گراف ادغام شده در شکل 2 رسم شده‌اند که رابطه بین نسبتهای $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و اسیدهای آلی (شکل 2A) و مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و فروکتوز (شکل 2B) را نشان می‌دهد. از این داده‌ها، با توجه به سطح اطمینان 95٪ و معادله $y = ax + (b \pm 2s)$ ، محدوده اطمینان لیمو تعیین می‌شود: که در آن a و b ضرایب رگرسیون خط اطمینان نمونه‌ها، s مربوط به انحراف استاندارد اختلاف بین مقادیر y مشاهده شده و بازتولید شده می‌باشد (جامین، گورین، رتیف، لیز و مارتین، 2003). هر نمونه با نسبت $\delta^{13}\text{C}$ خارج از این محدوده باید به یک ترکیب نوع C4، ماده قندی یا اسید آلی ضمیمه شود.



شکل 2 تغییرپذیری $\delta^{13}\text{C}$ برای آب لیموها: نمایش رابطه بین نسبت‌های $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و سیتریک اسید (A) و رابطه بین نسبت‌های $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و فروکتوز (B). نشانه‌ها: لیموی قابل اعتماد آب گیری شده، (مربع توخالی) آب میوه خالص تجاری، (مثلث توپر) آب میوه‌های تهیه شده از کنسانتره. نقطه‌ها اجازه دنبال کردن موقعیت را برای بعضی از نمونه‌های تجاری را می‌دهد. خطوط مربوط به محدوده‌های اطمینان 95٪ هستند.

مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در 30 نمونه آب لیموی تجاری تعیین شد و نسبت ایزوتوپ آنها با لیموهای قابل اعتماد مقایسه شد. از بین این 30 نوع آب میوه، 6 نوع از آنها از کنسانتره (ABC) تهیه شده و 24 نوع نیز به عنوان آب میوه خالص شناخته شدند. بر روی برچسب این 30 نوع آب میوه، میزان افزودنی سیتریک اسید و مواد قندی ذکر نشده بود. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ اسیدهای آلی، که در جدول 2 گزارش شده است، در محدوده $-25/53\%$ تا $-13/72\%$ می‌باشد. برخی از این نسبتها برای سیتریک اسید درونی بسیار زیاد است، یعنی افزودن اسیدهای آلی از نوع C4 باید اتفاق افتاده باشد. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و فروکتوز، برای آب میوه‌های تجاری، در محدوده $-27/56\%$ تا $-19/62\%$ است. نسبت ایزوتوپ $\delta^{13}\text{C}$ بالاتر نشان‌دهنده وجود مواد قندی بیشتر است. نتایج این نمونه‌های تجاری در شکل 2 با داده‌های لیموهای قابل اعتماد در نموداری به تصویر کشیده شده که اثر افزودن اسیدهای آلی C4 یا مواد قندی را بر روی نسبت‌های ایزوتوپ نشان می‌دهد. 5 نمونه ABC و 5 نمونه آب میوه خالص موجود دارای نسبت $\delta^{13}\text{C}$ بسیار بالاتر از مقدار مورد انتظار و خارج از محدوده سطح اطمینان 95٪ هستند. یعنی برای این 10 نمونه مشخصه افزودن اسیدهای آلی بر روی برچسب حذف شده است. در شکل 2A، یک نمونه نسبت $\delta^{13}\text{C}$ بالاتری در مقایسه با مقدار مورد انتظار دارد. ساکاروز نوع C4 اضافه شده می‌تواند شک برانگیز باشد. اما در شکل 2، نسبت $\delta^{13}\text{C}$ در فروکتوز این نمونه با نسبت‌های ایزوتوپ فروکتوز لیموی قابل اعتماد قابل مقایسه است. بنابراین، این آب لیمو باید با شربت گلوکز تکمیل شده باشد، این افزودنی بر روی برچسب ذکر نشده است. در شکل 2B، اکثر مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در آب میوه‌های تجاری گروه‌بندی شده و 10 تای آنها کمی خارج از سطح اطمینان هستند. افزودن مقدار کمی شربت فروکتوز نیز مشکوک است. این تردید با شباهت در مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در گلوکز و فروکتوز (جدول 2) تقویت می‌شود چرا که معمولا در آب میوه‌های قابل اعتماد که یک شکاف $1/8 \pm 0/9$ درصدی وجود دارد، مشاهده نمی‌شود. این افزودنی فروکتوز بر روی نسبت غلظت فروکتوز/ گلوکز اثر قابل توجهی ندارد چرا که میزان اضافه شده در محدوده عدم قطعیت HPLC (حدود 10٪) می‌باشد. این مشاهده قدرت اندازه‌گیری ایزوتوپ برای تشخیص نوع C4 افزودنی

مواد قندی حتی در مقدار کم را اثبات می‌کند. در شکل 2، نمونه‌های تجاری آب میوه‌های خالص که با اسیدهای اضافه شده تکمیل شده‌اند با یک نقطه در نشانه‌ها مشخص می‌شوند. به نظر می‌رسد که در بین این 5 نمونه تجاری، به 2تای آنها مواد قندی اضافه شده باشد زیرا نسبت‌های $\delta^{13}\text{C}$ فروکتوز آنها کمی خارج از سطح اطمینان است. یک نتیجه مشابه می‌تواند برای آب میوه‌های ABC ارائه شود زیرا 2تای آنها با اسیدهای آلی تکمیل شده و نسبت $\delta^{13}\text{C}$ فروکتوز آنها کمی خارج از محدوده مورد انتظار است.

