

## اصلاح و معتبرسازی روش اندازه‌گیری کمی بلانکیت در نان سنتی بروش طیف‌سنجی نوری

مریم شفقی خامنه<sup>۱</sup>، ام لیلا مولوی<sup>۲</sup>، جواد ولیپور<sup>۳</sup> و علی اصغر حمیدی<sup>۴\*</sup>

تاریخ دریافت: ۹۶۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۶۹/۲۹

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد شیمی، مرکز تحقیقات ایمنی غذا - دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

<sup>۲</sup> استادیار گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

<sup>۳</sup> دانشجوی دکتری شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه تبریز

<sup>۴</sup> استادیار گروه شیمی دارویی، مرکز تحقیقات ایمنی غذا - دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\*مسئول مکاتبه: Email: hamidia@tbzmed.ac.ir

### چکیده

نان یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین غذاهایی است که به اشکال متنوعی از آن استفاده می‌شود که کیفیت و سلامت آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و نظارت مستمر ارگان‌های ذیربط بر تولید آرد و کیفیت پخت نان می‌تواند سلامت آن را تضمین کند. استفاده از جوش شیرین و بلانکیت (دی‌تیونیت سدیم) می‌تواند کیفیت نان را تحت‌تاثیر قرارداده و سلامت مصرف‌کنندگان را با مخاطره مواجه سازد. روش‌های کیفی برای تعیین مقادیر کم از بلانکیت کارآیی ندارند. لذا هدف از این مطالعه، ارائه یک روش کمی مناسب و معتبر برای اندازه‌گیری مقادیر کم بلانکیت می‌باشد. برای رسیدن به این هدف، روش کمی حذف شده استاندارد شماره ۲۶۲۸ سازمان ملی استاندارد انتخاب شده و دو اصلاح جزئی (انجام آزمایش بر روی خمیر نان و استفاده از محلول رزآنیلین تازه تهیه شده) در آن انجام گرفت. در بخش عملی بر روی نمونه‌های خمیر نان، استاندارد بلانکیت اسپایک‌شده و مقدار آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. با توجه به نتایج حاصل از (منحنی استاندارد و اعتباربخشی که  $R^2 = 0.999$ ، در صد ریکاوری در فاکتور صحت برای دو نمونه اسپایک‌شده بترتیب ۸۹/۸۰۵ و ۱۰۳/۳، دقت روش برای سه نمونه انتخابی که بترتیب ۰/۳۲۹، ۰/۲۴۲ و ۰/۲۰۳ بودند و با توجه به مقدار  $LOQ = 0.05 \text{ ppm}$ )، می‌توان نتیجه گرفت که این روش یک روش معتبر، دقیق، خطی بوده و از صحت و حد تشخیص کمی بالایی برخوردار است.

واژگان کلیدی: بلانکیت، معتبرسازی، نان، طیف‌سنجی نوری، اصلاح

### مقدمه

جوش شیرین (بی‌کربنات سدیم) و بلانکیت (سدیم دی‌تیونیت با فرمول بسته  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ ، و  $E = -0.66 \text{ V}$ ) می‌تواند کیفیت نان را تحت‌تاثیر قرارداده و سلامت آن را با مخاطره مواجه سازد. بلانکیت ماده‌ای با خاصیت سفیدکنندگی است که در صنایع نساجی و قندریزی بکار

نان یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین غذاهایی است که به اشکال متنوعی از آن استفاده می‌شود که کیفیت و سلامت آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده و نظارت مستمر ارگان‌های ذیربط بر تولید آرد و کیفیت پخت نان می‌تواند سلامت آن را تضمین کند. استفاده از

بلانکیت با وزن مولکولی ۱۷۴/۱۰۷ گرم دارای خاصیت احیاکنندگی بوده و ممکن است با اکسیدکننده‌هایی مثل اسیدهای قوی و سدیم کلریت واکنش دهد که طی آن گاز دی‌اکسیدگوگرد حاصل می‌شود. با توجه به ویژگی‌های شیمیایی این ترکیب از جمله خاصیت احیاکنندگی آن، به نظر می‌رسد این ترکیب برای سلامت انسان مضر باشد. بررسی داده‌های موجود در برگه‌های ایمنی مواد (MSDS) و تحقیقاتی که توسط محققین انجام گرفته، نشان می‌دهد که تماس با بلانکیت موجب تحریک پوست و در نتیجه درماتیت، سوزش چشم شده و استنشاق آن موجب بروز بیماری‌های متعددی از جمله در دستگاه گوارش، دستگاه عصبی و قلب و عروق می‌گردد.

