

مقایسه روش اسپکتروفتومتری با HPLC در اندازه‌گیری سوربات پتاسیم در آب‌میوه‌های صنعتی

منیرالدین شریعت^۱، لیلا لکزاده^{۲*}، مهرالسادات میرمحمدی^۳

۱. دانش آموخته کارشناس ارشد صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا، شهرضا، ایران

۲. استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا، شهرضا، ایران

۳. استادیار گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرضا، شهرضا، ایران

* نویسنده مسئول مکاتبات: lakzadeh@iaush.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۴/۷/۲۶ پذیرش نهایی: ۹۵/۱۰/۱۵)

چکیده

امروزه جستجوی نگهدارنده‌ها در مواد غذایی گام مهمی برای تأمین ایمنی غذایی مصرف‌کنندگان است. سوربات پتاسیم یکی از رایج‌ترین نگهدارنده‌ها است که استفاده از آن برای مقابله با فساد قارچی در برخی مواد غذایی مجاز است. هدف از این تحقیق اندازه‌گیری سوربات در آب‌میوه‌های صنعتی، ایران بود که به این منظور از دو روش اسپکتروفتومتری و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا استفاده شد تا با مقایسه نتایج دو روش بتوان میزان قابل اعتماد بودن نتایج روش اسپکتروفتومتری را مورد بررسی قرار داد. برای این منظور ۲۸ نمونه آب‌میوه صنعتی نمونه‌گیری و آزمایش گردید. نتایج نشان داد که ۱۰۰ درصد آب‌میوه‌ها حاوی سوربات پتاسیم بودند. بیشترین میزان سوربات در آب‌انار ۷/۲۲ و ۱/۲۳ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب در روش اسپکتروفتومتری و HPLC گزارش شد. بالا بودن میزان سوربات در روش اسپکتروفتومتری را می‌توان به تداخل سایر مواد در جذب اشعه ماوراء بنفش دانست. مقایسه نتایج روش اسپکتروفتومتری با HPLC نشان داد که روش اسپکتروفتومتری با وجود سادگی و ارزانی نمی‌تواند برای تعیین میزان دقیق سوربات کارایی داشته باشد. همچنین با توجه به وجود سوربات در آب‌میوه‌ها، نظارت بیشتر بر نگهدارنده‌ها لازم به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: سوربات پتاسیم، آب‌میوه، اسپکتروفتومتری، HPLC

مقدمه

ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی در طی زمان نگهداری تحت تأثیر واکنش‌های شیمیایی، آنزیمی و میکروبی کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های رایج برای حفظ کیفیت غذاهای بسته‌بندی شده، استفاده از مواد نگهدارنده در تکنولوژی تولید آن‌ها می‌باشد. این مواد از طریق توقف یا به تاخیر انداختن رشد میکروب‌ها سبب کاهش خطر باکتری‌های پاتوژن و سموم آن‌ها می‌گردند همچنین از فساد مواد غذایی و خسارات اقتصادی در این زمینه جلوگیری به عمل می‌آورند (Sariry and Ghafory, 2006).

امروزه از بنزوات سدیم و سوربات پتاسیم به‌طور گسترده برای نگهداری مواد غذایی فرآوری شده مانند کیک، نوشابه‌ها، سس‌ها، پنیر و ... استفاده می‌شود. این مواد معمولاً بر روی رشد مخمر، کپک و برخی باکتری‌ها مؤثر هستند. سوربات با مهار آنزیم‌های دهیدروژناز در اکسیداسیون اسیدچرب، تداخل ایجاد کرده و همچنین با مهار آنزیم‌های حاوی سولفیدریل باعث جفت نشدن فسفوریلاسیون اکسیداتیو می‌گردد. مهار آنزیم کاتالاز در کپک‌ها که نتیجه آن افزایش هیدروژن پراکسید در سلول می‌باشد، روش دیگری برای جلوگیری از رشد و بقا میکروب‌ها بویژه کپک و مخمرها توسط سوربات می‌باشد (Aquino et al., 2013; Vesal et al., 2013).

از نظر FDA/WHO هر چند نگهدارنده‌های سوربات و بنزوات جزو مواد گراس (Generally Regarded As Safe) هستند ولی به‌دلیل داشتن عوارض، مصرف آن‌ها در غلظت بسیار کم توصیه شده است و دوز روزانه ۲۵ و ۵ میلی‌گرم برای هر کیلوگرم

وزن بدن به‌ترتیب برای سوربات و بنزوات در نظر گرفته شده است. براساس تحقیقات صورت‌گرفته این مواد می‌توانند سبب ایجاد آلرژیک، ضعف سیستم ایمنی، ناهنجاری روحی در بچه‌ها، تهوع، اسهال و از دست دادن مواد مغذی شده و همچنین نقش بازدارنده بر روی آنزیم‌های ضد میکروبی بزاق شامل پروکسیداز و تایروزیناز دارند. این آنزیم‌ها در بهداشت دهان و دندان مؤثر بوده و به‌عنوان اولین سیستم دفاعی در دستگاه گوارش عمل می‌نمایند (Gholipour et al., 2013; Heidary and Sariry, 2010; Sariry and Ghafory, 2006). بنابراین امروزه سعی می‌گردد که از روش‌هایی برای نگهداری طولانی مدت مواد غذایی استفاده شود که ضمن حفظ ارزش تغذیه‌ای و کیفیت غذا، کمترین اثرات را بر روی سلامت مصرف‌کنندگان داشته باشد. استفاده از نگهدارنده‌های طبیعی در مواد غذایی در صورت امکان، جایگزین مناسبی برای مواد نگهدارنده می‌باشد. بر همین اساس اجنوردی و همکاران از پوشش حاوی عصاره آویشن شیرازی برای افزایش ماندگاری و مقابله با فساد قارچی میوه هلو استفاده کردند که نتایج در مقایسه با نمونه شاهد قابل توجه بود. در دو مطالعه جداگانه کاربرد اسانس برخی گیاهان دارویی را برای مقابله با رشد قارچ اسپرژیلوس در جهت کاهش تولید سم آفلاتوکسین نشان دادند (Agnavardy et al., 2012; Ferreira et al., 2013; Gorran et al., 2013; Prakash et al., 2015).

