

اندازه‌گیری آکریل‌آمید در برخی فراورده‌های سرخ‌کردنی موجود در سطح شهر ارومیه به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا: یک مطالعه تجربی

محمدرضا وردست^۱، ناصر رنجکش‌زاده^۲، خسرو قاسملوی^۳، هانیه رنجکش‌زاده^۴

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۱۲/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۸/۰۲/۰۸

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: آکریل‌آمید یک ماده شیمیایی آلی با فرمول C_3H_5NO است که اثرات سرطان‌زایی و ایجاد عیوب باروری در جنس مذکر آن در حیوانات و صدمات عصبی آن در انسان شناخته شده است. این ترکیب سرطان‌زا از حرارت دیدن کربوهیدرات‌ها و غذاهایی که در درجه حرارت بالا پخته شده‌اند ایجاد می‌شود. آکریل‌آمید هم در غذاهای اصلی مانند نان و سیب‌زمینی و هم در محصولات خاصی مانند چیپس، بیسکویت و غیره می‌تواند وجود داشته باشد. متوسط جذب روزانه این ماده در بدن مردان و زنان به ترتیب ۰/۴۹ و ۰/۴۶ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تخمین زده شده است. با توجه به ضرورت اندازه‌گیری این ترکیب در معاونت دارو و غذا و عدم وجود متدی در این مرکز برای اندازه‌گیری این ترکیب با امکانات موجود در دانشگاه تعریف و پیاده شد. در این طرح آکریل‌آمید موجود در نمونه‌ها ابتدا توسط کارتریج اصلاح‌شده استخراج و پیش‌تغلیظ شده و سپس توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد.

مواد و روش کار: در مطالعه تجربی حاضر که به صورت میدانی صورت گرفت انواع نان، بیسکویت، چیپس و شکلات از فروشگاه‌های شهر تهیه شده و پس از استخراج آکریل‌آمید موجود در نمونه‌های ذکر شده بر اساس متدهای موجود در مقالات علمی توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) به همراه دکتور UV مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج حاصل از اندازه‌گیری آکریل‌آمید در چهار نوع فرآورده شامل چیپس، نان، شکلات و بیسکویت با ۱۰ نمونه از هر برند انجام شد و نتایج نشان‌دهنده آن است که در برخی نمونه‌های چیپس و بیسکویت‌های کاکائویی و نان بربری نسبت مقادیر بالاتری آکریل‌آمید وجود دارد ولی اکثر آن در حد مجاز بوده و بیشترین میزان آکریل‌آمید در چیپس مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج قابل‌انتظار نشان می‌دهد که در اکثر نمونه‌ها میزان آکریل‌آمید در حد مورد قبول بوده و این متد به راحتی قادر به اندازه‌گیری آکریل‌آمید با هزینه بسیار پایینی در مقایسه با متد GC-MS می‌باشد و قابل پیاده‌سازی در آزمایشگاه با یک دستگاه HPLC با دکتور UV می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: آکریل‌آمید، فرآورده‌های سرخ‌کردنی، کروماتوگرافی

مجله پزشکی ارومیه، دوره سی‌ام، شماره سوم، ص ۲۱۶-۲۰۷، خرداد ۱۳۹۸

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی، تلفن: ۰۹۱۴۳۹۲۲۵۶

Email: mrvardast@gmail.com

مقدمه

پختن محصولات نانوبایی کباب‌کردن یا سرخ کردن در برخی غذاها، مخصوصاً مواد غذایی گیاهی غنی از کربوهیدرات و کم پروتئین ایجاد می‌شود. به نظر می‌رسد با افزایش زمان و دمای پخت مقدار آن در غذا افزایش می‌یابد. آکریل‌آمید از سال ۱۹۹۴ بر اساس طبقه‌بندی

آکریل‌آمید C_3H_5NO یک مولکول کوچک هیدروفیل است که برای تولید مواد پلی آکریل‌آمید بکار می‌رود. آکریل‌آمید طی پختن در درجه حرارت بالا (بالاتر از ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد) مثلاً هنگام

^۱ استادیار، شیمی تجزیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ کارشناسی ارشد، شیمی تجزیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۳ کارشناسی ارشد، شیمی تجزیه، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۴ گروه سم‌شناسی، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

مواد شیمیایی و دستگاه‌ها: مواد بکار رفته در این آزمایش با درجه خلوص تجزیه‌ای بودند که عبارت‌اند از: آکریل‌آمید، پتاسیم هگزا سیانو فرات، سولفات روی، سولفوریک اسید، متانول، که همگی از شرکت مرک (Merck) تهیه شده‌اند. متانول و استو نیتریل با درجه خلوص در حد کروماتوگرافی هم از شرکت مرک (Merck) تهیه گردید.