با استناد به نتایج یک کار تحقیقاتی زیست محیطی که آلودگی زیست محیطی در اثر استفاده از سدیم‌دی‌تیونیت در صنایع نساجی نشان داده بود پیشنهاد گردید که به جای آن از ترکیب جایگزین دیگری استفاده شود (مکسی و همکاران ۲۰۱۲).

در یک بررسی دیگر ارتباط مستقیم بین آلودگی هوا و آسم در شش شهر ایتالیا گزارش شد که  $SO_2$  یکی از ترکیبات آنالیز شده در این مطالعه بود. (اوزارو و همکاران ۲۰۰۹). نتایج یک تحقیق دیگر نشان داد که واکنش‌های آلرژیک در خوکچه‌های هندی که تحت درمان با داروهای ضدالتهاب بودند و در معرض  $SO_2$  قرار گرفتند، افزایش می‌یابد (ریدل و همکاران ۱۹۹۲). همچنین محققان دیگری در طی بررسی خود دریافتند که  $SO_2$  آندوژن در بافت‌های زیادی از جمله معده توزیع شده و می‌تواند به عنوان یک سیگنال مولکول نقش ایفاء کند (لیمن و همکاران ۲۰۰۱). بر اساس نتایج یک تحقیق روی موش‌ها گزارش گردید که  $SO_2$  در موش‌ها یکی از عوامل اصلی در تخریب اکسیداتیو بافت‌های مختلف می‌باشد. (منگ و همکاران ۲۰۰۳). در بررسی اثر دی‌اکسیدگوگرد بر روی دیابت ملیتوس نشان داده شد که در موش‌های دیابتی شده‌ی که در معرض دی‌اکسیدگوگرد بودند نسبت به موش‌های دیابتی

می‌رود (میزا علیزاده و همکاران ۱۳۹۳). استفاده بلانکیت در نانوائی‌ها با اهداف متعددی صورت می‌گیرد که می‌توان به سفیدکردن نان، ورامدن آن و از همه مهمتر به تخریب شبکه گلوته‌ی نان اشاره کرد. فرایند تهیه نان از نظر شیمیایی دارای چهار مرحله مخلوط‌کردن، بهم‌زدن، تخمیر و پخت می‌باشد که با دخالت آب و آنزیم انجام می‌گیرد. مهمترین جزء نان‌های سنتی، آرد است که حدود ۷۵-۸۵ درصد آن را تشکیل می‌دهد. از اجزاء مهم دیگر آرد می‌توان به پروتئین‌های آن با اسیدآمین‌های بزرگ اشاره کرد از جمله گلوته‌ین‌ها و گلیادین‌ها (پریمو-مارتین و همکاران ۲۰۰۶). از بعد مولکولی به محض تشکیل خمیر، اجزاء آن شروع به برهم‌کنش با یکدیگر نموده و با تشکیل پیوندهای هیدروژنی و دی‌سولفیدی تشکیل شبکه گلوته‌ی می‌دهند که به خمیر استحکام بخشیده و نمک نیز به تشکیل شبکه گلوته‌ی کمک می‌کند. مخمر شامل آنزیم‌هایی است که نشاسته آرد را به اجزاء قندی آن تجزیه می‌کند. ابتدا نشاسته توسط آمیلاز به مالتوز تبدیل شده و در مرحله بعد آنزیم مالتاز آنرا به گلوکز تبدیل می‌کند و گلوکز نیز به عنوان منبع تغذیه مخمر عمل نموده و اتانول و کربن‌دی‌اکسید تولید می‌کند. کربن‌دی‌اکسید با تشکیل حباب، به ورامدن نان کمک کرده و شبکه گلوته‌ی از خروج آن از خمیر ممانعت به عمل می‌آورد (هایو بن و همکاران ۲۰۱۶).

ترکیبات طبیعی و سنتزی شیمیایی متعددی برای بهبود کیفیت نان بعنوان افزودنی در طی فرایند تهیه خمیر نان توسط نانوائیان به آن اضافه می‌شود که برخی از آنها موجب افزایش کیفیت نان می‌گردند (آذر باد و همکاران ۲۰۱۶). همچنین امروزه برخی از نانوائیان بغیر از بلانکیت برای انجام سریع فرایند تخمیر به آن سدیم‌بی‌کربنات یا جوش شیرین نیز اضافه می‌کنند که از محصولات این فرایند کربن‌دی‌اکسید می‌باشد که ورامدن خمیر را سرعت می‌بخشد. که البته افزودن آن مجاز نبوده و بهتر است که برای تکمیل فرایند تخمیر زمان کافی به آن داده شود.