در میان انواع مواد غذایی آب‌میوه‌ها با در اختیار داشتن املاح و ویتامین‌ها ضمن رفع عطش، در تأمین برخی مواد مغذی مؤثر هستند و افراد به‌علت برخورداری از خواص میوه‌ها این نوشیدنی را جایگزین

شده است. بنابراین در این مطالعه ضمن بررسی درصد تقلب در آب میوه‌ها، میزان دقت روش اسپکتروفتومتری در مقایسه با روش قابل اعتماد HPLC نیز مورد توجه قرار می‌گیرد. از طرف دیگر سعی می‌شود، روش‌های آنالیز سوربات پتاسیم در زمان کمتر، هزینه پایین‌تر و با مصرف حداقل حلال آلی انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این تحقیق شامل سوربات پتاسیم، اسید کلریدریک، اسید سولفوریک، اتر و سدیم هیدروژن فسفات از شرکت مرک آلمان خریداری شد. همچنین از آب و استونیتریل HPLC گرید برای کروماتوگرافی استفاده شد.

- جمع‌آوری و آماده سازی نمونه‌ها

تعداد ۲۸ نمونه آب میوه صنعتی با برچسب بدون مواد نگهدارنده شامل انواع میوه‌های انار، آلبالو، انبه، آناناس، هلو، زردآلو و پرتقال به روش نمونه‌برداری خوشه‌ای از سوپر مارکت‌های شهر خریداری گردید. نمونه‌ها تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری و سپس بر روی هر نمونه، اندازه‌گیری سوربات پتاسیم با دو روش اسپکتروفتومتری و HPLC انجام شد. آزمایشات بر روی هر نمونه به صورت دوتایی انجام گرفت. به منظور استخراج سوربات برای روش اسپکتروفتومتری، ابتدا ۱۰ گرم از نمونه‌ها توسط آب مقطر رقیق شده و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسید سپس ۱۰ میلی‌لیتر از آن‌ها به قیف جدا کننده منتقل و به آن ۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک (۱+۱) افزوده و پس از افزودن ۳ میلی‌لیتر اتر سبک نفت به مدت ۱۰ دقیقه به شدت تکان داده شد و فاز بالایی جمع‌آوری گردید. اسیدسوربیک در این

مناسبی برای انواع نوشابه‌های زیان‌آور می‌دانند. هر چند مصرف آب میوه طبیعی، تازه و خانگی در اولویت قرار دارد، اما سرعت زندگی ماشینی گاهی فرصت گرفتن آب میوه در خانه را از مردم سلب می‌کند و در نتیجه توجه به آب میوه‌های صنعتی رو به افزایش می‌باشد. بنابراین بررسی سلامت آب میوه‌های صنعتی که دارای برچسب بدون نگهدارنده می‌باشد، به‌ویژه برای مصرف کودکان حائز اهمیت است (Terry and Berger Blair, 2013).

براساس قوانین هر کشور و با توجه به عوارض احتمالی نگهدارنده‌ها بر سلامتی انسان، آنالیز مواد غذایی از جهت تأیید وجود یا مقدار مجاز این مواد در صنعت غذا اهمیت دارد و روش‌های اندازه‌گیری این نگهدارنده‌ها برای کنترل کیفیت و کمک به تأیید میزان مجاز دریافت روزانه مصرف کننده مهم هستند. مطالعات مختلف روش‌های متفاوتی را برای اندازه‌گیری سوربات و بنزوات مثل اسپکتروفتومتری مرئی فرابنفش، کروماتوگرافی گازی و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا معرفی کرده‌اند. البته در میان این روش‌ها کروماتوگرافی مایع با کیفیت بالا (HPLC) به عنوان یک روش اندازه‌گیری ساده، سریع و دقیق جهت جداسازی و اندازه‌گیری بنزوئیک اسید و سوربیک اسید پیشنهاد شده است (Akbari-adergani et al., 2013; Uarino et al., 2011).

هدف از این تحقیق بررسی وجود نگهدارنده سوربات در آب میوه‌های صنعتی با دو روش اسپکتروفتومتری و HPLC می‌باشد. روش اسپکتروفتومتری یک روش کم هزینه، راحت بوده و در استاندارد ملی ایران برای اندازه‌گیری سوربات معرفی

گردید. همچنین از ستون C₁₈ با ابعاد ۰/۱۵ × ۰/۴۶ استفاده شد. حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، سرعت جریان ۰/۸ میلی‌لیتر در دقیقه و دمای ستون ۲۵ درجه سلسیوس (دمای اتاق) بود. حداکثر جذب اسید سوربیک در طول موج ۲۵۰ نانومتر انجام شد و فاز متحرک در ستون شامل ۰/۵۰٪ بافر فسفات با pH=۳/۶ و ۰/۵۰٪ استونیتریل بود.