تجهیزات آزمایشگاهی بکار رفته عبارت‌اند از:

دستگاه HPLC ساخت شرکت UV detector CE
CECIL Chromatography system manager CE, 4300
4900

ترازوی دیجیتال ساخت شرکت ACCULAB (مدل ALC) با
دقت ۰/۰۰۰۱ گرم

همزن مغناطیسی ساخت شرکت Pars Azma Co مدل ST۰۴
شیکر ساخت شرکت GFL Co مدل 3031
شیکر ساخت شرکت Bioer Co مدل Mixing block MB-
102

سانتریفیوژ ساخت شرکت Eppendorf Co مدل 5810
دستگاه آب دیونیزه کننده ساخت شرکت ELGA مجهز به
فیلتر LC 136

دستگاه pH متر ساخت شرکت Metrohm مدل pHlab۸۲۷

یافته‌ها

نمونه‌برداری:

در این مطالعه جامعه هدف ما فراورده‌های سرخ‌کردنی و جامعه مورد مطالعه ما فراورده‌های سرخ‌کردنی موجود در سطح عرضه ارومیه می‌باشد. در این طرح چیپس و نان لواش در انواع مختلف عرضه‌شده در سطح شهر ارومیه انتخاب و از هریک ۱۰ عدد تهیه و با سه بار تکرار اندازه‌گیری شد.

برای چگونگی اطمینان از روایی و پایانی روش‌ها، ابزار و نتایج، از استاندارد آکریل‌آمید به صورت رسم منحنی‌های کالیبراسیون و مقایسه میزان آکریل‌آمید در استانداردهای سایر کشورها استفاده می‌شود.

استخراج:

ابتدا ۱ گرم از هریک از نمونه‌های مورد آنالیز که همگن شده‌اند توزین و به داخل ظرف ۵۰ میلی‌لیتری (لوله فالكون دربدار) ریخته شد و سپس حدود ۳ میلی‌لیتر متانول ۱/۵ میلی‌لیتر آب اضافه و ۳۰ ثانیه هم زده شد و سپس ۱ میلی‌لیتر از هرکدام از محلول‌های CarrezI و CarrezII به منظور پاک‌سازی محیط به آن افزوده گردید. سپس محتوی هر ظرف به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شیکر شده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت

آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) به‌عنوان عامل محتمل سرطان در انسان (Class2) برای اولین بار در سازمان ملی غذا در سوئد و دانشگاه استکهلم گزارش شد و مقادیر قابل توجهی از آکریل‌آمید در مواد غذایی با پایه نشاسته مانند چیپس، سیب‌زمینی سرخ‌شده و بیسکویت مشاهده شده است (۷-۱).

این ماده سمی به‌محض ورود به بدن تجزیه‌شده و ماده‌ای تولید می‌کند که می‌تواند با اثر روی DNA و ایجاد جهش در ژن‌ها موجب بروز سرطان، انواع عفونت‌ها، آسیب به سیستم ایمنی و عصبی شود. عوارض عصبی این سم شامل اختلال در هوشیاری، ضعف، تحریک‌پذیری و تغییرات رفتاری می‌باشد. اختلالات باروری، ناباروری و سقط، تحریک و قرمزی پوست و چشم‌ها از دیگر عوارض آکریل‌آمید است. در مورد اثر آکریل‌آمید بر سلامت عمومی ابهامات زیادی وجود دارد. مواجهه شغلی با مقادیر بسیار زیاد آکریل‌آمید باعث تخریب عصبی افراد شده است. در مطالعات مشاهده شده است که آکریل‌آمید در دوزهای بالا می‌تواند در حیوانات ایجاد سرطان کند به همین دلیل محققین پیشنهاد می‌کنند که در انسان نیز می‌تواند سرطان‌زا باشد (۸-۱۴).

مطالعات و بررسی‌های مستقل انجام شده توسط چندین گروه تحقیقاتی نشان داده است که مسیر اصلی تشکیل آکریل‌آمید در غذاهای حرارت دیده، مطابق واکنش میلارد بین گروه آمین آزاد اسیدآمینه آسپارین و یک منبع کربونیلی مانند قندهای احیاکننده است. بنابراین هر عاملی که بر واکنش میلارد اثر کند مانند، ماتریکس غذا، pH و زمان حرارت دهی می‌تواند بر تشکیل آکریل‌آمید مؤثر باشد. همچنین محیط حرارت دهی و مقدار پیش سازهای موجود در ماده اولیه یکی از عوامل مهم است. از آنجاکه قندهای احیاکننده و آسپارین، پیش سازهای اصلی آکریل‌آمید هستند، مقدار آن در ماده غذایی خام نقش مهمی را در تشکیل آکریل‌آمید در محصول نهایی دارد (۱۵، ۱۶).