جدول 2. مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ در آب لیموها و آب لیمو ترش تجاری (برحسب V-PDB vs %).

$\delta^{13}\text{C}$			منبع	نمونه
فروکتوز	گلوکز	سیتریک اسید		
-24/54	-19/62	-25/35	ایتالیا	C1
-23/39	-23/32	-24/11	ایتالیا	C2
-23/49	-23/37	-24/41	ایتالیا	C3
-24/67	-23/61	-23/42	ایتالیا	C4
-24/00	-23/75	-20/72	ایتالیا	C5
-25/28	-24/02	-25/56	ایتالیا	C6
-25/37	-23/47	-24/85	ایتالیا	C7
-24/65	-24/00	-25/59	ایتالیا	C8
-24/44	-24/21	-25/53	ایتالیا	C9
-23/84	-24/02	-16/25	ایتالیا	C10
-23/88	-23/46	-16/04	ایتالیا	C11
-24/24	-24/24	-19/47	سیسیل	C12
-23/35	-23/16	-24/67	سیسیل	C13
-23/48	-23/48	-24/31	سیسیل	C14
-24/50	-24/42	-22/89	سیسیل	C15
-24/22	-23/88	-24/75	سیسیل	C16
-25/18	-24/19	-24/37	سیسیل	C17
-23/85	-24/49	-24/92	سیسیل	C18
-23/94	-24/21	-24/97	سیسیل	C19
-23/49	-24/25	-25/23	سیسیل	C20
-25/05	-24/68	-24/79	نامشخص	C21
-24/32	-23/85	-24/54	نامشخص	C22
-24/45	-24/67	-24/69	نامشخص	C23
-25/80	-25/07	-25/81	نامشخص	C24
-27/56	-26/70	-13/72	ایتالیا	ABC1
-24/37	-23/97	-24/85	ایتالیا	ABC2
-24/78	-24/94	-16/67	ایتالیا	ABC3
-24/35	-24/42	-16/65	ایتالیا	ABC4
-24/88	-24/85	-13/36	سیسیل	ABC5

25/03-	24/44-	13/86	نامشخص	ABC6
--------	--------	-------	--------	------

4. نتیجه

ترکیب HPLC-co-IRMS ابزاری قدرتمند برای تایید صحت و سلامت غذاست، زیرا این سیستم ترکیبی از جداسازی مواد تشکیل دهنده محصول به وسیله HPLC و تعیین نسبت ایزوتوپ کربن 13 آنها را ارائه می‌کند. این تکنیک برای آب لیموها به منظور تعیین صحت اسیدهای آلی و مواد قندی به کار می‌رود. همان‌طور که معمولاً اتفاق می‌افتد، اختلافهای غلظت از تعیین نسبت همزمان $\delta^{13}\text{C}$ جلوگیری می‌کند. برای غلبه بر این مشکل، یک جهش پیک در طی استخراج کروماتوگرافی اعمال شد: افزایش در شدت جریان فیلامنت برای افزایش حساسیت اعمال شد که تعیین همزمان مقادیر اسیدهای آلی و مواد قندی را میسر می‌سازد. مجموعه‌ای از 35 نوع لیمو، که در آزمایشگاه آبگیری شد، برای به دست آوردن یک مدل مرجع استفاده شد. یک رابطه همبستگی بین مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ اسیدهای آلی و مواد قندی یافت شد که تعریف یک سطح اطمینان برای آب لیموهای معتبر را ممکن ساخت. 30 نمونه تجاری بدون برچسب افزودنی سیتریک اسید و مواد قندی با این مدل مقایسه شدند. اگر اکثر نمونه‌ها در محدودیتهای تعریف شده باشند، برای 10 تای آنها، مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ یک اسید آلی نوع C4 و برای یک نوع آب میوه، افزودنی گلوکز C4 را نشان می‌دهد. علاوه بر این برای 12 نمونه دیگر، 2 آب میوه ABC و 10 آب میوه خالص، تردیدی درباره فروکتوز نوع C4 می‌تواند وجود داشته باشد. به نظر می‌رسد از بین آنها، 4 نوع آب میوه (2 نوع ABC و 2 نوع آب میوه خالص) با اسیدهای آلی و مواد قندی تکمیل شده‌اند. همه این نمونه‌ها با قوانین اتحادیه اروپا مطابقت ندارند که نیاز به ذکر شدن بر روی برچسب به عنوان مواد افزودنی تکمیلی دارند و همچنین باید از افزودن همزمان اسیدهای آلی و مواد قندی جلوگیری شود. علاوه بر این نتایج، به نظر می‌رسد کنترل افزودن ترکیبات نوع C3 مهم است. این تحقیق علاوه بر IRMS به محلولهای دیگری نظیر اندازه‌گیریهای NMR دوتریوم نیاز دارد (گونزالس و همکاران، 1998). با این حال، HPLC-co-IRMS می‌تواند به عنوان یک روش آزمایشی برای تخمین سریع محصولات اضافه شده نوع C4 استفاده شود زیرا این روش برای آنالیز کنترل عادی قابل اجراست.

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