– رسم منحنی استاندارد برای اندازه‌گیری سوربات

برای این منظور به پنج بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتری به ترتیب محلول‌های ۰/۱، ۰/۵، ۱، ۵، ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر از محلول استاندارد ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر سوربات پتاسیم به روش رقیق‌سازی متوالی توسط آب دوبار تقطیر تهیه شد. منحنی استاندارد به‌طور جداگانه برای هر دو روش توسط میزان جذب محلول‌های سوربات با غلظت‌های مشخص رسم گردید. به‌طوری‌که محور افقی در این منحنی نشان‌دهنده غلظت سوربات و محور عمودی نشان‌دهنده جذب خوانده شده بود. در نهایت مقدار سوربات پتاسیم مطابق نمودار (۱) و (۲) در تمام نمونه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم با جاگذاری در معادله منحنی استاندارد محاسبه گردید.

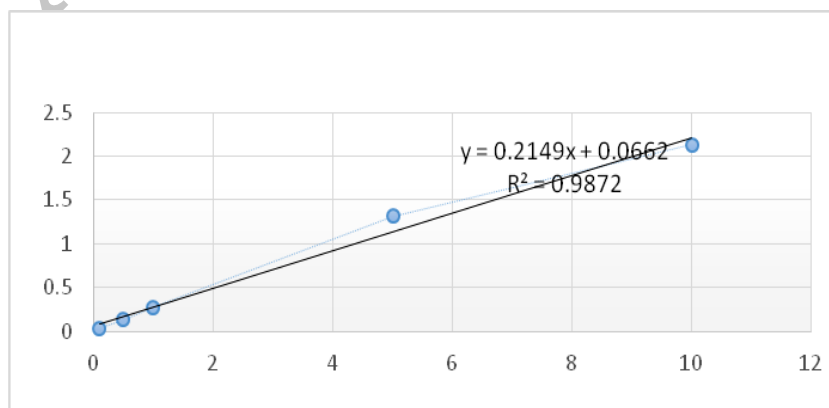
شرایط توسط اتر سبک نفت استخراج گشت. آماده‌سازی نمونه‌ها در روش HPLC شامل سانتریفوژ کردن ۳۰ گرم آب‌میوه بدون افزودن هیچ ماده‌ای با سرعت ۳۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه و سپس صاف کردن با کاغذ واتمن بود. ۲۰ میکرولیتر از نمونه پس از عبور از فیلتر ۲۵ میکرومتری به دستگاه تزریق شد (ISIRI, 4825/2008).

– اندازه‌گیری سوربات پتاسیم احتمالی در نمونه‌ها با روش اسپکتروفتومتری

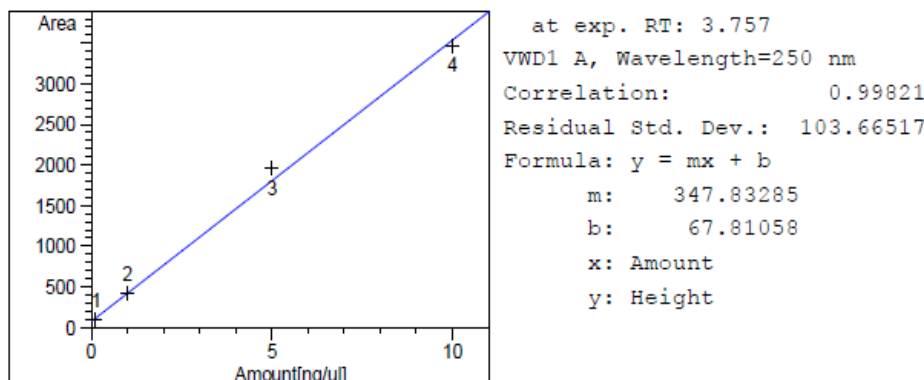
پس از استخراج سوربات، جذب نوری هر نمونه با دستگاه اسپکتروفتومتری مدل PG instrument T70 در طول موج ۲۵۰ nm در مقابل نمونه شاهد قرائت گردید. محلول شاهد حاوی آب مقطر، اسید کلریدریک و اتر سبک نفت بود. در این پژوهش به علت وجود مشکل تداخل طیف جذبی در ناحیه ماوراء بنفش با سوربات پتاسیم، این روش اندازه‌گیری با روش HPLC معتبرسازی شد.