روش‌های گوناگونی برای اندازه‌گیری آکریل‌آمید با دستگاه‌های گران‌قیمت مانند GC-MS و LC-MS (۱۷-۲۴) و با متدهای استخراج متفاوتی همچون استخراج به روش حلال پخشی (۲۵-۲۷) و موادی همچون گرافن اکسید (۲۸) صورت گرفته است ولی هریک با محدودیت‌هایی از جمله هزینه بالا و یا محدودیت دستگاهی همراه بوده است. با در نظر گرفتن مطالب فوق و اهمیت موضوع، تعیین مقادیر واقعی آکریل‌آمید در برخی فراورده‌های غذایی سرخ‌کردنی شهر ارومیه، امری مهم به حساب می‌آید. به همین جهت مطالعات علمی در این زمینه انجام شده و مقالات علمی منتشرشده در سایت‌های معتبر آکادمیک مورد بررسی و جستجو قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه‌های حقیقی مورد اندازه‌گیری شد و برای بررسی تکرارپذیری تغییرات درون روزی و بین روزی بررسی شد.

میزان آکریل‌آمید در چهار نوع محصول در بازار ارومیه شامل چیپس، نان، شکلات و بیسکوئیت بررسی شد. که در خصوص چیپس ۵ برند و از هر برند ۱۰ نمونه، در مورد نان سه نوع نان متداول انتخاب و از هر کدام ۱۰ نمونه، در خصوص شکلات ۵ برند و از هر برند هم ۱۰ نمونه و در آخر از بیسکوئیت ۷ برند از هر برند هم ۱۰ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت. که به ترتیب نتایج در جدول‌های ۴-۵-۶-۷ آورده شده است.

بررسی خطی بودن منحنی استاندارد:

پس از فراهم نمودن شرایط انجام آزمایش، ۲۰ میکرو لیتر از نمونه آکریل‌آمید استاندارد به ستون تزریق گردید و خروج نمونه از ستون توسط آشکارساز فرابنفش در طول موج ۲۰۲ نانومتر ردیابی گردید. با تزریق غلظت‌های مختلف آکریل‌آمید به سیستم، شدت پاسخ‌های متفاوتی نیز توسط آشکارساز حاصل می‌گردد که با کمک داده‌های به‌دست‌آمده، یک منحنی استاندارد برحسب شدت پاسخ آشکارساز نسبت به غلظت‌های مختلف محلول استاندارد آکریل‌آمید ترسیم می‌گردد. نتایج مربوط به این منحنی نشان‌دهنده وجود یک رابطه خطی بین غلظت ماده مؤثره و شدت پاسخ آشکارساز در محدوده ۰/۰۲ تا ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر است. مقدار ضریب همبستگی منحنی $R^2 = 0.999$ و معادله منحنی برابر $PA = 455.6C - 36.64$ حاصل شد. بنابراین با توجه به اندازه‌گیری‌های انجام‌گرفته در خصوص مقدار آکریل‌آمید در نمونه‌های چیپس، بیسکوئیت، شکلات و قهوه این منحنی کاملاً ایدئال و قابل‌اطمینان جهت ارزیابی مقدار آکریل‌آمید در انواع این محصولات موجود در بازار ایران محسوب می‌شود (شکل ۱).

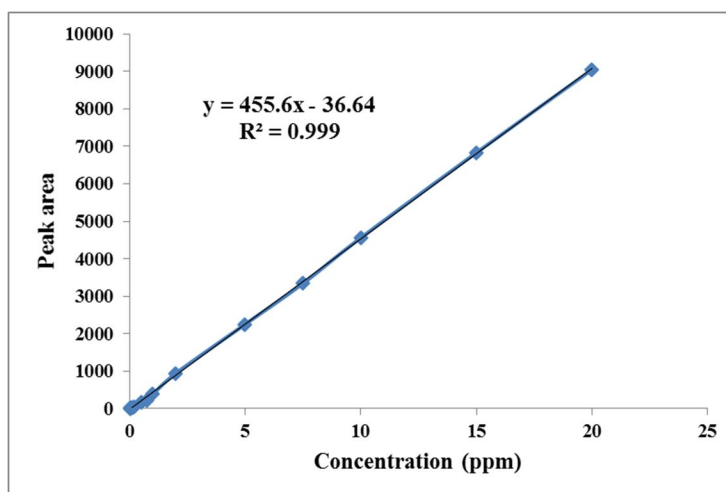
۴۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس توسط فیلتر صاف و حدود ۲۰ میکرولیتر از محلول‌های استخراجی به دستگاه کروماتوگرافی مایع با دتکتور UV در طول موج ۲۰۲ نانومتر با ستون C18 که از فاز متحرک استونیتریلی در بافر سولفات می‌گیرد تزریق شده و مورد دتکت قرار گرفت. و نتایج حاصل با نمونه‌های استاندارد مقایسه شد. (کاربیزیک: فرو سیانور پتاسیم، کاربیز دو: استات روی)

با تزریق غلظت‌های مختلف آکریل‌آمید به سیستم با کمک داده‌های به‌دست‌آمده یک منحنی استاندارد برحسب شدت پاسخ آشکارساز نسبت به غلظت‌های مختلف آکریل‌آمید ترسیم گردید. نتایج منحنی نشان‌دهنده وجود یک رابطه خطی بین غلظت ماده مؤثر و شدت آشکارساز در محدوده ۰/۰۲ تا ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر است. مقدار آکریل‌آمید در نمونه‌های چیپس، بیسکوئیت، شکلات و قهوه این منحنی کاملاً ایدئال و قابل‌اطمینان جهت ارزیابی مقدار آکریل‌آمید در انواع این محصولات موجود در بازار ایران محسوب می‌شود.