### مواد و روش‌ها

ساکارز خالص، هیدروکسید سدیم، محلول اسید کلریدریک، محلول تیوسولفات سدیم، پودر نشاسته، محلول رزآنیلین کلراید اشباع، فرمالدئید، استاندارد سدیم‌دی‌تیونیت، محلول رقیق استاندارد سولفیت، از شرکت های معتبر مرک و سیگما خریداری شد.

دستگاه های استفاده شده عبارت بودند از: طیف سنج نوری ماوراءبنفش و مرئی مدل سیسیل کشور انگلیس، سانتریفوژ

### تهیه محلول رزآنیلین

یک گرم پارارزآنیلین کلراید به داخل بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته‌شده و تا نصف ظرف، آب مقطر اضافه گردید، در حین بهم‌زدن تا دمای ۵۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شد. سپس بالن با آب مقطر به حجم رسانده‌شده و محلول به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه انکوبه گردید. در مرحله بعد محلول حاصل توسط کاغذ صافی معمولی فیلترشده و به صورت تازه تهیه‌شده بعد از رنگ‌زدایی مصرف گردید. محلول رنگ‌زدایی‌شده رزآنیلین با افزودن ۴ میلی‌لیتر از آن و ۶ میلی‌لیتر از اسید کلریدریک غلیظ و به حجم رساندن آن در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه شد (استاندارد شماره ۲۶۲۸ ایران سال ۱۳۹۳).

برای تهیه محلول فرمالدئید، ۵ میلی‌لیتر از فرمالدئید ۳۷٪ وزنی در بالن ژوژه یک لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد.

### تهیه محلول ۱۰٪ ساکاروز

برای تهیه محلول ۱۰٪ ساکارز، ۱۰۰ گرم از ساکارز خالص بدون هیپوسولفیت سدیم را برداشته و با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد.

### تهیه محلول استاندارد بلانکیت

برای رسم منحنی کالیبراسیون غلظت‌های مشخصی از بلانکیت خالص مورد نیاز است. بهمین منظور ۲/۵ گرم از ماده خالص سدیم‌دی‌تیونیت به بالن ژوژه ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته و با محلول ساکارز ۱۰٪ به حجم

معمولی، فعالیت آنزیم دیسموتاز سوپراکسید افزایش می‌یابد (کیکال کینگ و همکاران ۲۰۰۷).

اعتباربخشی در روش‌های آنالیز مواد شیمیایی، بخش مهمی از توسعه و بهبود روش در اندازه‌گیری‌های کمی را تشکیل می‌دهد. در معتبرسازی روش، تست‌هایی طراحی می‌شوند که بتوانند در محدوده مورد نظر روش، علاوه بر نتایج دقیق و صحیح، خطی بوده و حد تشخیص مناسبی داشته باشند.

پارامترهای لازم برای اعتباربخشی روش‌های آنالیز توسط سازمان‌های بین‌المللی و استاندارد ایران متفاوت است. LOD کمترین میزان از آنالیت که در نمونه با روش بکارگرفته‌شده تشخیص داده می‌شود. LOQ کمترین میزان از آنالیت است که در نمونه با دقت و صحت مناسب بطور کمی اندازه‌گیری می‌شود. دقت بیانی از نزدیکی داده‌های حاصل از اندازه‌گیری با روش بکارگرفته‌شده در نمونه‌های همگن است. صحت پارامتری است که نشان‌دهنده نزدیکی مقدار اندازه‌گیری شده به مقدار واقعی نمونه است. خطی بودن و محدوده نیز از منحنی کالیبراسیون قابل استخراج است.