– اندازه‌گیری سوربات پتاسیم احتمالی در نمونه‌ها با روش HPLC

برای انجام این آزمایش از دستگاه کروماتوگرافی مدل ۱۲۰۰ Agilent با دکتور UV-Vis استفاده



نمودار (۱) – منحنی استاندارد برای تعیین مقادیر سوربات در نمونه‌های آب‌میوه با روش اسپکتروفتومتری



نمودار (۲) - منحنی استاندارد برای تعیین مقادیر سوربات در نمونه‌های آب‌میوه با روش HPLC

- تعیین درصد بازیابی

به منظور بررسی و بازیابی صحت و دقت روش آزمایشگاهی بایستی درصد بازیابی قبل و بعد از اضافه کردن سوربات پتاسیم اندازه‌گیری شده تا به این صورت خطای روش حذف گردد. برای به دست آوردن درصد بازیابی ابتدا ۳ میلی‌لیتر از آب‌میوه طبیعی بدون سوربات، صاف شده به قیف دکانتور انتقال داده شد و سپس به ترتیب به آن ۱ میلی‌لیتر از محلول ۵۰ ppm سوربات (C₀)، ۱ میلی‌لیتر کلریدریک رقیق و ۳ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر افزوده شد و بعد از هم‌زدن به دستگاه اسپکتروفتومتری انتقال یافت تا جذب آن خوانده شود سپس از روی منحنی درجه بندی غلظت سوربات محاسبه شد (C_e). سپس درصد بازیابی آن از فرمول زیر محاسبه گردید و مقادیر پس از اعمال ضریب بازیابی در هر آب‌میوه گزارش شد.

$$\%R = \frac{C_e}{C_0} \times 100$$

یافته‌ها

بر اساس این تحقیق ۱۰۰٪ نمونه‌های مورد مطالعه دارای نگهدارنده سوربات پتاسیم بودند. در جدول (۱)

میزان سوربات پتاسیم اندازه‌گیری شده با روش اسپکتروفتومتری در تمام انواع نمونه‌ها مشخص شده است. دامنه غلظت سوربات اندازه‌گیری شده در آب‌میوه‌ها بین ۱۰/۴۸ - ۰/۵۳ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب در آب‌آناناس و آب‌انار محاسبه گردید. با توجه به این‌که بر اساس اداره استاندارد ایران استفاده از نگهدارنده‌ها در آب‌میوه‌ها ممنوع می‌باشد، این مقادیر همه نشان‌دهنده وجود تقلب در تولید این محصول است. بین انواع آب‌میوه‌ها برای استفاده از سوربات از نظر آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. یعنی نوع آب‌میوه و میزان اسیدیته آن در میزان مصرف از این نگهدارنده موثر نبوده است.

برای تایید مقادیر روش اسپکتروفتومتری در برخی از انواع نمونه‌ها، میزان سوربات پتاسیم با روش HPLC نیز اندازه‌گیری شد. چون در اندازه‌گیری سوربات با روش اسپکتروفتومتری مرئی - فرابنفش علی‌رغم استفاده از روش استخراج مایع - مایع، وجود عوامل مزاحم در بافت پیچیده آب‌میوه می‌تواند منجر به پهن شدگی پیک گردد که بر این اساس نتایج کمی

قابل قبولی به دست نمی‌آید ولی در روش HPLC چون جداسازی از عوامل مزاحم و بافت کامل‌تر انجام می‌شود، حد تشخیص کمتر و حساسیت روش بیشتر خواهد شد.

برای تعیین روش HPLC و صحت داده‌ها از آب میوه خالص ۱۰ بار رقیق شده به عنوان شاهد استفاده گردید و محلول‌های استاندارد سوربات نیز در آب میوه رقیق شده، تهیه و به دستگاه تزریق شد. نرم افزار دستگاه نیز منحنی درجه‌بندی را بر اساس سطح زیر پیک‌های بدست آمده رسم و پس از پرون یابی، معادله و شکل را مطابق نمودار (۲) رسم نمود. همچنین به منظور تشخیص محل پیک، پس از تزریق آب میوه خالص به ستون به آن غلظت‌های مختلف سوربات اضافه شد که پیک به دست آمده در زمان ۳/۷ دقیقه به ترتیب تغییر ارتفاع داد و همانطور که در نمودار (۳) مشاهده می‌شود. انتخاب زمان خروجی مناسب سوربات در آب میوه صحیح است. البته این کار برای هر آب میوه به‌طور جداگانه انجام شد ولی نتایج، اختلاف زمانی فاحشی را نشان نداد.

در این مطالعه فاز متحرک در ستون HPLC شامل ۵۰٪ بافر فسفات و ۵۰٪ استونیتریل بود که از مزایای استفاده از استونیتریل می‌توان به تفکیک بالا، زمان جداسازی کوتاه و ایجاد پیک‌های متقارن اشاره نمود. بافرهای فسفات نیز بسیار پایدار بوده و تداخلی با سیستم HPLC ندارند. از سوی دیگر این حلال در طول موج جذبی سوربات در آشکارساز مرئی-فرابنفش جذب ندارد و در اندازه‌گیری آن مزاحمت ایجاد

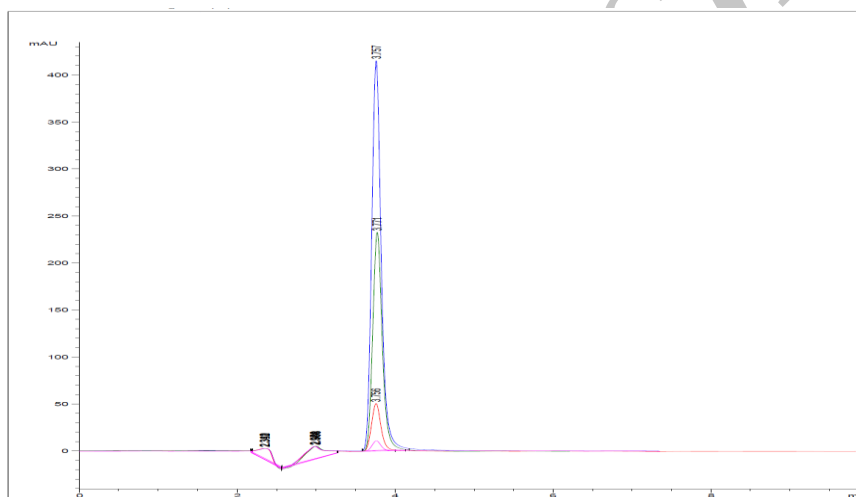
نمی‌کند. بنابراین می‌توان گفت که در این تحقیق استفاده از بافر سدیم هیدروژن فسفات/فسفوریک اسید به همراه استونیتریل سبب جداسازی موفقیت‌آمیز این نگهدارنده و ایجاد پیک‌های بسیار متقارن در زمان کم‌تر شد.