به‌منظور پایش تغییرات درون روز غلظت‌های محلول استاندارد آکریل‌آمید مورد بررسی به دو نمونه افزوده شد و نتایج ۳ بار تکرار اندازه‌گیری هر یک از نمونه‌های فوق در یک روز در جدول (۲) آورده شده است. در پایش تغییرات بین روز نیز همان تکرار، فقط نمونه‌ها در ۳ روز متوالی تکرار شد که در جدول (۳) آورده شده است. در پایش تغییرات بین روز در نمونه‌های حقیقی، ۹ نمونه استخراج از نمونه‌های چیپس در سه روز متوالی صورت گرفته و نتایج حاصل در جدول (۴) خلاصه شده است.

نتایج تعیین آکریل‌آمید در نمونه‌های حقیقی:

به دلیل حساسیت بالای روش کروماتوگرافی این روش برای آنالیز نمونه‌های استخراجی مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایشات نمونه‌ها پس از رسم منحنی استاندارد و استخراج از



شکل (۱): منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد آکریل‌آمید در محدوده غلظتی ۰/۰۲ - ۲۰ میلی‌گرم بر لیتر.

جدول (۱): شرایط آزمایشی بکار رفته با دستگاه HPLC

شرایط انتخابی	پارامتر
اکتا دسیل سیلان C18	فاز ساکن
۲۵ سانتی متر	طول ستون
استونیتریل حاوی ۰/۰۵ مولار اسیدسولفوریک	فاز متحرک
یک میلی‌لیتر بر دقیقه	سرعت جریان فاز متحرک
۲۵ درجه سانتی‌گراد	دمای ستون
طول موج جذبی ۲۰۲ نانومتر	طول موج‌های جذب و نشر
۲۰ میکرولیتر	حجم نمونه تزریقی

تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری:

برای تعیین حد حساسیت روش اندازه‌گیری، غلظت‌های مختلف از محلول استاندارد آکریل‌آمید تهیه‌شده و پس از انجام مراحل آماده‌سازی به دستگاه کروماتوگرافی تزریق گردید تا حد تشخیص نمونه توسط آشکارساز مشخص گردد. در این روش حد تشخیص ۰/۰۰۷ میلی‌گرم بر لیتر حاصل گردید.

بررسی دقت و صحت روش:

میزان دقت و صحت (تکرارپذیری نتایج) روش تجزیه‌ای انتخاب‌شده با محاسبه دقت و صحت نتایج حاصل از آنالیز نمونه

قابل ارزیابی است. به این منظور میزان تغییرات بین روز و درون روز از طریق محاسبه مقدار انحراف استاندارد و ضریب واریانس موردبررسی قرار می‌گیرد.

بررسی تغییرات درون روز:

به‌منظور پایش تغییرات درون روز، غلظت‌های مختلف محلول استاندارد آکریل‌آمید موردبررسی به دو نمونه افزوده شد و نتایج ۳ بار تکرار اندازه‌گیری هریک از نمونه‌های فوق در یک روز در جدول (۲) آورده شده است.

جدول (۲): نتایج مربوط به بررسی تغییرات درون روز غلظت‌های مختلف اضافه‌شده از محلول استاندارد آکریل‌آمید

نمونه	تعداد نمونه	میزان اسپایک ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	مقادیر به‌دست‌آمده ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	بازیافت (%)	انحراف استاندارد (μg)	انحراف استاندارد نسبی (%)
۱	۳	۰	۹۵/۶۵	-	۴/۲۱	۴/۳۴
۱	۳	۱۰۰	۱۸۴/۲۴	۸۸/۵۹	۱۰/۴۶	۶/۵۴
۱	۳	۳۰۰	۳۴۹/۰۴	۸۴/۴۶	۸/۱۴	۲/۳۱
۲	۳	۰	۲۲/۸۶	-	۲/۱۳	۹/۴۵
۲	۳	۵۰	۷۰/۸۶	۹۶/۰۰	۴/۶۸	۶/۵۶
۲	۳	۱۵۰	۱۷۱/۳۱	۹۸/۹۷	۶/۶۵	۳/۹۹

بررسی تغییرات بین روز:

به‌منظور پایش تغییرات بین روز، این بار نیز ۲ غلظت متفاوت محلول آکریل‌آمید موردبررسی قرار گرفتند. نتایج تکرار اندازه‌گیری

هریک از نمونه‌های فوق در ۳ روز متوالی در جدول (۳) آورده شده است.