با توجه به مواردی که بیان شد. کنترل و اندازه‌گیری کمی بلانکیت با یک روش معتبر در نان‌های سنتی از اهمیت خاصی برخوردار است. لذا سازمان ملی استاندارد ایران در استاندارد ملی شماره ۲۶۲۸ در سال ۱۳۹۳ اندازه‌گیری بلانکیت را با دو روش کیفی و کمی تدوین کرد که روش کیفی آن برای مقادیر کمتر از ۱۰ ppm کاربرد ندارد و روش کمی مبتنی بر طیف‌سنجی نوری دارای مشکلات عملی متعددی بود (استاندارد ملی ایران ۱۳۹۳ شماره ۲۶۲۸). لذا در اصلاحیه سال ۱۳۹۵ برای انجام تحقیقات بیشتر و رفع مشکلات گزارش شده، تا یافتن جایگزین مناسب از استاندارد حذف گردید. بنابراین هدف از این مطالعه، انجام دو اصلاح در استاندارد فوق می‌باشد که یکی استفاده از محلول تازه تهیه شده و رنگبری شده رزآنیلین و دیگری استفاده از خمیرنان به عنوان نمونه به جای خود نان است.

<sup>2</sup> Limit Of Quantitation

<sup>1</sup> Limit Of Detection

استفاده از رابطه شماره ۱ زیر محاسبه شد که در آن: C = مقدار سولفیت بر حسب میکروگرم SO<sub>2</sub> در میلی‌لیتر و V = حجم تیو سولفات سدیم مصرفی است (استاندارد شماره ۲۶۲۸ ایران سال ۱۳۹۳).

$$\text{رابطه ۱} \quad C = (25 - V) \times 3.203 \times 2$$

### اعتبار بخشی روش

اعتبار روش با استناد به استانداردهایی که توسط موسسات بین‌المللی تعیین شده، حاصل می‌شود. به همین منظور پارامترهای خطی بودن، محدوده با استفاده از منحنی کالیبراسیون، صحت، دقت، LOD، LOQ با استفاده از فرمولهای ذکر شده در زیر محاسبه شده و هر کدام که در محدوده قابل قبول باشند نشان دهنده اعتبار روش بکار رفته در آزمون اندازه‌گیری بلانکیت در نان خواهند بود. برای بررسی فاکتور محدوده و خطی بودن روش از منحنی کالیبراسیون یا درجه‌بندی استفاده می‌شود، بدین نحو که محدوده مقدار حداقل و حداکثر غلظت کار شده بعنوان محدوده کار در نظر گرفته شد و در مورد فاکتور خطی بودن، هرچه قدر R<sup>2</sup> یا ضریب رگرسیون به یک نزدیکتر باشد بهتر است. برای بررسی فاکتور صحت روش، مقدار معینی از نمونه استاندارد بلانکیت بر روی نمونه افزوده و جذب آن در همان طول موج شد و از منحنی استاندارد، مقدار آن محاسبه گردید (سوارتز و همکاران ۱۹۹۷، بریدول و همکاران ۲۰۱۰). در مرحله بعد با توجه به مقدار اولیه اضافه شده، مقدار باز یافت شده از آن محاسبه شد. اگر این مقادیر باز یافت یا ریکواری شده بین ۱۰۰٪-۸۵٪ باشد صحت روش معتبر است. برای بررسی فاکتور دقت، سه غلظت مختلف از نمونه استاندارد را برداشته و ده بار جذب هر کدام در طول موج مربوطه اندازه گرفته شد. در مرحله بعد میانگین، انحراف استاندارد، انحراف استاندارد نسبی (RSD) اندازه‌گیری شد. اگر RSD زیر ۲ باشد روش از دقت بالایی برخوردار بوده و معتبر است (وراسی - سانگویی و همکاران ۲۰۱۰، موهارانا و همکاران ۲۰۱۱).

رسانده شد. این محلول برای استاندارد شدن با تیوسولفات سدیم به میزان بیست برابر با محلول ساکارز ۱۰٪ رقیق شد که غلظت نهایی آن برابر با ۰/۳۶ میلی مولار بدست آمد. با رقت بیشتر می‌توان غلظت‌های دیگری را نیز تهیه کرد (استاندارد شماره ۲۶۲۸ ایران سال ۱۳۹۳). از محلول رقیق سولفیت استاندارد (0.36 mM) توسط پی‌پت به ترتیب ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی‌لیتر درون بالن ژوژه های ۱۰۰ میلی‌لیتری اضافه کرده، سپس به هر بالن ۴ میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال افزوده شد و در نهایت حجم آنها با محلول ساکارز خالص به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شده و به خوبی مخلوط گردیدند. از هر بالن ۱۰ میلی‌لیتر محلول را به یک لوله تمیز انتقال داده و سپس ۲ میلی‌لیتر رزآنیلین رنگبری شده و ۲ میلی‌لیتر محلول فرمالدئید به هر لوله تست اضافه و کاملاً مخلوط شد. در این مرحله نمونه‌های استاندارد بمدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شده، پس از زمان تعیین شده بلافاصله جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

استاندارد کردن بلانکیت به روش تیتراسیون

### یدومتری

به مرور زمان از قدرت احیاء کنندگی محلول‌های استاندارد تهیه شده کاسته می‌شود لذا باید آزاد شده از واکنش سدیم دی‌تیونیت با پتاسیم یدید، با استاندارد اولیه تیوسولفات سدیم استاندارد شد. به منظور استاندارد کردن ۲۵ میلی‌لیتر از محلول پتاسیم یدید ۰/۰۵ مولار، به ارلن مایر ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل شده و ۱۰ میلی‌لیتر محلول اسیدکلریدریک ۱ مولار به آن اضافه گردید، سپس حدود ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شده و در حال بهم‌زدن ارلن مایر، ۲۵ میلی‌لیتر محلول استاندارد سولفیت و چند قطره چسب نشاسته به آن افزوده شد. در ادامه محتویات ارلن توسط تیوسولفات سدیم ۰/۱ مولار تا ظهور رنگ آبی تیترا شده و عمل تیتراسیون، تا از بین رفتن رنگ آبی ادامه و حجم مصرفی یادداشت گردید. میزان سولفیت نمونه با

### نتایج معتبرسازی

در این مطالعه پارامترهای خطی بودن، محدوده با استفاده از منحنی کالیبراسیون و پارامترهای صحت، دقت، LOD، LOQ بشرح زیر بدست آمد.

### محدوده و خطی بودن

با توجه به نتایج بدست آمده از منحنی استاندارد که در آن جذب در طول موج ۵۶۰ نانومتر در مقابل غلظت نمونه‌های استاندارد رسم گردید. محدوده کار برابر با 0.1-3 ppm و با استناد به معادله خط منحنی، عرض از مبدا 0.1858 و  $R^2=0.999$  بدست آمد.

### صحت

برای بررسی صحت روش ابتدا یک نمونه خمیر حاوی استاندارد بلانکیت اسپایک شده و بعنوان شماره نمونه ۱ انتخاب شده و جذب آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. سپس ۰/۵ میلی لیتر از استاندارد بلانکیت با غلظت مشخص به آن اضافه گردید، بهمین ترتیب برای نمونه شماره ۲ نیز عمل شد. با استفاده از منحنی درجه‌بندی مقدار غلظت اسپایک شده از روی اختلاف جذب خوانده شده در دو مرحله محاسبه گردیده و درصد ریکواری آن نیز بدست آمد که نتایج حاصل در جدول یک آورده شده است.

### دقت

ابتدا سه غلظت مختلف از نمونه خمیر حاوی استاندارد بلانکیت اسپایک شده انتخاب گردیده و جذب آن ده بار در طول موج ۵۶۰ خوانده شد. سپس میانگین، انحراف استاندارد، انحراف استاندارد نسبی با استفاده نرم افزار اکسل محاسبه گردید. اگر انحراف استاندارد نسبی زیر عدد ۲ حاصل شود، روش از دقت بالایی برخوردار بوده و معتبر است. جدول زیر نتایج مربوط به فاکتور دقت را نشان می‌دهد.

جهت بررسی فاکتورهای LOD، LOQ از روابط زیر استفاده شد:

عرض از مبدا + عرض از مبدا  $LOD = 3SD$

عرض از مبدا + عرض از مبدا  $LOQ = 10SD$

و برای محاسبه LOD، LOQ از روابط زیر استفاده شد:

شیب / عرض از مبدا  $LOD = 3SD$

مبدا + عرض از مبدا  $LOQ = 3SD$

### نتایج

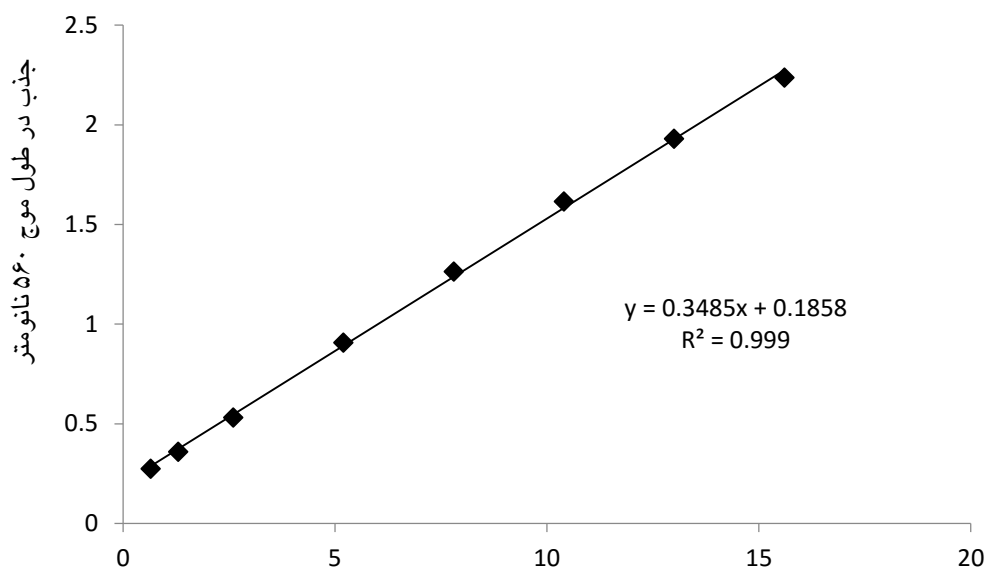
#### رسم منحنی استاندارد

از محلول رقیق سولفیت استاندارد (۳۶/ میلی مولار) توسط پدیت به ترتیب ۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ میلی لیتر درون بالن ژوژه های ۱۰۰ میلی لیتری اضافه کرده، سپس به هر بالن ۴ میلی لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال افزوده شد و در نهایت حجم آنها با محلول ساکارز خالص به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شده و به خوبی مخلوط گردید. از هر بالن ۱۰ میلی لیتر محلول را به یک لوله تمیز انتقال داده و سپس ۲ میلی لیتر رزآئیلین رنگبری شده و ۲ میلی لیتر محلول فرمالدئید به لوله‌ها اضافه و کاملاً مخلوط گردید. در این مرحله نمونه‌های استاندارد بمدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه انکوبه شده، پس از زمان تعیین شده بلافاصله جذب آنها را در طول موج ۵۶۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و منحنی استاندارد مربوطه رسم گردید.

محاسبه غلظت نمونه‌های مجهول از نان و خمیر با استفاده از معادله زیر (حاصل از رسم منحنی کالیبراسیون) انجام گرفت:

$$Y = 0.3485 X + 0.1858$$

که در آن Y مقدار جذب خوانده شده از دستگاه اسپکتروفتومتر و X غلظت نمونه‌های مجهول برحسب میکرو مولار می باشد.



شکل ۱ - نمودار منحنی کالیبراسیون با غلظت‌های ۰/۶۵-۱۵/۶ میکرومولار از سدیم دی تیونیت استاندارد

جدول ۱- در صد باز یافت در فاکتور صحت

ریکاوری (%)	غلظت اسپایک شده	غلظت (میکرومولار)	غلظت بر حسب میکرو مولار	شماره نمونه
-----	-----	۰/۲۵۶	۰/۲۷۵	۱
۸۹/۸۰۵	۰/۳۳۹	۰/۶۹۵	۰/۳۲۸	۲*
-----	-----	۰/۵۰۳	۰/۳۶۱	۳
۱۰۳/۳	۰/۵۱۷	۱/۰۲	۰/۵۳۱	۴**

\* نمونه شماره ۱ + اسپایک شده و \*\* نمونه شماره ۳ + اسپایک شده

جدول ۲- جدول تکرارپذیری در فاکتور دقت

شماره نمونه	میانگین ده جذب	انحراف استاندارد	انحراف استاندارد نسبی
۱	۰/۴۸۵	۰/۰۰۱۵۸۰	۰/۳۲۹
۲	۱/۲۶۳	۰/۰۰۳۰۶	۰/۲۴۲
۳	۱/۹۳۱	۰/۳۹۲۰۰	۰/۲۰۳

جدول ۳- مشخصات منحنی کالیبراسیون و مقادیر LOD, LOQ

شیب	عرض از مبدا	انحراف از استاندارد	LOD	LOQ
۰/۳۴۸۵	۰/۱۸۵۸	۰/۰۰۱۷۳۲	۰/۰۱۴۹۱	۰/۰۴۹۷

### بحث و نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری سدیم‌دی‌تیونیت یا بلانکیت در نان بدلیل مخاطراتی که برای سلامتی انسان ایجاد می‌کند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرفی نان یکی از مواد غذایی پرمصرف در کشور ما محسوب می‌شود و در یافت حتی مقادیر جزئی از بلانکیت در دراز مدت می‌تواند اثرات نامطلوبی برای سلامتی انسان ایجاد نماید. لذا اندازه‌گیری مقادیر کم این ماده با روش‌های پیشرفته کمی می‌تواند از این اثرات جلوگیری نماید. در کشورهای دیگر، افزودن بلانکیت در نان مطرح نبوده و در کشور ما بلانکیت در قند برطبق استاندارد مربوطه اندازه‌گیری می‌شود که توسط اداره استاندارد ایران تدوین شده است. لذا مطالعه مشابه این تحقیق صورت نگرفته که بتوان نتایج این تحقیق را با نتایج تحقیقات دیگر مقایسه کرد. با توجه به نتایج منحنی استاندارد، محدوده کاری 0.1-3 ppm بوده و عرض از مبدا آن برابر 0/۱۸۵۸ و ضریب رگرسیون  $R^2 = 0.999$  حاصل شد که نشان‌دهنده خطی بودن ارتباط غلظت نمونه با جذب آن است. در بررسی فاکتور صحت، با توجه به نتایج جدول شماره ۱ برای دو نمونه اسپایک‌شده درصد

### منابع مورد استفاده

- آذرباد ح، مظاهری تهرانی م و رشیدی ح، تعیین ویژگی‌های شیمیایی، حسی و بافت دستگاهی نان بربری با گلوتن کاهش یافته، حاصل از اختلاط آرد گندم و ارزن، ۱۳۹۵، پژوهش‌های صنایع غذایی (دانش کشاورزی)، ۲۶، ۱۴۹-۱۳۹.
- میرزا علیزاده ع، مدسنی م، زمانی ع، کمالی ک، ارزیابی باقیمانده سدیم هیدرو سولفیت در محصول قند واحدهای تولیدی استان زنجان و بررسی امکان اندازه‌گیری جایگزین، ۱۳۹۳، مجله بهداشت مواد غذایی، ۴، ۳۱-۴۴.
- استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۲۸، ۱۳۹۳ تجدید نظر سوم، نان‌های سنتی - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، ICS: 67.060
- Bridwell H, Dhingra V, Peckman D, Roark J, Lehman T, 2010. Perspectives on Method Validation Importance of Adequate Method Validation. *The Quality Assurance Journal* 13: 72-77.
- Houben A, Höchstötter A, Becker T, 2012. Possibilities to increase the quality in gluten-free bread production. *European Food Research and Technology*. 235: 195-208.
- Jenke DR, 2006. Chromatographic Method Validation: A Review of Current Practices and Procedures. *Journal of liquid chromatography and related technologies* 719-736
- Kucukatay V, Agar A, Gumusiu S, Yarcicoqlu P, 2007. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *International Journal of Neuroscience* 117: 1091-1107.
- Liman L, Stella C, Hongfang J, Chaoshu T, Junbao D, 2011. Endogenous generation of sulfur dioxide in rat issues. *Biochemical and biophysical research communications* 415: 61-67.

ریکاوری بترتیب ۸۹/۸۰۵ و ۱۰۳/۳ بدست آمد که در محدوده ۱۱۰٪-۸۵٪ می‌باشند. لذا صحت این روش نیز قابل قبول می‌باشد. در بررسی فاکتور دقت، نتایج انحراف استاندارد نسبی برای سه نمونه انتخاب شده بترتیب ۰/۳۲۹، ۰/۲۴۲ و ۰/۲۰۳ حاصل شد که بدلیل اینکه تمامی انحراف استانداردهای نسبی کوچکتر از ۲ می‌باشند لذا از نظر دقت نیز، این روش دقت بالایی داشته و معتبر است. مقدار فاکتور (LOQ = 0.049 ppm) نشان می‌دهد که با این روش می‌توان بلانکیت را تا غلظت 0.05 ppm تعیین مقدار نمود.

با توجه به نتایج حاصل از اصلاح روش و مقادیر حاصل اندازه‌گیری‌های جذب بلانکیت به روش طیف‌سنجی نوری در خمیر نان و نتایج حاصل از فاکتورهای اعتباربخشی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روش فوق یک روش مناسب و کارآمدی در اندازه‌گیری بلانکیت در خمیر نان می‌باشد و در صورتیکه دو اصلاح بکاررفته در این روش در تدوین استاندارد جدید لحاظ گردد. می‌تواند به عنوان جایگزین استاندارد قبلی در بخش اندازه‌گیری کمی بلانکیت در نان مورد استفاده قرار گیرد.

- Meksi N, Ticha MB, Kechida M, Mhenni M, 2012. Using of ecofriendly  $\alpha$ -hydroxycarbonyls as reducing agents to replace sodium dithionite in indigo dyeing processes. *Journal of Cleaner Production*. 24: 149-158.
- Meng Z, 2003. Oxidative damage of sulfur dioxide on various organs of mice: sulfur dioxide is a systemic oxidative damage agent. *Inhalation toxicology* 15: 181-195.
- Moharana, AK, Banerjee M, Panda S, Muduli J.N, 2011. Development and validation of UV spectrophotometric method for the determination of mesalamine in bulk and tablet formulation. *Int J Pharm Pharm Sci* 3: 19-21.
- Orazio F, Nespoli N, Lto K, Tassinari D, 2009. Air pollution, aeroallergens, and emergency room visits for acute respiratory diseases and gastroenteric disorders among young children in six Italian cities. *Environmental health perspectives* 117: 1780-1785
- Prim-Martin P, Van de Pijpekamp A, Van Vliet T, De Jongh H, Plijter J, Hamer R J, 2006. The role of the gluten network in the crispness of breadcrumb. *Journal of Cereal Science*. 43: 342-352.
- Riedel F, Naujukat S, Ruschoff J, Petzoldet S, Rieger C.H.L, 1992. SO<sub>2</sub>-Induced Enhancement of Inhalative Allergic Sensitization Inhibition by Anti-Inflammatory Treatment. *International archives of allergy and immunology* 98: 386-391.
- Swartz ME, Krull I, 1997. Analytical method development and validation. CRC Press. Wrasse-Sangoi M, Trevisan Secretti L, Fração Diefenbach I, Bueno Rolim C.M, Sangoi M, 2010. Development and validation of an UV spectrophotometric method for the determination of aliskiren in tablets. *Química Nova* 33 1330-1334.



## Modification and validation of quantitative measurements of blankit in traditional bread by spectrophotometry

M Shafaghi<sup>1</sup>, O Molavi<sup>2</sup>, J Valipour<sup>3</sup> and A A Hamidi<sup>4\*</sup>

Received: October 11, 2017

Accepted: December 20, 2017

<sup>1</sup>MSc, Food and Drug safety research center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>PhD Student, Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Tabriz University, Tabriz, Iran

<sup>4</sup>Assistant Professor, Food and Drug safety research center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: Email: hamidia@tbzmed.ac.ir

### Abstract

Historically bread has been a popular food for many generations. Bread is the most consumed food around the world, therefore the regulatory offices must be held accountable for ensuring the safety and quality of bread production. The addition of blankit (sodium dithionite) and baking soda to bread is a form of fraud and irresponsible manipulation that has found its way into bread production methods, whether deliberate or not. The addition of the raising agents such as blankit (sodium hydrosulfite) and baking soda, even in very small quantities, has been known to have negative impacts on the health of people. Therefore, there have been attempts for detection of these types of raising agents in bread using qualitative methods which have not been successful for detection of the small amount of blankit (sodium dithionite) and baking soda in bread dough. Therefore, the development of sensitive and accurate methods for detection and quantification of these types of raising agents in bread is an unmet need. Here we purpose to develop a suitable and valid method for quantification of trace amount of blankit in bread dough. We used standard # 2628 method of The Institute of Standards and Industrial Research of Iran for quantification of these raising agents and made slight modifications (A freshly prepared rosaniline solution was used and the quantification was done on bread dough samples instead of the baked bread). The bread dough samples were spiked with blankit standard solutions and then the samples were quantified at 560nm by spectrophotometry. The  $R^2$  for the calibration curve was 0.999 indicating the linearity of the developed method. The recovery percent in accuracy factor for two spiked samples were found to be 89.805 and 103.3, respectively. The sensitivity of the method for 3 selected samples were 0.329, 0.242, and 0.203 ppm. The LOQ was calculated to be 0.05 ppm for the developed method. These data indicate that the developed method is a valid and sensitive method for quantification of blankit in bread dough.

**Key words:** Blankit, Spectrophotometry, Validation, Modification, Traditional bread