

تعیین ترکیبات فورانی در غذاهای کودک موجود در بازار تهران با روش ریزاستخراج و بررسی تأثیر دمای آماده‌سازی بر غلظت این ترکیبات

حسین حبیبی¹، عبدالرضا محمدی²، مهرداد محمدی³، زهره امیری⁴، ابراهیم آزادنی⁵

- 1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 2- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: ab.mohammadi@sbmu.ac.ir
- 3- محقق گروه تحقیقات صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 4- استادیار گروه علوم پایه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- 5- کارشناس آزمایشگاه شیمی مواد غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 91/7/25

تاریخ پذیرش: 91/11/21

چکیده

سابقه و هدف: فوران از سوی آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان به عنوان یک ترکیب سرطان‌زای احتمالی برای انسان (گروه 2B) معرفی شده است. کمیته‌ی مشترک متخصص *FAO/WHO* در سال 2010 (JECFA) حداکثر مقدار فوران را 2 میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز اعلام کرد. هدف از این تحقیق، تعیین میزان ترکیبات فورانی در غذاهای کودک موجود در بازار تهران با استفاده از روش ریزاستخراج با فاز مایع از فضای فوقانی (HS-LPME) و بررسی تأثیر دو دمای آماده‌سازی 45°C و 70°C بر ترکیبات فورانی اولیه بود.

مواد و روش‌ها: بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر استخراج ترکیبات فورانی به کمک روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی به انجام 30 آزمایش برای 4 متغیر در 5 سطح منجر شد. به منظور معتبرسازی روش پیشنهادی، ارقام شایستگی روش تعیین شد. مقدار ترکیبات فورانی از 35 نمونه غذای کودک مختلف (پودری، پوره‌ی میوه، نوشیدنی و سوپ آماده) از سطح بازار تهران با استفاده از روش HS-LPME-GC/MS در نقاط بهینه تعیین شد. از آب با دو دمای 45°C و 70°C برای آماده‌سازی غذای کودک استفاده شد.

یافته‌ها: ارقام شایستگی روش پیشنهادی در مواردی بهتر از روش‌های پیشین بود. انواع غذای کودک از نظر میزان ترکیبات فورانی، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($p < 0/05$). در این تحقیق، کمترین و بیشترین غلظت مجموع ترکیبات فورانی در غذاهای کودک موجود در بازار تهران به ترتیب 159/24±7/96 و 624/64±31/23 µg/kg به دست آمد. هر دو دمای آماده‌سازی باعث کاهش میزان فوران و افزایش 2و5- دی متیل فوران شدند ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: روش به کار رفته برای تعیین مقادیر بسیار کم ترکیبات فورانی در غذاهای کودک کارایی بالایی دارد. اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌های غذای کودک عرضه شده در بازار از نظر مقدار ترکیبات فورانی به دلیل تفاوت در نوع ترکیب و مواد تشکیل دهنده است.

واژگان کلیدی: ترکیبات فورانی، غذای کودک، روش ریزاستخراج با فاز مایع، کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی، روش سطح پاسخ

• مقدمه

فوران (C_4H_4O) یک ترکیب هتروسیکلیک آروماتیک، آلاینده‌ای مایع، بی‌رنگ، سمی و چربی‌دوست است که بسیار فرار (نقطه جوش 31°C) است. این ترکیب طی فرایند خشک کردن با هوای خشک، پختن، سرخ کردن و برشته کردن مواد غذایی در کارخانجات مواد غذایی تشکیل می‌شود (2). در سال 1993 اثرات مسمومیت سلول‌های کبدی و

فرایندهای حرارتی اگرچه باعث افزایش ایمنی مواد غذایی از نظر میکروبی می‌شوند و ماندگاری مواد غذایی را افزایش می‌دهند، ولی به طور ناخواسته باعث تولید آلاینده‌های شیمیایی خطرناکی مانند آکریلامیدها و ترکیبات فورانی در مواد غذایی می‌شوند که علاوه بر اثرات مسمومیت‌زایی می‌توانند باعث سرطان‌زایی و جهش سلولی شوند (1).

با توجه به وجود انواع مواد تشکیل دهنده در غذاهای کودک و سازوکارهای مختلف اشاره شده برای تشکیل ترکیبات فورانی از این ترکیبات، فرایندهای حرارتی جهت تولید غذاهای کودک، شرایط را برای انجام این واکنش‌ها و در نهایت تشکیل ترکیبات فورانی مهیا می‌کنند. تعیین میزان ترکیبات فورانی در غذاهای کودک به سبب اثرات سرطان‌زایی و جهش‌زایی این ترکیبات و همچنین به خاطر وزن پایین کودکان و دریافت روزانه مقدار قابل توجهی از این غذاها توسط آن‌ها اهمیت فراوانی دارد (2). اندازه‌گیری ترکیبات فورانی در غذاهای کودک می‌تواند به عنوان یک شناساگر جهت ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای و تعیین کیفیت فرایندهای فرآوری و حرارتی مختلف مورد توجه قرار گیرد (3، 1). تاکنون، تحقیقی درباره‌ی میزان ترکیبات فورانی غذاهای کودک عرضه شده در کشور انجام نشده است.

روش‌های معمول برای تجزیه‌ی ترکیبات فورانی، استخراج از فضای فوقانی ثابت و تزریق مستقیم به دستگاه کروماتوگرافی گازی است (2، 5، 8، 11، 12). روش دیگر، ریزاستخراج با فاز جامد به همراه کروماتوگرافی گازی-HS (SPME-GC/MS) است (13-16). روش ریزاستخراج توانایی بالایی برای استخراج دقیق مقادیر بسیار کم این ترکیبات از نمونه‌های غذاهای کودک دارد. با توجه به مزایای متعدد تکنیک ریزاستخراج با قطره‌ی حلال نسبت به تکنیک ریزاستخراج با فاز جامد و از طرف دیگر با توجه به فرآوردن و فشار بخار زیاد فوران از تکنیک ساده، سریع و دقیق ریز استخراج با قطره حلال از فضای فوقانی (HS-LPME) به همراه کروماتوگرافی گازی - طیف سنجی جرمی (GC-MS) برای استخراج، جداسازی و اندازه‌گیری این ترکیبات در غذاهای کودک استفاده شد. هم‌چنین، عوامل مؤثر بر استخراج ترکیبات فورانی به کمک روش سطح پاسخ با استفاده از طرح مرکب مرکزی بهینه‌سازی شدند.

• مواد و روش‌ها

نمونه‌ها: 35 نمونه غذای کودک مختلف (17 نمونه غذای کودک پودری (بر پایه‌ی شیر خشک)، 6 نمونه پوره‌ی میوه، 3 نمونه نوشیدنی و 9 نمونه سوپ آماده) از مناطق مختلف شهر تهران خریداری و به آزمایشگاه منتقل و تا زمان تجزیه در دمای 4°C نگهداری شد. تجزیه‌ی همه‌ی نمونه‌ها سه بار تکرار شد.

سرطان‌زایی در موش توسط NTP (National Toxicology Program) مطرح شد. این سازمان اثرات جهش‌زایی نیز برای فوران تأمل شده است. فوران باعث سمیت سلول‌های کبدی و ایجاد غده‌های بدخیم مجاری صفراوی می‌شود و اثر سرطان‌زایی آن در حیوانات آزمایشگاهی (mice و rats) به اثبات رسیده است (3). آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) در سال 1995 فوران را از نظر سرطان‌زایی در گروه 2B و به عنوان یک ماده‌ی سرطان‌زای احتمالی برای انسان معرفی کرد (4).