جدول (۳): نتایج مربوط به بررسی تغییرات بین روز غلظت‌های مختلف محلول استاندارد آکریل‌آمید

نتایج آماری		۱۳۲۰-ml ng نمونه			۱۱۶۰-ml ng نمونه		
		روز اول	روز دوم	روز سوم	روز اول	روز دوم	روز سوم
میانگین (۱-ng ml)		۳۱۹/۲۳	۳۲۰/۵۴	۳۱۸/۲۴	۱۶۲/۲۱	۱۶۳/۵۴	۱۵۷/۳۴
انحراف استاندارد (۱-ml ng)		۷/۶۵	۶/۵۴	۷/۹۸	۳/۲۵	۶/۵۴	۶/۳۲
انحراف استاندارد نسبی (%)		۲/۳۵	۲/۲۱	۲/۶۵	۱/۳۲	۴/۰۱	۴/۱۱

بررسی تغییرات بین روز در نمونه حقیقی:

به منظور پایش تغییرات بین روز در نمونه‌های حقیقی، ۹ نمونه استخراج از نمونه‌های چیپس در سه روز متوالی صورت گرفته و نتایج حاصل در جدول (۴) خلاصه شده است.

جدول (۴): نتایج مربوط به بررسی تغییرات بین روز آکریل‌آمید در نه نمونه چیپس

نتایج آماری		روز اول	روز دوم	روز سوم
میانگین (۱-μg Kg)		۲۳۷/۳۲	۲۴۲/۵۶	۲۳۵/۶۵
انحراف استاندارد (۱-μg Kg)		۸/۲۳	۷/۳۳	۷/۱۲
انحراف استاندارد نسبی (%)		۳۶/۷۴	۳/۱۲	۳/۰۱

نتایج تعیین مقدار آکریل‌آمید در نمونه‌های حقیقی:

همان‌طور که در مقدمه اشاره شد، روش‌های متعددی برای اندازه‌گیری آکریل‌آمید وجود دارد که با توجه به حساسیت بالای روش کروماتوگرافی این روش برای آنالیز نمونه‌های استخراجی مورد استفاده قرار گرفت. در این آزمایشات نمونه‌ها پس از رسم منحنی استاندارد و استخراج از نمونه حقیقی مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

به منظور بررسی تکرارپذیری (دقت و صحت) سیستم و روش آنالیز، تغییرات درون روزی و بین روزی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. میزان آکریل‌آمید در چهار نوع محصول در بازار ارومیه مورد بررسی واقع شد که شامل چیپس، نان، شکلات و بیسکویت بودند. در خصوص چیپس ۵ برند انتخاب شده و از هر برند هم ۱۰ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۵ آمده است.

جدول (۵): میانگین آکریل‌آمید تولید شده در چیپس‌های مورد اندازه‌گیری

نمونه	بیشترین مقدار	کم‌ترین مقدار	میانگین ± انحراف استاندارد (μg kg-1)	تعداد نمونه
چیپس ۱	۳۵۰	۲۵۰	۵/۳۶ ± ۳۲۰	۱۰
چیپس ۲	۴۲۰	۳۵۰	۷/۳۶ ± ۴۵۰	۱۰
چیپس ۳	۵۸۰	۴۰۰	۱۰/۲۱ ± ۵۲۳	۱۰
چیپس ۴	۳۲۰	۲۵۰	۹/۲۱ ± ۲۸۰	۱۰
چیپس ۵	۸۹۰	۶۰۰	۱۲/۷۵ ± ۸۰۲	۱۰

در خصوص نان سه نوع نان متداول مورد استفاده انتخاب شده و از هر نوع هم ۱۰ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۶ آمده است.

جدول (۶): میانگین مقدار آکريل‌آميد توليد شده در نان‌هاى مورد اندازه‌گيرى

نمونه	بیشترین مقدار	کم‌ترین مقدار	میانگین \pm انحراف استاندارد ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	تعداد نمونه
نان سنگک	۱۳۲	۹۵	۳/۷۱ \pm ۱۲۱	۱۰
نان لواش	۳۰	۱۰	۲/۴۱ \pm ۲۲	۱۰
بربرى	۱۷۵	۱۲۴	۵/۷۶ \pm ۱۵۸	۱۰

در خصوص شکلات ۵ برند انتخاب شده و از هر برند هم ۱۰ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۷ آمده است.