نمودار (۴) نشان دهنده کروماتوگرام سوربات در آب‌پرتقال می‌باشد که در آن زمان بازداری سوربات حدود ۳/۷ دقیقه قابل مشاهده است. همچنین به دلیل استخراج سوربات از آب میوه و انجام کلیناپ (clean up) پیک‌های مزاحم بسیار کمتری در نمودار دیده می‌شود. کمترین میزان سوربات جدا شده با روش HPLC ۰/۳۲ میلی‌گرم در لیتر در آب‌هلو بود. در نمودار ۵ نیز تفاوت در مقادیر اندازه‌گیری شده سوربات پتاسیم با دو روش قابل مشاهده می‌باشد. براین اساس می‌توان بیان نمود که در تمام نمونه‌ها سوربات پتاسیم اندازه‌گیری شده در روش اسپکتروفتومتری بیشتر از روش HPLC می‌باشد و چون صحت روش HPLC برای اندازه‌گیری سوربات در آب میوه براساس قرائت میزان مشخصی از سوربات در آب میوه با هر دو روش و بررسی میزان قرابت با مقدار حقیقی، بسیار بیشتر از روش اسپکتروفتومتری بدست آمد، می‌توان به طور قطع به داده‌های این روش استناد کرد.

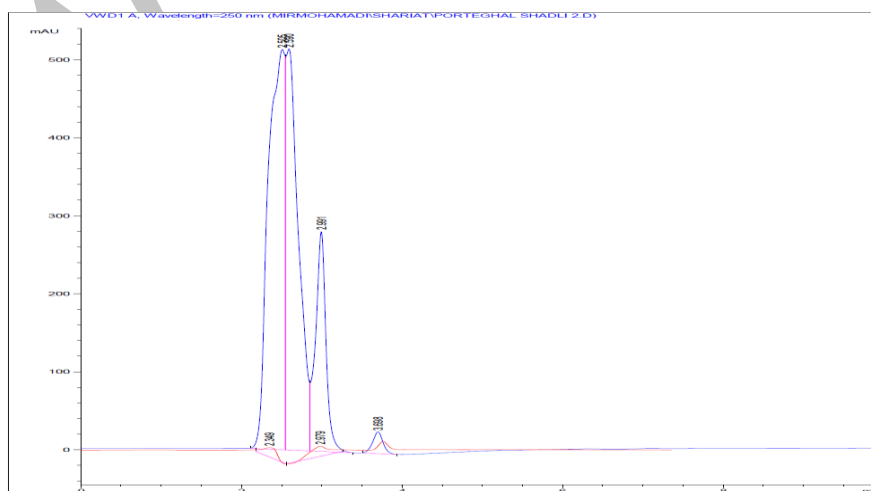
انجام آزمون رگرسیون نیز در ارزیابی میزان همبستگی نتایج این دو روش، نشان داد که بین این دو روش ارتباط آماری معنی‌داری ($p \leq 0.05$) وجود دارد و میزان این ارتباط با توجه به میزان R^2 در اندازه متوسط و به صورت مثبت می‌باشد.

جدول (۱) - مقادیر سوربات پتاسیم در انواع آبمیوه با روش اندازه گیری اسپکتروفتومتری

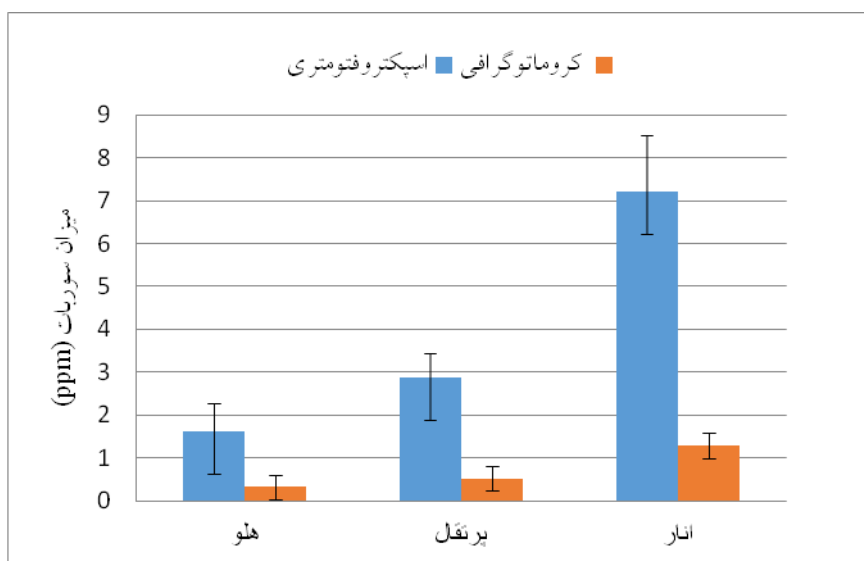
نوع آبمیوه	میانگین سوربات	انحراف معیار (mg/l)	دامنه	درصد بازیابی
انبه	۲/۵۲	۰/۲۰	۱/۷۱ - ۳/۳۲	۷۳/۴۰
آناناس	۲/۱۲	۰/۹۲	۰/۵۳ - ۴/۱۱	۸۸/۳۹
هلو	۱/۶۲	۰/۶۴	۰/۶۶ - ۲/۸۰	۹۱/۷۴
پرتقال	۲/۸۸	۰/۵۶	۱/۳۸ - ۴/۱۹	۷۴/۷۰
آلبالو	۵/۱۳	۰/۶۷	۳/۰۷ - ۷/۲۶	۷۲/۸۰
انار	۷/۲۲	۱/۳۰	۵/۲۳ - ۱۰/۴۸	۸۸/۶۰
زردآلو	۲/۶۲	۰/۶۵	۱/۴۱ - ۳/۷۲	۷۰/۶۰



نمودار (۳) - کروماتوگرام استاندارد سوربات پتاسیم در آب پرتقال با روش HPLC



نمودار (۴) - کروماتوگرام اندازه گیری سوربات پتاسیم در آب پرتقال با روش HPLC



نمودار (۵) - مقایسه مقادیر دو روش آزمایشگاهی در تعیین میزان سوربات پتاسیم در آب‌میوه

بحث و نتیجه‌گیری

نگهدارنده بر اساس قوانین موجود در آب‌میوه ممنوع است ولی چون پس از باز کردن درب قوطی آب‌میوه امکان نفوذ قارچ‌ها، ایجاد فساد و کاهش زمان استفاده از محصول وجود دارد. تولیدکنندگان اقدام به استفاده از نگهدارنده‌هایی مثل سوربات برای جلب مشتری بدون قید بر روی برچسب آن می‌نمایند. نتایج این مطالعه هم وجود سوربات پتاسیم را در تمام نمونه‌ها تأیید نمود که این اطلاعات لزوم نظارت بیشتر و یا تعیین حد مجاز و تدوین استاندارد در این ارتباط را مشخص می‌نماید. البته نوع آب‌میوه در مقدار استفاده از نگهدارنده از نظر آماری تأثیری نداشت.

در ایران سوربات پتاسیم معمولاً در دوغ و در مقادیر بیشتر از آب میوه اندازه‌گیری شده است که این تفاوت به روش تولید و نگهداری این دو محصول مربوط می‌باشد. پرستان و همکاران نیز میزان سوربات را در مواد غذایی مختلف از جمله دوغ، نوشابه، سس، کیک و

امروزه همراه با کیفیت و سلامت مواد غذایی، افزایش مدت زمان ماندگاری یا استفاده از محصول نیز برای مصرف‌کنندگان بسیار اهمیت دارد. بنابراین تولیدکنندگان مواد غذایی نیز به دنبال اعمال انواع روش‌های نگهداری برای جلب رضایت مصرف‌کنندگان می‌باشد. براین اساس در تهیه برخی مواد غذایی از مواد افزودنی تحت عنوان نگهدارنده استفاده می‌شود. از سوی دیگر طبق قوانین غذا و دارو افزودنی‌های غذایی فقط در صورتی که به عنوان بی‌ضرر و بر روی برچسب ماده غذایی ذکر شده باشند، مجاز به استفاده هستند (BergerBlair, Esfandiarie *et al.*, 2013; Terry and 2013).

در تولید آب‌میوه‌های صنعتی به‌وسیله دمای بالا محصول استریل شده و با استفاده از بسته‌بندی تتراپک شرایط آلودگی ثانویه از بین می‌رود. بنابراین استفاده از

2008). در این مطالعه روش اسپکتروفتومتری با حجم حلال بسیار کمتر از روش پیشنهاد شده در استاندارد ایران انجام گردید که علاوه بر اقتصادی شدن روش، با توجه به سمی بودن اتر، گام مهمی در جهت سلامت محیط زیست برداشته شد. درصدهای بازیابی نشان داد که علی‌رغم استفاده از حجم کمتر حلال آلی نتایج به دست آمده در این روش صحیح است.

در تحقیق حاضر در روش HPLC زمان بازداری حدود ۳/۷ دقیقه به دست آمد که در مقایسه با تحقیقات مشابه کمتر بود که با توجه به اثر کاهش زمان در مقدار استفاده از حلال و سرعت کار این تغییر روش، بسیار مهم می‌باشد. در مطالعاتی این زمان را حدود ۲۶ دقیقه و ۱۶ دقیقه در محصولات لبنی گزارش کردند (Akbari-adergani *et al.*, 2013; Bahremand and Eskandari, 2013; Kucukcetin *et al.*, 2008). تفاوت زمان بازداری در این مطالعات نسبت به تحقیق اخیر احتمالاً به علت استفاده از فاز متحرک متفاوت، نوع محصول و پاکسازی نمونه با استفاده از استخراج قبل از تزیق نمونه به دستگاه می‌باشد و در نهایت به دست آمدن پیک‌ها در زمان کمتر بیانگر قدرتمندی روش HPLC استفاده شده می‌باشد.

یکی دیگر از اهداف این مطالعه تأیید صحت نتایج روش اسپکتروفتومتری در آب‌میوه بود که مشخص گردید که روش اسپکتروفتومتری نتایج را بیشتر از حد واقعی آن نشان می‌دهد و روش مناسبی برای ارزیابی میزان سوربات در آب‌میوه نمی‌باشد که این نتیجه در مطالعه بهره مند و همکاران نیز در دوغ به دست آمد. در این مطالعه بین نتایج اسپکتروفتومتری و HPLC از نظر

آب‌میوه اندازه‌گیری کردند که حداکثر مقدار سوربات در آب‌میوه ۱۳/۱ میلی‌گرم در لیتر بود که نسبت به حداکثر این مطالعه بیشتر است. این تفاوت می‌تواند مربوط به شرکت تولیدکننده یا جزئیات روش کار باشد (Akbari-adergani *et al.*, 2013; Porstan *et al.*, 2013). خارج از کشور نیز میزان سوربات در مواد غذایی به منظور مقایسه با استاندارد و کشف تقلب تعیین شده است. در مالزی و برزیل حداکثر سوربات در بین برخی از انواع مواد غذایی به ترتیب ۱۳۹۰ و ۱۳۷۱ ppm بود که این مقادیر بر طبق مقررات آن کشورها غیر مجاز قلمداد می‌شد. در برزیل و آمریکا حداکثر ۴۵۰ ppm و ۰/۰۴ ppm سوربات در آب‌میوه با روش HPLC ردیابی شد که تفاوت در مقدار سوربات در آب‌میوه در کشورهای مختلف می‌تواند به میزان کنترل و نظارت سازمان‌های مسئول، سطح آگاهی تولیدکننده و شرایط بهداشتی ارتباط داشته باشد (Saada *et al.*, 2005; Pylypiw and Grether, 2000; Tfouni and Toledo, 2002). بر این اساس در ترکیه بعد از اندازه‌گیری سوربات در برخی محصولات غذایی به بررسی میزان سوربات در سس کچاب بین سال‌های ۲۰۰۵ تا ۲۰۱۳ پرداختند تا بدین وسیله بتوانند میزان تأثیر سیستم‌های مدیریتی و اجرایی را نیز در این استفاده غیرمجاز تعیین نمایند. نتایج نشان داد میزان استفاده از سوربات پتاسیم روند کاهشی داشته و برنامه‌های استفاده شده برای کنترل استفاده از سوربات موثر واقع شده است (Goren *et al.*, 2015).

از آنجایی که نوع روش آزمون اندازه‌گیری سوربات نیز اهمیت دارد و روش انتخاب شده باید اقتصادی، سریع و در عین حال دارای حساسیت و تکرارپذیری بالا باشد (Ruiz-Capillas and Jimenez-Colmenero,

کنترل قرار گیرد. همچنین لازم است آموزش‌هایی به تولیدکنندگان در ارتباط با افزایش ماندگاری مواد غذایی از طریق رعایت اصول بهداشتی و مدیریتی داده شود. همچنین پیشنهاد می‌شود روش HPLC به موازات روش اسپکتروفتومتری برای اندازه‌گیری سوربات پتاسیم در آب‌میوه استفاده گردد.

آماري ارتباط مثبت وجود داشت (Bahremand and Eskandari, 2013).

در پایان با توجه به نتایج این تحقیق و خطرات دراز مدت این نگهدارنده روی سلامتی افراد به ویژه کودکان، بایستی مواد غذایی به ویژه محصولاتی با ارزش تغذیه‌ای بالا توسط مسئولین مورد نظارت و توجه بیشتری قرار گیرد. تولیدات کارخانه‌ها به دقت مورد

منابع

- Ajnavardy, S., Javanmard, M. and Asadolahy, S. (2013). Survey on effects of edible coating based on whey protein and thyme extract. *Journal of Iranian Food Science and Technology Research*, 8(3): 337–348 [In Persian].
- Akbari-adergani, B., Eskandari, S. and Bahremand, N. (2013). Determination of Sodium Benzoate and Potassium Sorbet in "Doogh" Samples in Post Market Surveillance in Iran.. *Journal of Chemistry Health Risks*, 3(1): 65–71.
- Aquino, S., Fadda, A., Barberis, A., Palma, A., Angioni, A., *et al.* (2013). Combined effects of potassium sorbet, hot water and thiabendazole against green mould of citrus fruit and residue levels. *Food Chemistry*, 141: 858–864.
- Bahremand, N. and Eskandari, S. (2013). Determination of potassium sorbate and sodium benzoate in "Doogh" by HPLC and comparison with spectrophotometry. *International Journal of Bio-Inorganic Hybrid Nanomaterials*, 2: 429–435.
- Esfandiari, Z., Badiy, M., Mahmoodian, P., Sarhangpour, R., Yazdani, E., *et al.* (2013). Determination of sodium benzoate, potassium sorbet and natamycin content in Iranian yoghurt drink (doogh) and the associated risk of their intake though doogh consumption. *Iranian Journal of Public Health*, 42: 915–920.
- Ferreira, F., Kimmelmeier, C., Arrotéia C.C. and Costa, C.L. (2013). Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 136: 789–793.
- Gholipour, M., Babai, Z., Mohammadi, Z., Karimzadeh, L., Esfahani Zadeh, M.H. and Abedi, S. (2014). Validation method and determination of potassium sorbate in dough with HPLC. *Journal of Medicine Science Mazandaran University*, 24(109): 37–44 [In Persian].
- Goren, A.C., Bilsel, G., Simsek, A., Bilsel, M., Akcadag, F., *et al.* (2015). HPLC and LC-MS/MS methods for determination of sodium benzoate and potassium sorbet in food and beverages: Performances of local accredited laboratories via proficiency tests in Turkey. *Food Chemistry*, 175: 273–279.
- Gorran, A., Farzaneh, M., Shivazad, M., Rezaeian, M. and Ghassempour, A. (2013). Aflatoxin B1-reduction of *Aspergillus flavus* by three medicinal plants (Lamiaceae). *Food Control*, 23: 218–223.
- Heidary, Z. and Sariry, R. (2011). Survey of some food additives on salivary peroxidase and tyrosinase enzyme. *Journal of Biology of Zanzan University*, 4(4): 41–50 [In Persian].
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Method of Potassium Sorbate and Sodium Benzoate Measurement in Food. ISIRI No. 4825 [In Persian].
- Kucukcetin, A., Sik, B. and Demer, M. (2008). Determination of sodium benzoate, potassium sorbet, nitrate and nitrite in some commercial dairy products. *GIDA*, 3: 159–164.

- Porsan, R., Mojahedy, S., Daroghe, F. and Ranjbar, M. (2014). Determination of potassium sorbate and sodium benzoate in some food samples by HPLC. 21 National Congress of Food Science and Technology, Shiraz [In Persian].
- Prakash, B., Kedia, A., Kumar Mishra, P. and Dubey N.K. (2015). Plant essential oils as food preservatives to control moulds, mycotoxin contamination and oxidative deterioration of agri-food commodities e Potentials and challenges. *Food Control*, 47: 381–391.
- Pylypiw, H.M. and Grether, M.T. (2000). Rapid high-performance liquid chromatography method for the analysis of sodium benzoate and potassium sorbet in food. *Journal of Chromatography A*, 883: 299–304.
- Ruiz-Capillas, C. and Jimenez-Colmenero, F. (2008). Determining preservatives in meat products by flow injection analysis (FIA): A review. *Food Addition and Contamination*, 25: 1167–1178.
- Saada, B., Baria, M.F., Saleha, M.I., Ahmadb, K. and Talibb, M.K. (2005). Simultaneous determination of preservatives (benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in foodstuffs using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, 1073: 393–397.
- Sariry, R. and Ghafory, H. (2011). Investigation sodium benzoate as additive in food by HPLC. *Journal of Biology of Lahyjan*, 4(4): 37–45 [In Persian].
- Terry, A. and Berger Blair, K. (2013). Rapid, Direct quantitation of the preservatives benzoic and sorbic acid (and salts) plus caffeine in foods and aqueous beverages using supercritical fluid chromatography. *Chromatography*, 76: 393–399.
- Tfouni, S.A.V. and Toledo, M.C.F. (2002). Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian Food. *Food Control*, 13: 117–123.
- Uarino, C., Fuselli, F., Mantia, A.L. and Longo, L. (2011). Development of an RP-HPLC method for the simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, natamycin and lysozyme in hard and pasta filata cheeses. *Food Chemistry*, 127: 1294–1299.
- Vesal, H., Mortazavian S.A.H., Mohamady, A., Esmaily, S. (2014). Measurement of potassium sorbate and sodium benzoate in dough sample in released in Tehran by HPLC. *Journal of Nutrition and Food Technology*, 8(2): 181–190 [In Persian].

Comparison of Spectrophotometry and HPLC methods in measurement of potassium sorbate in industrial fruit juices

Shariat, M.¹, Lakzadeh, L.,^{2*}, Mirmohammady, M.³

1. MSc student in Food Technology, Islamic Azad University, Shahreza branch, Shahreza, Iran

2. Associate Professor in Food Technology, Islamic Azad University, Shahreza branch, Shahreza, Iran

3. Associate Professor in Chemistry, Islamic Azad University, Shahreza branch, Shahreza, Iran

*Corresponding author email: Lakzadeh@iaush.ac.ir

(Received: 2015/10/18 Accepted: 2017/1/4)

Abstract

Today, assessing the presence of preservatives in food are important measures to ensure food safety. Potassium sorbate is one of the most usual preservatives that acceptable in some of food for suppressing mold spoilage. In this research sorbate was measured in several industrial fruit juices to make a comparison between spectrophotometry and HPLC assays and consequently to examine the reliability of spectrophotometry data. Although the methods were optimized by maximum speed, attention, reduction of solvent consumption. A total of 28 samples of industrial fruit juices was collected and analyzed. The results showed that all of the fruit juices contained potassium sorbate. Highest level of sorbate was determined in pomegranate juice which was estimated at 7.22, 1.23 ppm by spectrophotometer and HPLC, respectively. The high level of sorbate in spectrophotometry method is related to interference of some material due to their absorbance ability of UV-visible ray. The comparison of spectrophotometry and HPLC data showed that in spite of simplicity and low cost of spectrophotometry, it did not have efficiency to determine the exact amount of sorbate. Moreover, due to the presence of sorbate in industrial fruit juices, it is necessary to strictly monitor sorbate concentration in foods.

Keywords: Potassium sorbet, Fruit juice, Spectrophotometry, HPLC