برنامه‌های کنترل‌کننده‌ی فراوانی توسط سازمان‌های مختلف از جمله اداره‌ی غذا و داروی آمریکا (USFDA) و سازمان ایمنی مواد غذایی اروپا (EFSA) برای تعیین ترکیبات فورانی در مواد غذایی و اندازه‌گیری آن به روش استخراج از فضای فوقانی به همراه کروماتوگرافی گازی ارائه شده است (5، 6). اولین گزارش در مورد حضور فوران در بسیاری از مواد غذایی مانند غذاهای کودک، قهوه، آبجو، سوپ، سس سویا، سس کچاپ، نان، کارامل، عسل، انواع کنسرو سبزیجات، گوشت، ماهی، مرغ، کمپوت‌ها و نوشیدنی‌ها توسط FDA در سال 2004 منتشر شد. بررسی‌ها نشان داد در بین این مواد غذایی چهار گروه غذایی: قهوه، غذاهای کودک، سوپ‌ها و سس‌ها حاوی غلظت بالایی از فوران هستند و به عنوان اصلی‌ترین منبع غذایی دریافت فوران در بزرگسالان و کودکان شناخته می‌شوند. میزان فوران در غذاهای کودک (273 نمونه غذای کودک) طبق یافته‌های FDA از گستره‌ی کمتر از حد تشخیص تا 112 میکروگرم به ازای هر کیلوگرم غذای کودک است. اگر میانگین دریافت غذای کودک 234 گرم در روز در نظر گرفته شود، میزان دریافت فوران توسط هر کودک (6 ماهه، با وزن 7/5 کیلوگرم) در روز 0/2 تا 26/2 میکروگرم می‌شود (5، 7، 8).

سازوکارهای گوناگونی برای تشکیل ترکیبات فورانی در مواد غذایی طی فرایند حرارتی وجود دارند که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به قهوه‌ایی شدن غیرآنزیمی (واکنش میلارد)، تجزیه‌ی حرارتی کربوهیدرات‌ها، تجزیه‌ی اسید آسکوربیک و مشتقات آن، دگرگونی و تجزیه‌ی حرارتی اسیدهای آمینه، اکسیداسیون حرارتی کاروتنوئیدها، اکسیداسیون اسیدهای چرب چند غیراشباعی به ویژه اسید لینولئیک و اسید لینولئیک اشاره کرد (9، 10).

نمونه غذای کودک به صورت دستی افزوده و بعد از عمل استخراج به دستگاه تزریق شد. حد تشخیص (LOD) با استفاده از رابطه‌ی $LOD = \frac{3S_y}{m}$ و حد اندازه‌گیری (LOQ) با استفاده از رابطه‌ی $LOQ = \frac{10S_y}{m}$ محاسبه شد. S_y/x انحراف استاندارد شاهد برای هر منحنی فورانی در کروماتوگرافی معادل با $\frac{1}{5}$ مقدار تفاضل حد بالایی و پایینی نوفه‌های اطراف آن پیک فورانی است. به منظور محاسبه‌ی فاکتور تغلیظ، محلول استاندارد ترکیبات فورانی با غلظت‌های 1، 5، 10، 20، 30 و 40 میلی‌گرم در لیتر در متانول تهیه شد. $2 \mu\text{L}$ از هر یک از محلول‌ها به طور مستقیم به دستگاه GC/MS تزریق و منحنی درجه‌بندی به دست آمد. سپس استخراج از فضای فوقانی نمونه‌ی آبی ترکیبات فورانی در غلظت $5 \mu\text{g/L}$ با روش HS-LPME انجام گرفت و به دستگاه GC/MS تزریق شد. سپس از نسبت غلظت ترکیبات فورانی در حلال آلی به غلظت این ترکیبات در محلول اصلی (به دست آمده از منحنی درجه‌بندی تزریق مستقیم) مقدار فاکتور تغلیظ ترکیبات فورانی محاسبه شد.

آزمون اندازه‌گیری ترکیبات فورانی در نمونه‌های غذای کودک توسط فرایند HS-LPME: استخراج ترکیبات فورانی از نمونه‌های غذای کودک در نقاط بهینه (دمای محلول نمونه: 40°C ، زمان استخراج: 15 دقیقه، سرعت همزن 700 rpm ، مقدار نمک 1 گرم) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری ترکیبات فورانی $0/5$ گرم از غذای کودک درون یک ظرف استخراجی 17 میلی‌لیتری توزین شد، سپس 10 mL آب مقطر و یک مگنت مغناطیسی (1 cm) به آن اضافه شد و پس از گذاشتن درپوش پلاستیکی و فشردن سیل آلومینیومی روی ظرف، آن را به ظرف حمام آب قرار گرفته روی پلیت حرارتی دارای همزن مغناطیسی (شرکت Heidolph، آلمان) منتقل کردیم و تحت دمای 40°C حمام آب و دور همزن 700 rpm قرار دادیم. پس از گذشت 10 دقیقه به عنوان زمان تعادل حرارتی، سوزن سرنگ 10 میکرولیتری (شرکت Hamilton، سوئیس) حاوی $3 \mu\text{l}$ حلال استخراجی (ان-دودکان) را که شامل استاندارد داخلی (هگزانال) با غلظت $10 \mu\text{g/mL}$ بود، از درپوش پلاستیکی عبور دادیم و به درون ظرف وارد کردیم. با پایین آوردن پیستون سرنگ، قطره‌ی حلال، در نوک سوزن و در فاصله 1 سانتی‌متری از سطح محلول غذای کودک در فضای فوقانی معلق شد. پس از گذشت زمان مناسب جهت استخراج (15

مواد شیمیایی و استانداردها: فوران، 2-متیل فوران و 2و5-دی متیل فوران با خلوص بیش از 99% از سیگما آلدریج (آلمان) خریداری شد. 1-اکتانول، ان-دکان، ان-دودکان، هگزانال، متانول و کلرید سدیم از شرکت Merck (آلمان) فراهم شد. محلول استاندارد ترکیبات فورانی با غلظت $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ در متانول هر هفته تهیه می‌شد. هگزانال با غلظت 1 mg mL^{-1} در متانول تهیه و به عنوان استاندارد داخلی به کار رفت. 1-اکتانول، ان-دکان و ان-دودکان برای انتخاب بهترین حلال استخراجی (دارای غلظت 1 mg mL^{-1} 10 هگزانال) مورد استفاده قرار گرفت. همه‌ی مواد شیمیایی و استانداردها در دمای یخچال نگهداری شدند.

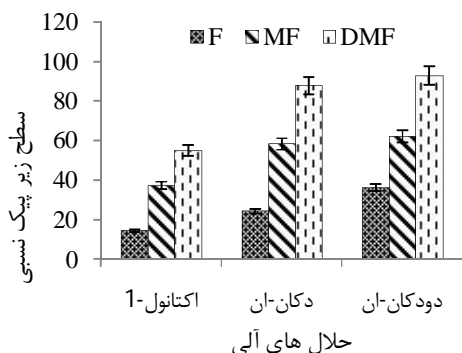
طراحی آزمایش و بهینه‌سازی عوامل مؤثر در روش استخراج HS-LPME به کمک روش سطح پاسخ: بهینه‌سازی متغیرهای مورد نظر (دمای محلول نمونه، زمان استخراج، سرعت هم زدن و مقدار کلرید سدیم) به کمک روش سطح پاسخ (RSM) و با استفاده از طرح مرکب مرکزی (CCD) و نرم‌افزار Design Expert v. 8.0.5 انجام گرفت و سطوح برای دمای محلول نمونه: $30-50^\circ\text{C}$ ، زمان استخراج: 20-5 دقیقه، سرعت هم زدن: $300-700 \text{ rpm}$ و مقدار نمک (کلرید سدیم): 0-3 گرم به دست آمد. طراحی آزمایش با استفاده از طرح مرکب مرکزی به انجام 30 آزمایش منجر شد. با انجام این 30 آزمایش، نقاط بهینه تعیین شد. نسبت سطح زیر منحنی مجموع ترکیبات فورانی (فوران، 2-متیل فوران و 2و5-دی متیل فوران) به سطح زیر منحنی استاندارد داخلی به عنوان مجموع سطح زیر منحنی نسبی برای ارزیابی کارایی روش ریزاستخراج در نظر گرفته شد.

معتبرسازی و تعیین ارقام شایستگی به روش اندازه‌گیری HS-LPME برای استخراج ترکیبات فورانی: برای رسم منحنی درجه‌بندی و تعیین محدوده‌ی خطی بودن، از محلول‌های آبی استاندارد ترکیبات فورانی در غلظت‌های $0/2$ ، $0/5$ ، 1، 2، 5، 10، 20، 50، 100 و 200 میکروگرم در لیتر استفاده شد. در این مرحله نسبت سطح منحنی ترکیبات فورانی به استاندارد داخلی به عنوان سطح زیر منحنی نسبی در نظر گرفته شد. برای تعیین تکرارپذیری یا دقت روش، ترکیبات فورانی از یک نمونه غذای کودک، 6 بار در شرایط یکسان با روش ارائه شده، استخراج و به دستگاه تزریق شد (میزان دقت بر اساس انحراف استاندارد نسبی بیان شد). برای تعیین درصد بازیافت یا صحت روش، محلول استاندارد ترکیبات فورانی با غلظت $2 \mu\text{g/L}$ به دو

فرض‌های آنالیز از آزمون‌های فریدمن و ویلکسون و از نرم افزار SPSS 20.0 با حداکثر خطای قابل قبول 5% ($P < 0.05$) استفاده شد.

• یافته‌ها

نتایج انتخاب حلال آلی مناسب برای روش HS-LPME
برای استخراج ترکیبات فورانی از نمونه‌ها: مقایسه‌ی سطح زیر منحنی نسبی ترکیبات فورانی برای سه حلال آلی 1-اکتانول، ان-دکان و ان-دودکان (دارای غلظت mg mL^{-1} 10 هگزانال به عنوان استاندارد داخلی) تحت شرایط یکسان (دمای استخراج 40°C ، زمان استخراج 12/5 دقیقه، سرعت همزن 500 rpm، مقدار نمک 1/5 گرم و مقدار غذای کودک 0/5 گرم) نشان داد که 1-اکتانول کمترین توانایی را در استخراج ترکیبات فورانی دارد. ان-دودکان کارایی استخراج بالاتر و رفتار کروماتوگرافی بهتری در مقایسه با سایر حلال‌ها داشت و با منحنی ترکیبات فورانی تداخل نشان نداد (شکل 1).



شکل 1. مقایسه‌ی سه حلال استخراجی 1-اکتانول، ان-دکان و ان-دودکان جهت استخراج ترکیبات فورانی (F، MF و DMF) به ترتیب فوران، 2-متیل فوران، 5-دی-متیل فوران می‌باشند).

نتایج بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM): پس از انجام 30 آزمایش، پاسخ‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Design Expert تجزیه و تحلیل شد. معادله‌ی درجه‌ی دوم زیر برای ارزیابی پاسخ کل بر حسب مقادیر کد شده به دست آمد:

$$Y = +164.14 + 8.00*A + 9.85*B + 34.83*C - 12.41*D - 6.96*A*B + 14.05*A*C - 2.15*A*D + 4.33*B*C + 0.89*B*D - 7.62*C*D + 39.29*A^2 - 45.23*B^2 + 37.41*C^2 - 51.55*D^2$$

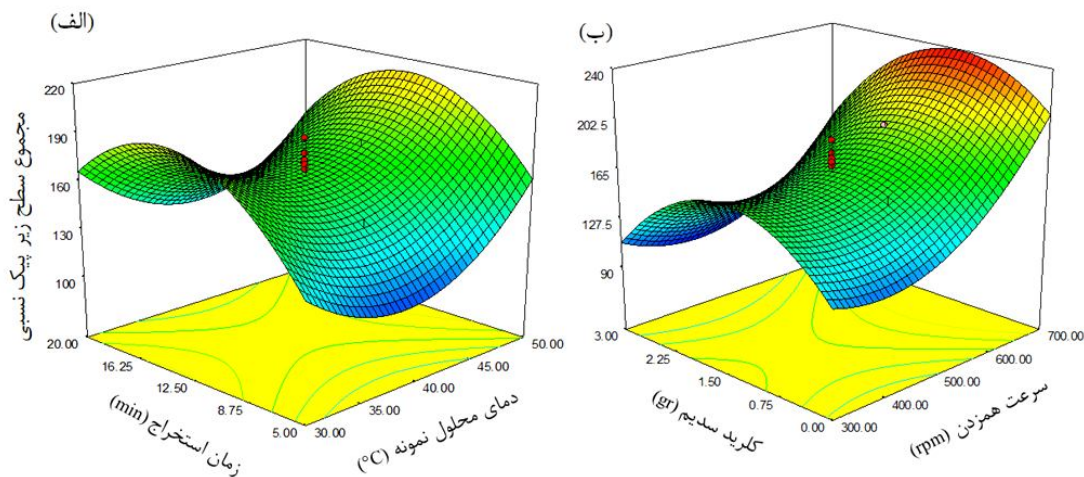
دقیقه)، پیستون را بالا کشیدیم. با بیرون کشیدن سوزن سرنگ از ظرف نمونه، محتویات درون سرنگ را به دستگاه GC/MS (مدل 7890A GC system/5975C inert MSD شرکت Agilent Technologies، آمریکا) با ستون HP-5 (ابعاد 30m × 0/25 mm I.D.) و ضخامت فاز ساکن 0/2 μm جهت شناسایی کیفی و اندازه‌گیری ترکیبات استخراجی تزریق کردیم. نسبت حجم تزریق 1 به 50 و سرعت جریان گاز هلیوم (به عنوان گاز حامل و با خلوص 99/999) 0/8 mL/min برای همه‌ی آزمایش‌ها استفاده شد. برنامه-ریزی دمایی آون شامل دمای اولیه 40°C با زمان توقف 3 دقیقه‌ای و افزایش دمایی $20^\circ\text{C}/\text{min}$ تا دمای پایانی 280°C و توقف 6 دقیقه‌ای در این دما بود. شناسایی ترکیبات فورانی با استفاده از آشکارساز MS در حالت SIM (Selected Ion Monitoring) انجام شد و یون‌ها با نسبت جرم به بار (m/z) 68 برای فوران، 82 برای 2-متیل فوران، 96 (m/z) برای 5-دی-متیل فوران و 58/1 (m/z) برای هگزانال در تعیین کمی مورد استفاده قرار گرفتند.

آزمون آماده‌سازی و گرم کردن غذای کودک: غذای کودک پودری و سوپ‌های آماده قبل از مصرف نیاز به بازسازی و گرم کردن دارند. 3 نمونه غذای کودک پودری در آب با دماهای 45°C و 70°C بازسازی و 3 نمونه سوپ آماده‌ی کودک تا دماهای 45°C و 70°C گرم شدند (همه‌ی نمونه‌ها قبل از عملیات استخراج 10 دقیقه تحت هم زدن معمولی قرار گرفتند) تا تأثیر آماده‌سازی و گرم کردن بر میزان ترکیبات فورانی اولیه در غذاهای کودک بعد از تهیه کردن مطابق دستورالعمل نوشته شده روی بسته‌بندی، بررسی شود.

روش‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر روش HS-LPME به کمک سطح پاسخ (RSM) و با استفاده از طرح مرکب مرکزی (CCD) به کمک نرم‌افزار Design Expert 8.0.5 انجام شد. تجزیه و تحلیل رگرسیون داده‌ها نیز با استفاده از همین نرم‌افزار انجام گرفت. برای ارزیابی شاخص‌های آماری در بین غذاهای کودک پودری، پوره‌ی میوه، نوشیدنی و سوپ آماده و بررسی نوع مواد تشکیل دهنده‌ی غذاهای کودک از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و در صورت معنی‌داری از آزمون دانکن استفاده شد و در صورت عدم برقراری پیش فرض‌های آنالیز از آزمون‌های کروسکال والیس و من‌ویتنی استفاده شد و برای ارزیابی اثر دمای آماده‌سازی و گرم کردن از آزمون آنالیز واریانس تکرار شونده و در صورت عدم برقراری پیش

منحنی نسبی افزایش یافت. به طوری که برهم کنش این دو متغیر، معنی دار بود و نتیجه گرفته می شود زمانی که این دو متغیر در بالاترین سطح خود قرار گیرند، می توانند اثر منفی بر استخراج آنالیت ها داشته باشند. شکل 1-ب مقدار سطح زیر منحنی نسبی را به عنوان تابعی از سرعت همزن و مقدار کلرید سدیم نشان می دهد. افزایش سرعت همزن، مقدار پاسخ را افزایش داد ولی زیاد شدن مقدار نمک می تواند اثر منفی بر کارایی استخراج داشته باشد. برهم کنش این دو متغیر، معنی دار بود و افزایش سرعت همزن (حدود rpm 700) با مقدار کلرید سدیم در حدود 1 گرم افزایش کارایی استخراج را به همراه داشت.

نتایج به دست آمده از RSM و CCD شرایط بهینه را چنین نشان داد: دمای استخراج: 40°C ، زمان استخراج: 15 دقیقه، سرعت همزن: 700 rpm و مقدار نمک: 1 گرم می باشد.



شکل 2. نمودارهای سه بعدی حاصل از رویه‌ی سطح پاسخ (الف) دمای محلول نمونه-زمان استخراج، (ب) سرعت هم زدن-کلرید سدیم

پوره‌ی میوه (کد F)، نوشیدنی‌های کودک (کد D) و سوپ-های آماده (کد S) تقسیم شدند. میانگین غلظت ترکیبات فورانی در انواع غذاهای کودک با ترکیبات اصلی تشکیل دهنده در جدول 2 آورده شده است. ترکیبات فورانی به عنوان آلاینده‌های شیمیایی در همه‌ی نمونه‌های غذای کودک مشاهده شد. بین چهار گروه غذاهای کودک با ترکیبات مختلف از نظر میزان متوسط فوران، 2-متیل فوران، 2و5-دی متیل فوران و مجموع ترکیبات فورانی اختلاف معنی داری وجود داشت ($p < 0/05$).

Y: مجموع سطح زیر منحنی نسبی ترکیبات فورانی، A: دمای محلول نمونه، B: زمان استخراج، C: سرعت همزن و D: مقدار نمک

نتایج تجزیه‌ی داده‌های ANOVA نشان داد که همه‌ی متغیرها در فرایند استخراج (دمای محلول نمونه، زمان استخراج، سرعت همزن و میزان نمک) بر میزان پاسخ (مجموع سطح زیر منحنی نسبی) اثر معنی داری داشتند ($p < 0/0001$).

اثر تداخل معنی دار متغیرهای مورد آزمایش (متغیر مستقل) را بر مجموع سطح زیر منحنی نسبی (متغیر وابسته) در شکل‌های 2-الف و 2-ب نشان داده شده است. شکل 2-الف اثر ترکیبی دو متغیر مستقل دمای محلول نمونه و زمان را بر کارایی استخراج نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود، با افزایش دما در محدوده‌ی میانی از زمان استخراج (حدود 12/5 تا 15 دقیقه) مقدار سطح زیر

نتایج معتبرسازی روش اندازه‌گیری HS-LPME جهت تعیین ترکیبات فورانی: نتایج حاصل از معتبرسازی و مقایسه‌ی ارقام شایستگی روش HS-LPME با سایر روش‌ها برای استخراج ترکیبات فورانی در غذاهای کودک در جدول 1 نشان داده شده است.

نتایج اندازه‌گیری غلظت ترکیبات فورانی در انواع نمونه‌های غذای کودک: نمونه‌های غذای کودک براساس نوع و اجزای تشکیل دهنده و مطالعات گذشته (15، 14، 2، 1) به چهار دسته‌ی پودری (بر پایه‌ی شیر خشک کد P)،

جدول 1. ارقام شایستگی روش پیشنهادی و مقایسه آن با روش‌های دیگر برای تجزیه ترکیبات فورانی در غذاهای کودک

منبع	روش اندازه گیری	Enrichment factor	LOQ (ng/g)	LOD (ng/g)	Recovery (%)	RSD (%)	Linear range (ng/g)	آنالیت
پژوهش حاضر	HS-LPME-GC/MS	972	0/126	0/03	83/8	4/9	0/2-200	فوران
پژوهش حاضر	HS-LPME-GC/MS	640	0/093	0/02	92/1	7/06	0/2-200	متیل فوران
پژوهش حاضر	HS-LPME-GC/MS	503	0/069	0/02	103/6	3/8	0/2-200	دی متیل فوران
(2)	HS-GC/MS	-	4	0/05	85/4-101/5	3/1-10/5	4-400	فوران
(11)	HS-GC/MS	-	1<	0/1	92-122	1/6	0/4-1000	فوران
(1)	HS-SPME-GC/MS	-	0/4	1/9	97/5-115/8	6/3-14/3	1/9-93/6	فوران
(15)	HS-SPME-GC/MS	-	2/4	0/7	80-107	5/6-9/4	0-100	فوران

جدول 2. میانگین غلظت ترکیبات فورانی محاسبه شده در انواع غذا کودک با 4 کد گروه و مواد تشکیل دهنده‌ی اصلی گزارش شده توسط کارخانجات

کد	نوع	مواد تشکیل دهنده‌ی اصلی	میزان فوران ¹ (ng/g)	میزان 2-متیل ¹ فوران (ng/g)	میزان ۲.۵-دی-متیل ¹ فوران (ng/g)
P1	پودری	آرد گندم، شیر خشک بدون چربی و تکه‌های خرما	228/87±0/96 ^a	112/27±3/57 ^a	206/61±5/73 ^a
P2	پودری	آرد گندم، شیر خشک بدون چربی، پرتقال، آناناس و موز	22/68±0/73 ^b	88/82±3/50 ^b	230/25±5/40 ^b
P3	پودری	آرد گندم، شیر خشک بدون چربی و عسل	29/17±1/35 ^a	70/30±3/38 ^c	138/21±5/03 ^c
P4	پودری	آرد گندم، شیر خشک بدون چربی و تکه‌های موز	34/32±1/19 ^c	121/04±4/41 ^d	140/96±4/16 ^c
P5	پودری	آرد گندم و شیر خشک بدون چربی	17/82±0/83 ^d	85/03±2/90 ^b	139/41±5/11 ^c
P6	پودری	آرد برنج و شیر خشک بدون چربی	29/28±1/39 ^a	69/53±1/61 ^c	174/50±5/82 ^d
P7	پودری	آرد گندم و شیر خشک	26/10±0/84 ^{ab}	83/92±3/38 ^b	173/56±4/48 ^d
P8	پودری	آرد گندم، شیر خشک و پودر طبیعی موز	22/87±1/07 ^b	63/34±3/18 ^{ab}	124/98±3/95 ^{ab}
P9	پودری	آرد برنج و شیر خشک	40/83±1/24 ^{ac}	78/64±1/06 ^{ac}	177/54±4/90 ^d
P10	پودری	آرد برنج، شیر خشک و پودر طبیعی موز	29/71±0/99 ^a	61/60±2/45 ^{ab}	150/62±4/61 ^{ac}
P11	پودری	آرد گندم، شیر خشک و پودر عسل	40/65±0/92 ^{ac}	73/59±2/99 ^c	164/83±3/90 ^{ad}
P12	پودری	آرد برنج، شیر خشک و بادام	30/68±1/39 ^a	56/33±2/42 ^{bc}	183/07±5/44 ^d
P13	پودری	آرد برنج، گندم، ذرت، جو و چاودار، شیر خشک و موز	22/97±0/43 ^b	65/05±2/38 ^{ab}	181/26±2/25 ^d
P14	پودری	برنج، گندم، ذرت، جو و چاودار، شیر، پرتقال، هلو، آناناس و موز	28/37±1/16 ^a	72/52±2/13 ^c	175/96±4/08 ^d
P15	پودری	پودر بادام بدون پوست و آرد برنج	30/96±1/44 ^a	89/09±2/83 ^b	211/10±5/75 ^a
P16	پودری	پودر بادام بدون پوست، شیر خشک و آرد برنج	41/81±1/40 ^{ac}	73/85±4/16 ^c	181/18±5/67 ^d
P17	پودری	غلات و پودر کاکائو	88/19±3/86 ^{bc}	30/47±0/86 ^{bd}	69/42±0/91 ^{bd}
F1	پوره میوه	پوره سیب، موز و توت فرنگی	25/98±0/62 ^{ab}	62/44±2/42 ^{ab}	151/87±3/12 ^{ac}
F2	پوره میوه	پوره سیب، موز و زغال اخته	24/49±0/78 ^{ab}	45/62±1/68 ^{abc}	120/34±3/87 ^{ab}
F3	پوره میوه	پوره سیب و آلو سیاه	34/19±1/37 ^c	57/15±1/96 ^{bc}	119/99±2/85 ^{ab}
F4	پوره میوه	پوره سیب، کیوی و آناناس	30/69±1/07 ^a	69/70±1/58 ^c	179/02±4/74 ^d
F5	پوره میوه	سیب، توت فرنگی، گیلاس، ماست، برنج و ذرت	33/88±1/13 ^c	72/86±2/25 ^c	163/13±3/40 ^{ad}
F6	پوره میوه	پوره سیب	25/30±0/83 ^{ab}	56/20±1/45 ^{bc}	105/78±4/64 ^{abd}
D1	نوشیدنی	آب زردآلو و گلابی	11/63±0/55 ^{abc}	48/55±2/58 ^{abc}	104/42±2/37 ^{abd}
D2	نوشیدنی	آب سیب، پرتقال و هلو	5/87±0/14 ^{bd}	29/94±1/39 ^{bd}	123/43±2/81 ^{ab}
D3	نوشیدنی	آب پرتقال و سیب	12/52±0/51 ^{abc}	63/06±2/91 ^{ab}	105/91±2/99 ^{abd}
S1	سوپ آماده	هویج و مرغ	278/29±8/42 ^{abd}	102/41±3/38 ^{abd}	121/90±4/50 ^{ab}
S2	سوپ آماده	هویج و ژامبون	137/62±5/21 ^{cd}	122/29±3/78 ^d	309/64±7/46 ^{abcd}
S3	سوپ آماده	سبزیجات سبز و مرغ	237/63±7/09 ^f	114/28±3/68 ^a	223/20±6/17 ^b
S4	سوپ آماده	کدو سبز و گوشت گاو	239/49±7/04 ^f	71/31±2/39 ^c	180/96±4/55 ^d
S5	سوپ آماده	سبزیجات سبز، برنج و ماهی قزل آلا	250/92±6/79 ^g	88/53±2/95 ^b	122/31±3/66 ^{ab}
S6	سوپ آماده	هویج، نخود فرنگی و گوشت گوساله	123/96±2/86 ^h	84/16±2/90 ^b	126/56±3/95 ^{ab}
S7	سوپ آماده	سیب زمینی، کدو سبز، پاستا و ژامبون	317/16±7/89 ^j	142/92±3/72 ^{abcd}	164/56±2/41 ^{ad}
S8	سوپ آماده	کدو سبز، نخود فرنگی، برنج، گوشت مرغ و هویج	260/35±5/83 ^k	96/15±4/20 ^{abd}	242/60±5/44 ^{bcd}
S9	سوپ آماده	سیب زمینی، شیر، ژامبون، هویج وحشی و تره فرنگی	61/46±2/26 ^m	85/79±2/01 ^b	140/48±4/19 ^c

1: میانگین غلظت ترکیبات فورانی برای همه‌ی نمونه‌ها به صورت انحراف استاندارد ± میانگین و با 3 تکرار بیان شده است.

2: حروف غیر یکسان یعنی اختلاف معنی‌دار در هر ستون بین انواع غذای کودک با مواد تشکیل دهنده‌ی متفاوت است. (p < 0.05)

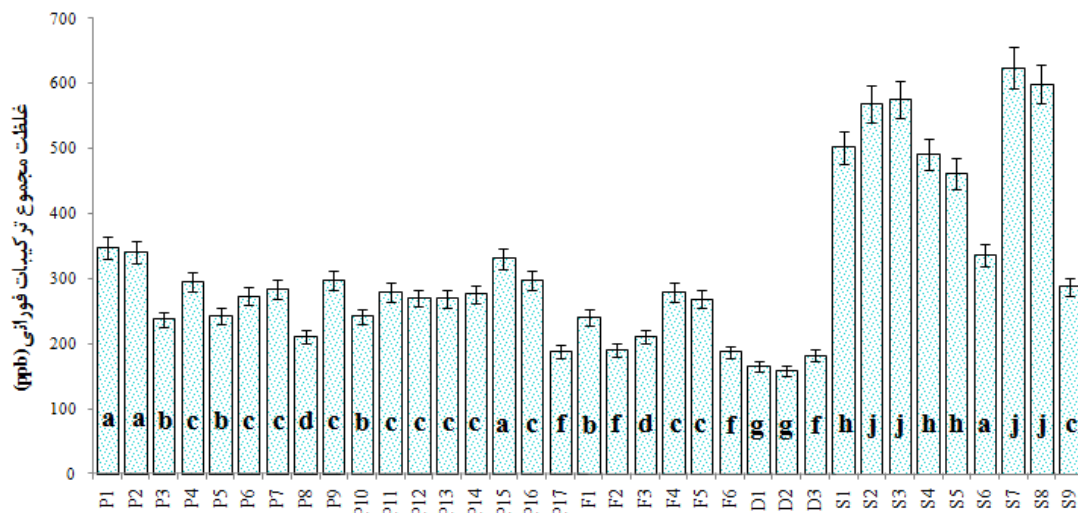
(شکل 3).

نتایج اندازه‌گیری غلظت ترکیبات فورانی در نمونه‌های غذای کودک بعد از آماده‌سازی در دو دمای مختلف:

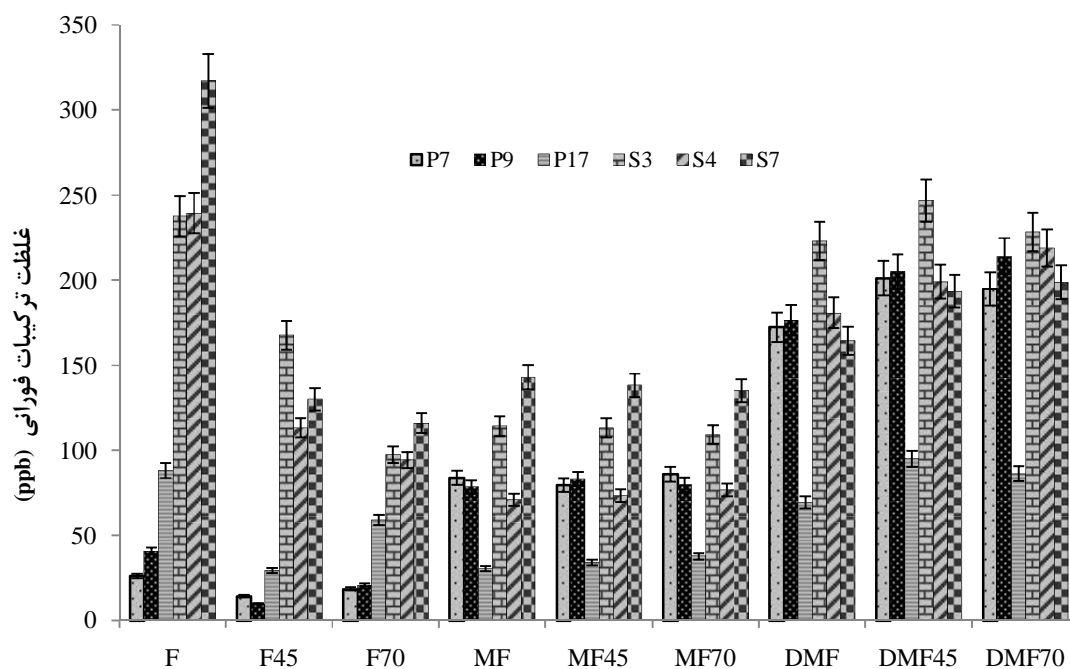
نتایج حاصل از تأثیر آماده‌سازی بر سه نمونه از غذای کودک پودری و سه نمونه از سوپ‌های آماده در دو دمای 45°C و 70°C نشان داد که مقدار فوران بعد از آماده‌سازی در مقایسه با مقدار اولیه در تمام نمونه‌ها (پودری و سوپ‌ها) و در هر دو دما کاهش معنی‌داری یافته است ($p < 0/05$). دمای 45°C در مقایسه با دمای 70°C باعث کاهش بیشتر میزان فوران در غذاهای کودک پودری شد و دمای 70°C در مقایسه با دمای 45°C مقدار فوران اولیه در سوپ‌های آماده را اندکی کاهش داد. مقایسه مقدار 2- متیل فوران در دو دمای آماده‌سازی در همه‌ی نمونه‌ها (پودری و سوپ) و در هر دو دما با مقدار اولیه اختلاف معنی‌داری را نشان نداد ($p > 0/05$). ولی مقدار 2و5- دی متیل فوران در مقایسه با مقدار اولیه در همه‌ی نمونه‌ها (پودری و سوپ) و در هر دو دما اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0/05$). این ترکیب در هر دو دما افزایش یافت و بین دو دما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 4).

در میان غذاهای کودک، نوشیدنی‌ها دارای کمترین میانگین ترکیبات فورانی و سوپ‌های آماده دارای بیشترین میانگین ترکیبات فورانی بودند. نوشیدنی‌های کودک از نظر مقدار فوران، 2-متیل فوران، 2و5- دی متیل فوران و مجموع ترکیبات فورانی با سه گروه دیگر اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$). پوره‌های میوه با سوپ‌های کودک از لحاظ فوران، 2-متیل فوران، 2و5- دی متیل فوران و مجموع ترکیبات فورانی اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$). بین غذاهای کودک پودری و پوره‌های میوه از نظر مقدار 2-متیل فوران، 2و5- دی متیل فوران و مجموع ترکیبات فورانی و بین غذاهای کودک پودری و سوپ‌های کودک از نظر مقدار فوران، 2-متیل فوران و مجموع ترکیبات فورانی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0/05$).

هم‌چنین در بین غذاهای کودک اختلاف معنی‌داری از نظر نوع اجزای تشکیل‌دهنده وجود داشت ($p < 0/05$), در بین نمونه‌ها، غذای کودک با کد S7 متعلق به گروه سوپ‌های آماده و با اجزای تشکیل‌دهنده‌ی سیب زمینی، کدو سبز، پاستا و ژامبون دارای بیشترین ($624/64 \pm 31/23 \mu\text{g/kg}$) و کد D2 متعلق به گروه نوشیدنی‌ها و با اجزای تشکیل‌دهنده‌ی آب سیب، پرتقال و هلو دارای کمترین مجموع ترکیبات فورانی ($159/24 \pm 7/96 \mu\text{g/kg}$) بودند.



شکل 3. نمودار غلظت مجموع ترکیبات فورانی (ppb) در انواع غذاهای کودک
حروف غیر یکسان بیانگر اختلاف معنی‌دار بین انواع غذاهای کودک با مواد متشکله متفاوت می‌باشد. ($p < 0/05$)



شکل 4. نمودار غلظت ترکیبات فورانی (ppb) بعد از دو دمای آماده سازی (F, MF و DMF به ترتیب مقدار فوران، 2-متیل فوران، 2و5-دی متیل فوران اولیه می باشند، F45، MF45 و DMF45 مقادیر این ترکیبات بعد از دمای آماده سازی 45°C و F70، MF70 و DMF70 مقادیر این ترکیبات بعد از دمای آماده سازی 70°C می باشند)

• بحث

توصیف اثر خطی متغیرها بر پاسخ، اثر متقابل و درجه‌ی دوم متغیرها را نیز توضیح می‌دهد. مدل درجه دوم بر داده‌ها منطبق شد. که R^2 0/95 و Adjusted- R^2 0/90 نشان‌دهنده‌ی یک رابطه‌ی قوی بین داده‌های واقعی و مدل پیشنهادی است و منطبق شدن خوب مدل را بر داده‌های واقعی بیان می‌کند.

همان طور که در شکل 2-الف مشاهده می‌شود، افزایش دما به علت کاهش دادن گرانیوی محلول استخراجی باعث تسریع در انتقال جرم از محلول نمونه به فضای فوقانی می‌شود. به علاوه، سبب افزایش فشار بخار و غلظت آنالیت‌ها در فضای فوقانی شده و در نتیجه، کارایی استخراج افزایش می‌یابد. این موضوع که با افزایش زمان استخراج، کارایی کم می‌شود، هم می‌تواند به خاطر کاهش یافتن حجم حلال استخراجی در دمای بالا باشد و هم به کاهش یافتن زمان مورد نیاز برای رسیدن به تعادل در دمای بالا مربوط باشد (17-19).

شکل 2-ب نشان می‌دهد که افزایش سرعت همزن به افزایش انتقال جرم و تسریع در تعادل بین دو فاز آبی و فضای فوقانی منجر می‌شود و بنابراین، راندمان استخراج

انتخاب حلال آلی مناسب برای روش HS-LPME جهت استخراج ترکیبات فورانی از غذاهای کودک: انتخاب یک حلال آلی مناسب برای روش HS-LPME امری ضروری است و باید ویژگی‌هایی مانند نقطه‌ی جوش بالا، فشار بخار پایین، خلوص بالا، رفتار کروماتوگرافی و ضریب جداسازی مناسب داشته باشد. بر این اساس، سه حلال آلی 1-اکتانول، ان-دکان و ان-دودکان انتخاب شدند (17-19). ان-دودکان نسبت به 1-اکتانول و ان-دکان غیر قطبی‌تر است و به همین دلیل رفتار کروماتوگرافی و ضریب تفکیک بهتری در ستون غیر قطبی دستگاه کروماتوگرافی گازی از خود نشان داد. هم‌چنین باعث جذب بهتر آنالیت‌های غیرقطبی مانند ترکیبات فورانی در فرایند ریزاستخراج از فضای فوقانی شد (20).

بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM): طرح مرکب مرکزی که از رایج‌ترین طرح‌های آزمایش رویه سطح پاسخ است، متغیرها را در 5 سطح بررسی می‌کند. این روش طراحی آزمایش علاوه بر

پژوهش روشی مناسب و انتخابی برای شناسایی و تجزیه‌ی مقادیر ناچیز ترکیبات فورانی در نمونه‌های غذای کودک است.

مقدار ترکیبات فورانی در انواع غذای کودک: حضور ترکیبات فورانی در همه‌ی نمونه‌های غذای کودک، نتایج FDA (2004)، EFSA (2004) و نتایج سایر پژوهش‌ها را تأیید می‌کند. این ترکیبات می‌توانند در غذاهای کودک به علت داشتن مواد مغذی مختلف طی فرایند تولید به وجود آیند (15، 6، 5، 2، 1). همان‌طور که در بخش نتایج مشاهده شد، نوشیدنی میوه‌ای کودک کمترین مقدار ترکیبات فورانی و سوپ‌های آماده بیشترین مقدار ترکیبات فورانی را داشتند. این یافته‌ها با نتایج سایر محققان همسو است (15، 2، 1). EFSA (2004) میزان ترکیب فورانی یافت شده در غذاهای کودک پودری را $2-13 \mu\text{g}/\text{kg}$ گزارش کرد، Ruiz و همکاران (2010) متوسط مقدار ترکیب فورانی یافت شده در پوره‌های میوه را $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ و بالاترین مقدار ترکیب فورانی برای سوپ‌های کودک را $64/6 \mu\text{g}/\text{kg}$ گزارش کردند. مقادیر ارائه شده در مقایسه با این پژوهش کمتر بود. این موضوع می‌تواند به علت تفاوت در مواد تشکیل‌دهنده و نوع فراوری باشد (6، 2). EFSA در سال 2009 بالاترین مقدار ترکیب فورانی یافت شده را $215 \mu\text{g}/\text{kg}$ گزارش کرد که مربوط به سوپ‌های کودک بود، همچنین Jesto و همکاران (2009) مقدار فوران در نوشیدنی‌های میوه‌ای را $4/7 \mu\text{g}/\text{kg}$ گزارش کردند که با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد (1، 22).

پایین‌تر بودن مقدار ترکیبات فورانی در نوشیدنی‌ها و پوره‌های میوه می‌تواند به علت pH پایین این دسته از غذاهای کودک باشد زیرا معلوم شده که تشکیل ترکیبات فورانی از قندها و اسید آسکوربیک در pH پایین کمتر صورت می‌گیرد و همچنین، ممکن است به علت فرایند حرارتی ملایم‌تری باشد که در تولید این نوع غذاهای کودک انجام می‌شود (24، 23، 2). سوپ‌های کودک pH بالاتری در مقایسه با سایر غذاهای کودک دارند و فراوری آن‌ها در داخل ظروف شیشه‌ای و تحت فرایند اتوکلاو صورت می‌گیرد که زمینه را برای تشکیل ترکیبات فورانی بیشتر مساعد می‌سازد. وجود مقادیر بالاتر اسیدهای چرب غیر اشباعی و کاروتنوئیدها علت دیگر زیاد بودن ترکیبات فورانی در سوپ‌های آماده است. این مواد بیشتر از سایر پیش‌سازها در تشکیل ترکیبات فورانی شرکت دارند (10، 23، 24).

افزایش می‌یابد. اضافه کردن نمک (کلرید سدیم) به محلول نمونه به علت افزایش قدرت یونی محلول (اثر Salting-out) عموماً باعث افزایش کارایی استخراج می‌شود؛ زیرا ملکول‌های آب مورد نیاز برای حل کردن آنالیت‌ها برای آبپوشی یون‌های نمک و حل کردن آن‌ها به کار می‌رود و در نتیجه تمایل آنالیت‌های استخراجی برای جدا شدن از فاز آبی و انتقال به فضای فوقانی و سپس انتقال به داخل ریز قطره افزایش می‌یابد (16، 13، 1). بعضی از محققان به تأثیر منفی نمک بر کارایی استخراج ترکیبات فورانی اشاره کرده‌اند که این پدیده ممکن است به علت برهم‌کنش میان یون‌های سدیم و حلقه‌ی فوران باشد که در نهایت به کاهش فشار بخار ترکیبات فورانی در فضای فوقانی منجر می‌شود و به دنبال آن کارایی استخراج کاهش می‌یابد (21، 15).

معتبرسازی روش اندازه‌گیری HS-LPME برای تعیین ترکیبات فورانی در غذاهای کودک: برای اطمینان از کارایی روش HS-LPME-GC/MS برای انجام تجزیه‌ی مورد نظر بررسی ارقام شایستگی روش ضروری است. معیارهای معتبرسازی یک روش تجزیه‌ای عبارتند از: صحت، دقت، محدوده‌ی خطی بودن، حد آشکارسازی و حد اندازه‌گیری بررسی شدند.

بررسی منحنی درجه‌بندی ترکیبات فورانی در آب نشان می‌دهد که این منحنی با ضریب همبستگی بالا ($0/99 > R^2$) در محدوده‌ی غلظتی $0/2-200 \mu\text{g}/\text{L}$ خطی است. بررسی نتایج مربوط به انحراف استاندارد نسبی نشان‌دهنده‌ی دقت خوب روش برای ترکیبات فورانی است ($3/84-7/06\%$). صحت روش اندازه‌گیری برای ترکیبات فورانی در حد قابل قبول است ($83/80-103/64\%$). مقادیر فاکتور تغلیظ برای فوران 972، 2-متیل فوران 640 و 2و5-دی متیل فوران 503 برابر بوده که برای این روش در حد قابل قبول است. حد تشخیص روش پیشنهادی برای ترکیبات فورانی $0/021-0/038 \text{ng}/\text{g}$ می‌باشد که کمتر از حد تشخیص سایر روش‌های تجزیه است. حد اندازه‌گیری به دست آمده برای ترکیبات فورانی توسط این روش نیز ($0/069-0/126 \text{ng}/\text{g}$) کمتر از حد اندازه‌گیری روش‌های دیگر است (15، 11، 2، 1). مقایسه‌ی ارقام شایستگی روش پیشنهادی با دو روش دیگر نشان می‌دهد که منحنی درجه‌بندی آن در محدوده‌ی قابل قبولی برای اندازه‌گیری ترکیبات فورانی خطی است و دقت، حد تشخیص و حد اندازه‌گیری روش HS-SPME بهتر از دو روش دیگر است و روش پیشنهادی در این

آماده‌سازی مربوط به فرار بودن و نقطه‌ی جوش پایین این ترکیب (حدود 31°C) است که طی آماده‌سازی به همراه بخار آب تبخیر و خارج می‌شود. مطابق با این تحقیق کاهش 29 تا 55 درصدی فوران در سوپ سبزیجات و گوشت‌ها طی آماده‌سازی و کاهش بیش از 85 درصدی فوران در سوپ‌های کودک در طی آماده‌سازی 5/5 ساعته در آب جوش گزارش شده است (14، 8).

چندین محقق هم به عدم کاهش ترکیبات فورانی طی آماده‌سازی اشاره کرده‌اند و عقیده دارند که این ترکیبات می‌توانند در ماتریکس ماده غذایی حفظ شوند و انتشار آن‌ها درون بافت غذایی به کندی صورت گیرد. این یافته‌ها با عدم تغییر 2-متیل فوران در تحقیق حاضر مطابقت دارد (25، 12، 9). مقدار 2 و 5-دی متیل فوران در پژوهش حاضر طی آماده‌سازی در هر دو دما از مقدار اولیه بیشتر شد. یافته‌های قبلی بیشتر به فوران و متیل فوران و به دمای بالاتر (80°C) در تشکیل دوباره‌ی ترکیبات فورانی در نمونه‌های غذایی اشاره دارند (26، 11). علت افزایش 2 و 5-دی متیل فوران طی آماده‌سازی می‌تواند به فرار بودن کمتر آن و عدم خروج آن از غذای کودک طی آماده‌سازی یا تشکیل دوباره‌ی آن از ترکیبات غذایی و سایر ترکیبات فورانی باشد. در آماده‌سازی غذای کودک نه تنها نوع غذای کودک نقش دارد، بلکه دمای آماده‌سازی هم می‌تواند مؤثر باشد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی/انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، به خاطر حمایت‌های مالی از این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

در تشکیل ترکیبات فورانی در غذاهای کودک نوع ترکیبات تشکیل‌دهنده‌ی آن‌ها مؤثر است در این مطالعه، بیشترین مقدار ترکیبات فورانی در سوپ‌های کودک و با کدهای S1-S8 مشاهده شد که مطابق با پژوهش‌های دیگر است. معلوم شده است که سوپ‌های آماده با ترکیباتی مانند هویج، گوشت گاو، ماهی، کدو سبز، سیب‌زمینی، پاستا و سبزیجات سبز ترکیبات فورانی بیشتری در مقایسه با سایر غذاهای کودک دارند (25، 15، 1). وجود اختلاف معنی‌دار بین انواع غذاهای کودک عرضه شده در بازار تهران می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع مواد تشکیل‌دهنده و شرایط متفاوت فراوری در کارخانجات تولیدی باشد.

با در نظر گرفتن کمترین و بالاترین غلظت ترکیب فوران موجود در انواع غذاهای کودک بررسی شده در این پژوهش، مقدار احتمالی دریافت فوران با مصرف 100 گرم (طبق دستورالعمل نوشته شده روی نمونه) از چنین غذاهایی در حدود $0/078-4/22\mu\text{g}/\text{kg}$ به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است (با فرض وزن 7/5 کیلوگرم برای کودک 6 ماهه) که از حداکثر دریافت فوران گزارش شده توسط کمیته‌ی مشترک متخصص *FAO/WHO* در سال 2010 (*JECFA*) بیشتر است. دریافت ترکیبات فورانی از سایر منابع، پایش نحوه‌ی تولید و فراوری نیاز به مطالعه‌های دیگری دارد. از آنجا که مقدار مصرف روزانه غذای کودک در ایران و همچنین مقدار دریافت ترکیبات فورانی از سایر منابع غذایی در رژیم روزانه کودک مشخص نیست، نمی‌توان میزان دریافت روزانه واقعی ترکیبات فورانی را گزارش کرد.

تأثیر دمای آماده‌سازی بر مقدار ترکیبات فورانی اولیه در غذاهای کودک: علت کاهش فوران در هر دو دمای

References

- Jestoi M, Järvinen T, Järvenpää E, Tapanainen H, Virtanen S, Peltonen K. Furan in the baby-food samples purchased from the Finnish markets–Determination with SPME–GC–MS. *Food Chem* 2009;117(3):522-8.
- Ruiz E, Santillana MI, Nieto MT, Cirugeda ME, Sánchez JJ. Determination of furan in jarred baby food purchased from the Spanish market by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS-GC-MS). *Food Addit Contam* 2010;27(9):1208-14.
- NTP. Toxicology and carcinogenesis studies of furan (CAS No. 110-00-9) in F344 rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Available at: ntp.niehs.nih.gov/?objectid=070963E6-98E1-F729-1D2FC64DB99D24CC. 1993.
- IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, dry cleaning, some chlorinated solvents and other industrial chemicals 63, 3194–3407. France: Lyon. 1995.
- USFDA. Exploratory data on furan in foods: individual food products. Available at: <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Furan/UCM078439>. 2004.

6. EFSA. Report on the scientific panel on contaminants in the food chain on provisional findings on furan in food. *EFSA J* 2004; 137:1–20.
7. Heppner CW, Schlatter JR. Data requirements for risk assessment of furan in food. *Food Addit Contam* 2007;24(suppl 1):114-21.
8. Zoller O, Sager F, Reinhard H. Furan in food: headspace method and product survey. *Food Addit Contam* 2007;24(suppl 1):91-107.
9. Crews C, Castle L. A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods. *Trends in Food Science & Technology*. 2007;18(7):365-72.
10. Locas CP, Yaylayan VA. Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan a food toxicant. *J Agricul Food Chem* 2004;52(22):6830-6.
11. Becalski A, Forsyth D, Casey V, Lau BPY, Pepper K, Seaman S. Development and validation of a headspace method for determination of furan in food. *Food Addit Contam* 2005; 22(6):535-40.
12. Hasnip S, Crews C, Castle L. Some factors affecting the formation of furan in heated foods. *Food Addit Contam* 2006;23(3):219-27.
13. Goldmann T, Périsset A, Scanlan F, Stadler RH. Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography–mass spectrometry (SPME-GC-MS). *Analyst* 2005;130(6):878-83.
14. Bianchi F, Careri M, Mangia A, Musci M. Development and validation of a solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of furan in baby-food. *J Chromatogr A*. 2006;1102(1-2):268-72.
15. Ariseto AP, Vicente E, Toledo MCDF. Determination of furan levels in commercial samples of baby food from Brazil and preliminary risk assessment. *Food Addit Contam* 2010;27(8):1051-9.
16. Altaki M, Santos F, Galceran M. Analysis of furan in foods by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *J Chromatogr A*. 2007;1146(1):103-9.
17. Tankeviciute A, Kazlauskas R, Vickackaite V. Headspace extraction of alcohols into a single drop. *Analyst*. 2001;126(10):1674-7.
18. Theis AL, Waldack AJ, Hansen SM, Jeannot MA. Headspace solvent microextraction. *Analytic chem* 2001;73(23):5651-4.
19. Bicchi C, Cordero C, Liberto E, Sgorbini B, Rubiolo P. Headspace sampling of the volatile fraction of vegetable matrices. *J Chromatogr A*. 2008;1184(1):220-33.
20. Mohammadi A, Alizadeh N. Automated dynamic headspace organic solvent film microextraction for benzene, toluene, ethylbenzene and xylene: renewable liquid film as a sampler by a programmable motor. *J Chromatogr A*. 2006;1107(1):19-28.
21. La Pera L, Liberatore A, Avellone G, Fanara S, Dugo G, Agozzino P. Analysis of furan in coffee of different provenance by head-space solid phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry: effect of brewing procedures. *Food Addit Contam* 2009;26(6):786-92.
22. EFSA. Technical report of EFSA prepared by Data Collection and Exposure Unit (DATEX) on ‘Monitoring of furan levels in food’. *Scientific Report*. 304:1–23; 2009.
23. Limacher A, Kerler J, Conde-Petit B, Blank I. Formation of furan and methylfuran from ascorbic acid in model systems and food. *Food Addit Contam* 2007;24(sup1):122-35.
24. Becalski A, Seaman S. Furan precursors in food: a model study and development of a simple headspace method for determination of furan. *J AOAC Int* 2005;88(1):102-6.
25. Lachenmeier DW, Reusch H, Kuballa T. Risk assessment of furan in commercially jarred baby foods, including insights into its occurrence and formation in freshly home-cooked foods for infants and young children. *Food Addit Contam* 2009; 26(6):776-85.
26. Morehouse KM, Nyman PJ, McNeal TP, DiNovi MJ, Perfetti GA. Survey of furan in heat processed foods by headspace gas chromatography/mass spectrometry and estimated adult exposure. *Food Addit Contam* 2008;25(3):259-64.

Determination of furanic compounds in baby-foods in Tehran market using the microextraction technique and effects of preparation temperature on their concentration

Habibi H¹, Mohammadi A^{*2}, Mohammadi M³, Amiri Z⁴, Azadniya E⁵

1- M.Sc Student in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences Tehran, Iran

2- *Corresponding Author: Assistant Prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Email: ab.mohammadi@sbtmu.ac.ir

3- Researcher, Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Associate Prof, Dept. of Basic Science, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- M.Sc in Analytical Chemistry, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received 16 Oct, 2012

Accepted 9 Feb, 2013

Background and Objective: Furan is classified as a *probable human carcinogen* (group 2B) by the International Agency for Research on Cancer. The Joint FAO/WHO Expert Committee (JECFA) reported in 2010 that the maximum dietary exposure to furan is 2 µg/kg body weight per day. The objective of this study was to determine the furanic-compounds content of baby-foods in Tehran market, using the microextraction technique, based on headspace liquid-phase micro-extraction/mass spectrometry (HS-LPME-GC/MS) and investigate the effects of two preparation temperatures (45 and 70°C) on their concentrations.

Materials and Methods: In order to optimize the factors affecting furanic compound extraction using the response surface methodology and central composite design, 30 experiments for 4 variables at 5 levels were performed. To validate the proposed method merit figures of the method were determined. Furanic compounds from 35 different baby-food samples (powdered, fruit puree, baby drinks, and ready-soups) marketed in Tehran were extracted by HS-LPME at optimal extraction conditions (temperature: 40°C, time: 15 min, stirrer rate: 700 rpm, salt: 1 gram). The samples were prepared at 2 temperatures, namely, 45°C and 70°C.

Results: Merit figures of the proposed method were in some cases better than those of previous methods. There were statistically significant differences ($p < 0.05$) among the different baby-foods with regard to furan concentration. Preparation of the samples at both temperatures brought about a reduction in the furan content, with an increase in the 2,5-dimethylfuran content ($p < 0.05$). The lowest and highest total furanic compound concentrations were $159.24 \pm 7.96 \mu\text{g kg}^{-1}$ and $624.64 \pm 31.23 \mu\text{g kg}^{-1}$ in powdered baby-foods and baby soups, respectively.

Conclusion: In the present work, a simple and fast micro-extraction method (HS-LPME) for extraction and pre-concentration of furanic compounds in baby-foods was developed and validated. The effective parameters on performance of the micro-extraction process were optimized. Differences among the different baby food samples with regard to furanic compounds contents are due to different ingredients used in their production.

Keywords: Furan, Baby-food, Headspace liquid-phase micro-extraction, Gas chromatography/mass spectrometry, Response surface methodology