جدول (۷): میانگین مقدار آکريل‌آميد توليد شده در شکلات‌هاى مورد اندازه‌گيرى

نمونه	بیشترین مقدار	کم‌ترین مقدار	میانگین \pm انحراف استاندارد ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	تعداد نمونه
شکلات ۱	۱۵۲	۱۳۰	۳/۳۷ \pm ۱۴۳	۱۰
شکلات ۲	۱۲۰	۱۰۵	۴/۴۸ \pm ۱۱۴	۱۰
شکلات ۳	۱۰۰	۸۸	۳/۱۳ \pm ۹۳	۱۰
شکلات ۴	۱۶۸	۱۲۳	۵/۶۵ \pm ۱۴۷	۱۰
شکلات ۵	۲۲۰	۱۷۵	۸/۲۶ \pm ۱۹۸	۱۰

در خصوص بیسکوئیت ۷ برند انتخاب شده و از هر برند هم ۱۰ نمونه مورد آنالیز قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۸ آمده است.

جدول (۸): میانگین مقدار آکريل‌آميد توليد شده در بیسکوئیت‌هاى مورد اندازه‌گيرى

نمونه	بیشترین مقدار	کم‌ترین مقدار	میانگین \pm انحراف استاندارد ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	تعداد نمونه
بیسکوئیت ۱	۲۳۰	۱۹۵	۷/۲۱ \pm ۲۰۸	۱۰
بیسکوئیت ۲	۲۱۰	۱۹۱	۵/۶۲ \pm ۱۹۷	۱۰
بیسکوئیت ۳	۲۳۴	۲۰۵	۸/۲۱ \pm ۲۱۶	۱۰
بیسکوئیت ۴	۲۱۹	۱۸۰	۶/۳۲ \pm ۱۹۵	۱۰
بیسکوئیت ۵	۴۲۰	۳۸۵	۱۰/۴۵ \pm ۴۰۳	۱۰
بیسکوئیت ۶	۴۸۰	۴۳۶	۸/۴۷ \pm ۴۵۴	۱۰
بیسکوئیت ۷	۵۱۲	۴۷۹	۹/۲۳ \pm ۴۹۵	۱۰

بحث و نتیجه‌گیری

روش‌هاى متعددى برای استخراج آکريل‌آميد استفاده می‌شود که به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند: استخراج با آب و استخراج با حلال‌هاى آلى. برای استخراج آکريل‌آميد هم بعد از استخراج آکريل‌آميد باید آکريل‌آميد در آخر با فاز آبی رقیق شود. حلال‌هاى متنوعی مانند اتیل استات، استون، دی‌اتیل اتر، دی‌کلرومتان مورد

استفاده قرار گرفته است. در کروماتوگرافی بعد از استخراج با آب، دی‌کلرومتان، ۲- بوتانول، n-بوتانول و پنتانول پیک‌هاى خیلی مزاحمی مشاهده می‌شود.

شرایط دستگاه HPLC بکار رفته در این آزمایش: فاز ساکن شامل اکتا دیسیل سیلان C18، طول ستون ۲۵ سانتی متر، فاز متحرک استونیتریل حاوی ۰/۰۵ مولار اسیدسولفوریک، سرعت

باشد. همچنین مشاهده شده است که در مورد محصولات نانا فزودن نمک‌های کلسیم مانند کلسیم کربنات یا کلسیم سولفات افزایش مدت تخمیر نان می‌تواند تولید آکریل‌آمید را کاهش دهد. در مورد سیب‌زمینی‌های سرخ کرده مشاهده شده است که بریدن سیب‌زمینی‌ها به صورت خلال‌های ضخیم‌تر می‌تواند در کاهش تولید آکریل‌آمید مفید باشد. روش بکار رفته به دلیل استفاده از دکتور UV دارای محدودیت‌هایی در زمینه عدم تشخیص برخی مواد مزاحم در محدوده جذب مورد نظر خواهد بود و لازمست تا از مواد استاندارد برای اطمینان از نتایج حاصل استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

برخود لازم می‌دانم از زحمات آقای دکتر رسول زرین تشکر و قدردانی نمایم.

References:

- Hogervorst J.G, Schouten L.J, Konings E.J, Goldbohm R.A and Van Den Brandt P.A, Dietary acrylamide intake and the risk of renal cell, bladder, and prostate cancer. *Am. J. Clin. Nutr* 2008; 87: 1428-38.
- food safety [Internet]. [cited 2019 Jun 18]. Available from: <https://www.who.int/error-pages/404>
- Commissioner O of the. Food Safety [Internet]. FDA. 2019 [cited 2019 Jun 18]. Available from: <http://www.fda.gov/about-fda/page-not-found>
- Nutrition C for FS and A. Acrylamide Questions and Answers. FDA [Internet] 2019 [cited 2019 Jun 18]; Available from: <http://www.fda.gov/food/chemicals/acrylamide-questions-and-answers>
- WHO | Acrylamide levels in food should be reduced because of public health concern says UN expert committee [Internet]. WHO. [cited 2019 Jun 18]. Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/notes/2005/np06/en/>
- جریان فاز متحرک یک میلی‌لیتر بر دقیقه دمای ستون ۲۵ درجه سانتی‌گراد، طول موج جذب ۲۰۲ نانومتر، حجم نمونه تزریقی ۲۰ میکرولیتر می‌باشد. و در آخر، برای کاهش آکریل‌آمید پیشنهاد می‌شود از قهوه‌ای شدن زیاد محصولات غلات و نانوائی خودداری شود. بر روی بسته‌های سیب‌زمینی نیم پخته باید ذکر شود که این محصول باید تا حد طلایی شدن سرخ گردد نه تا قهوه‌ای شدن و در مورد مدت و دمای پخت نیز باید راهنمایی‌های لازم صورت بگیرد. در صورت امکان در محصولات نانوائی به جای بیکربنات آمونیم از سایر عوامل اکسید کننده مانند سدیم هیدروژن کربنات استفاده شود.
- شایان ذکر است که در زمینه استفاده از عوامل اکسید کننده در مورد بیسکوئیت‌ها و کراکرها استفاده از جایگزین‌هایی مانند پتاسیم کربنات یا پتاسیم تارترات و یا دی‌سدیم بیکربنات بجای بیکربنات آمونیم گاهی می‌تواند در کاهش تولید آکریل‌آمید مؤثر
- Health Canada, Food and nutrition: Acrylamide, available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/securit/chem-chim/food-aliment/acrylamide/index-eng.php>
- ciaa.eu [Internet]. [cited 2019 Jun 18]. Available from: http://www.ciaa.eu/asp/documents/1.asp?doc_id=822
- Canada H. ARCHIVED - Major pathway of formation of acrylamide in foods and possible approaches to mitigation [Internet]. aem. 2005 [cited 2019 Jun 18]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/chemical-contaminants/food-processing-induced-chemicals/acrylamide/major-pathway-formation-acrylamide-foods-possible-approaches-mitigation.html>
- Commissioner O of the. Food Safety [Internet]. FDA. 2019 [cited 2019 Jun 18]. Available from: <http://www.fda.gov/about-fda/page-not-found>
- Naruszewicz M, Zapolska-Downar D, Komider A, Nowicka G, Kozowska-Wojciechowska M, Vikström AS and

- Törnqvist M Chronic intake of potato chips in humans increases the production of reactive oxygen radicals by leukocytes and increases plasma C-reactive protein: a pilot study. *Am J Clin Nutr* 2009; 89: 773-7.
11. water sanitation health [Internet]. [cited 2019 Jun 18]. Available from: https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/acrylamide/en/
 12. food safety [Internet]. [cited 2019 Jun 18]. Available from: <https://www.who.int/error-pages/404>
 13. Food Standards Agency [Internet]. Food Standards Agency. [cited 2019 Jun 18]. Available from: https://www.food.gov.uk/safereating/chemsafe/acrylamide_branch/acrylamide_study_faq/
 14. Canada H. ARCHIVED - Acrylamide levels in selected Canadian foods [Internet]. aem. 2007 [cited 2019 Jun 18]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/food-nutrition/food-safety/chemical-contaminants/food-processing-induced-chemicals/acrylamide/table-1-acrylamide-levels-some-cereals-potato-chip-products-sampled-various-dates-between-june-2002-january-2008-acrylamide-levels-selected.html>
 15. Anonymous. Catalogue [Internet]. Food Safety - European Commission. 2016 [cited 2019 Jun 18]. Available from: https://ec.europa.eu/food/safety/chemical_safety/contaminants/catalogue_en
 16. Zyzak D.V, Sanders R.A, Stojanovic M, Tallmadge, D.H, Eberhardt B.L, Ewald D.K, et al. Acrylamide formation mechanism in heated foods. *J. Agric. Food. Chem* 2003; 51: 4782-7.
 17. Khoshnam F, Zarga B, Poureza N. Aceton Extraction and HPLC Determination of Acrylamide in Potato Chips Iran. *Chem Soc* 2010; 7: 853-8.
 18. Sobhi HR, Ghambarian M, Behbahani M, Esrafil A. Application of modified hollow fiber liquid phase microextraction in conjunction with chromatography-electron capture detection for quantification of acrylamide in waste water samples at ultra-trace levels. *J Chromatogr* 2017;1487: 30-5.
 19. Cagliero C, Ho TD, Zhang C, Bicchi C, Anderson JL. Determination of acrylamide in brewed coffee and coffee powder using polymeric ionic liquid-based sorbent coatings in solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr* 2016;1449: 2-7.
 20. Nodeh HR, Ibrahim WAW, kamboh MA, Sanagi MM. Magnetic graphene sol-gel hybrid as clean-up adsorbent for acrylamide analysis in food samples prior to GC-MS. *Food Chem* 2018; 239: 208-16.
 21. Norouzi E, Kamankesh M, Mohammadi A, Attaran A. Acrylamide in bread samples: Determining using ultrasonic-assisted extraction and microextraction method followed by gas chromatography-mass spectrometry. *J Cell Sci* 2018; 79: 1-5.
 22. Molina-Garcia L, Santos CSP, Melo A, Fernandes JO, Cunha SC, Casal S. Acrylamide in Chips and French Fries: a Novel and Simple Method Using Xanthidrol Its GC-MS Determination. *Food Anal Methods* 2015; 8: 1436-1445.
 23. Kim TH, Shin S, Kim KB, Seo WS, et al. Determination of acrylamide and glycidamide in various biological matrices by liquid chromatography-tandem mass spectrometry and its application to a

- pharmacokinetic study. *Talanta* 2015; 131: 46-54.
24. Omar MMA, Elbashir AA, Schmitz O. Determination of acrylamide in Sudanese food by high performance liquid chromatography coupled with LTQ Orbitrap mass spectrometry. *Food Chem* 2015; 176: 342-349.
25. Zhao H, Li N, Li J, Qiao X, Xu Z. Preparation and Application of Chitosan-Grafted Multiwalled Carbon Nanotubes in Matrix Solia-Phase Dispersive Extraction for Determination of Trace Acrylamide in Foods Through High-Performance Liquid Chromatography. *Food Anal. Methods* 2015; 8: 1363-71.
26. Zhang C, Cagliero C, Pierson SA, Anderson JL. Rapid and sensitive analysis of polychlorinated biphenyls and acrylamide in food samples using ionic liquid-based in situ dispersive liquid-liquid microextraction coupled to headspace gas chromatography. *J Chromatogr A* 2017; 1481: 1-11.
27. Faraji M, Hamdamali M, Aryanasab F, Shabaniyan M. 2-Naphthalenthiole derivatization followed by dispersive liquid-liquid microextraction as an efficient and sensitive method for determination of acrylamide in bread and biscuit samples using high-performance liquid chromatography. *J.Chromatogr* 2018; 1558: 14-20.
28. Zokaei M, Abedi AS, Kamankesh M, Shojaaee-Aliababadi S, Mohammadi A. Ultrasonic-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry as an efficient and sensitive method for determination of acrylamide in potato chips samples. *Food Chem* 2017; 234: 55-61.
29. Liu Y, Hu X, Bai L, Jiang Y, Qiu J, Meng M, Liu Z, Ni L. A molecularly imprinted polymer placed on the surface of graphene oxide and doped with Mn(II)-doped ZnS quantum dots for selective fluorometric determination of acrylamide. *Microchem. Acta* 2018; 185: 48.

EVALUATION OF ACRYLAMIDE IN SOME FRIED PRODUCTS MARKETED IN URMIA CITY BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHIA WITH EXPERIMENTAL METHOD

Mohammad Reza Vardast¹, Nasser Ranjkeshzadeh², Khosrow Ghasemlu³, Hanieh Ranjkeshzadeh⁴

Received: 20 Feb, 2018; Accepted: 28 Mar, 2018

Abstract

Background & Aims: Acrylamide is an organic chemical with C_3H_5NO , which has been known to have carcinogens and fertility defects in male animals, humans and human nerves. This carcinogenic compound can be produced by heating the carbohydrates and high temperature cooked foods. Acrylamide can also be found in the main foods such as bread and potatoes, as well as in certain products such as chips, biscuits and etc. The average daily intake of this substance in body for males and females was 0.49 and 0.46 grams per kilogram of body weight, respectively. In spite of the requirement to measure this composition in the Food and Drug Administration, there is no method at this center for measuring this composition with the facilities available at the university. In this acrylamide design, the samples were first extracted and preconcentrated with modified cartridges and then they were measured by high performance liquid chromatography (HPLC).

Materials & Methods: For this purpose, in this experimental method, a variety of breads, biscuits, chips and chocolates were prepared from the city supermarket and acrylamide extraction in the samples were measured using HPLC with UV detector.

Results: Measurement of acrylamide in four types of products including chips, bread, chocolate and biscuits with 10 samples of each brand indicated higher amounts of acrylamide in some samples of chips and cacao biscuits and barbaric bread. It should be mentioned that amounts of acrylamide were at the limit and the highest amount of acrylamide was found in chips.

Conclusion: Results indicated that acrylamide levels are acceptable in most samples and this method can easily measure acrylamide at a very low cost compared to the GC-MS method and can be implemented in the laboratory with an HPLC device with UV detector.

Keywords: Acrylamide, Fried products, Chromatography

Address: Department of Medicinal Chemistry, School of pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran.

Tel: (+98)9143922956

Email: mrvardast@gmail.com, vardast_m@umsu.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2019; 30(3): 216 ISSN: 1027-3727

¹ Department of Medicinal Chemistry, School of pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
(Corresponding Author)

² Central Laboratory, School of pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

³ Food and Drug Laboratories, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

⁴ Department of Toxicology, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran