

کاربرد ایزوتوپ های پایدار در ردیابی و کنترل اصالت مواد غذایی

چکیده

از آنجایی که مساله ایمنی و سلامت مواد غذایی یک نگرانی رو به رشد است، اخیرا برای بررسی اصالت و منشا مواد غذایی شامل فراورده های لبنی مانند شیر و پنیر، محصولات آبی مانند ماهی، غلات مختلف مانند گندم و برنج، عسل، انواع آبمیوه ها، فراورده های گوشتی مانند گوشت گاو و گوسفند، روغن زیتون، زعفران و عصاره های وانیلی از آنالیز نسبت ایزوتوپی استفاده می شود. با استفاده از طیف سنج جرمی نسبت ایزوتوپی¹ (IRMS) و با بررسی نسبت ایزوتوپی مربوط به عناصر کربن، هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن و گوگرد، امکان انگشت نگاری مواد غذایی ساخت تولید کنندگان مختلف، ردیابی و کنترل اصالت مواد غذایی و تشخیص تقلب در فراورده های غذایی وجود دارد.

واژگان کلیدی: ایزوتوپ های پایدار، انگشت نگاری ایزوتوپی، اصالت سنجی مواد غذایی

مقدمه

برای عموم مردم، توجه و نگرانی در باره سلامت مواد غذایی از دیر باز وجود دارد. با توجه به افزایش جمعیت جهان، تهیه مواد غذایی سالم و استاندارد، موضوعی مهم و اساسی در دنیای امروز می باشد. از آنجایی که مواد غذایی همواره مورد نیاز بشر و سایر جانداران بوده و تهیه آن نیز از نیازهای اصلی بازار است، افراد سودجو و متقلب به استفاده از این بازار همیشگی و پر رونق تمایل بسیاری دارند. در سالهای اخیر، تقلب و برچسب های غیر واقعی بر روی کالاها، معضلات جدی در زمینه عرضه مواد غذایی هستند که نه تنها موجب تضییع حق مصرف کنندگان و کاهش اعتبار تولید کنندگان متعهد می شود، بلکه سلامت جامعه را نیز تهدید می کند [1]. امروزه با بهبود استانداردهای زندگی، ایمنی و اصالت مواد غذایی روز به روز مهم تر می شود، به طوری که مصرف کنندگان بطور فزاینده ای به سمت آن دسته از فراورده های غذایی جذب می شوند که نه تنها ترکیب مواد تشکیل دهنده آن ها مشخص است، بلکه منشا جغرافیایی این محصولات و

¹ Isotope ratio mass spectrometry

شرایط تهیه آنها نیز ذکر شده باشد. لازم به ذکر است که تشخیص برخی تقلب ها و تعیین اصالت^۱ مواد غذایی نیاز به روش های آنالیز پیشرفته دارد. تا کنون به منظور تشخیص تقلب در مواد غذایی از فن آوری هایی مانند طیفی سنجی مادون قرمز با تبدیل فوریه (FTIR)، رزونانس مغناطیس هسته (NMR)، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) استفاده شده است. متاسفانه کلاهبرداران خبره و ماهر اغلب می توانند بتقلید از ترکیب فیزیکی و شیمیایی مواد غذایی، محصول مورد نظر را بصورت مصنوعی به گونه ای تولید کنند که قابل تشخیص از محصول طبیعی اصلی نباشد. . یک فناوری جدید و موثر در تشخیص تقلبات مواد غذایی، آنالیز ایزوتوپ پایدار است. در واقع از داده های حاصل از آنالیز ایزوتوپ های پایدار (نسبت های ایزوتوپی) می توان به عنوان یک "امضا"^۲ یا "اثر انگشت"^۳ نامرئی در اصالت سنجی انواع مواد غذایی بهره گرفت. دستیابی به این امضای ایزوتوپی به دلیل پیچیدگی آن بدون استفاده از دستگاه های تجزیه ای بسیار پیشرفته غیرممکن است، بطوری که کپی برداری و جعل این امضا بدون داشتن دانش کافی درباره فرایندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی متعددی که می توانند فراوانی ایزوتوپ ها را در مواد غذایی تحت تأثیر قرار دهند، بسیار مشکل می باشد [2]. در این مطالعه، توانایی طیف سنجی جرمی نسبت ایزوتوپ های پایدار (IRMS)، به عنوان روشی موثر در تعیین اصالت و منشا مواد غذایی مورد بررسی قرار می گیرد.

- ایزوتوپ های پایدار

اکثر عناصر دارای حداقل دو ایزوتوپ پایدار با فراوانی های متفاوت هستند که معمولا یک ایزوتوپ از نظر فراوانی غالب است. به عنوان مثال، میانگین فراوانی ^{۱۲}C 98.89٪ است، در حالیکه میانگین فراوانی ^{۱۳}C 1.11٪ می باشد. جدول ۱ میانگین فراوانی برخی از ایزوتوپ های پایدار را نشان می دهد.

جدول ۱: فراوانی طبیعی متداول ترین ایزوتوپهای پایدار

هیدروژن	کربن	نیتروژن	اکسیژن	سولفور
¹ H : ۹۹.984%	¹² C : 98.89%	¹⁴ N : 99.64%	¹⁶ O : 99.763%	³² S : 95.02%
² H : 0.0156%	¹³ C : 1.11%	¹⁵ N : 0.36%	¹⁸ O : 0.1995%	³⁴ S : 4.21%

¹ Authenticity

² Signature

³ Fingerprint

متداول ترین ایزوتوپ های پایدار مربوط به عناصر هیدروژن (H)، کربن (C)، نیتروژن (N)، اکسیژن (O) و سولفور (S) می باشد. نسبت ایزوتوپی یک نمونه (R) بصورت نسبت تعداد اتم های یک ایزوتوپ (سنگین تر) به تعداد اتم های ایزوتوپ دیگر (سبکتر) همان عنصر شیمیایی (مانند $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) تعریف می شود. نسبت این ایزوتوپ ها از زمان پیدایش زمین تاکنون تغییر نکرده است ولی تغییرات محلی به دلیل بسیاری از فرآیندهای فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی ایجاد می شود. شکل های ایزوتوپی مختلف کربن (^{12}C و ^{13}C) توسط گیاهان، حیوانات و مواد معدنی جذب شده و به بخشی از امضای ایزوتوپی کربن تبدیل می شوند. این نسبت ایزوتوپی پایدار (مانند $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) به طور عمده تحت کنترل متابولیسم گیاه و یا رژیم غذایی حیوان بوده و اغلب برای تفسیر این موارد استفاده می شود [3].

برای ثبت یک اثر انگشت ایزوتوپی نیاز به اندازه گیری بسیار دقیق نسبت ایزوتوپی در نمونه مورد نظر می باشد. نسبت های ایزوتوپ های پایدار (R) ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) بطور دقیق و صحیحی توسط تکنیک های اختصاصی مانند IRMS قابل اندازه گیری هستند. شکل پذیرفته شده برای گزارش ترکیب ایزوتوپی یک نمونه، نماد دلتا (δ) می باشد. در واقع تفاوت در نسبت های ایزوتوپی اغلب با نماد دلتا نشان داده شده و نسبت به یک استاندارد بین المللی محاسبه می شود. برای مثال، مقدار دلتا (δ) برای ترکیب ایزوتوپی کربن در یک نمونه به صورت زیر نشان داده می شود [2, 3]:

$$\delta^{13}\text{C} (\%) = \left(\frac{R_{\text{نمونه}} - R_{\text{استاندارد}}}{R_{\text{استاندارد}}} \right) \times 1000$$

تغییرات فراوانی ایزوتوپها یا به عبارتی تغییرات نسبت های ایزوتوپی، برای اغلب عناصر مورد مطالعه معمولاً کوچک هستند و مقادیر به صورت قسمت درصد (%)، قسمت در هزار (‰) یا قسمت در میلیون (ppm) گزارش می شوند.

- کاربرد ایزوتوپ های پایدار در اصالت سنجی مواد غذایی

بطور کلی ترکیب ایزوتوپی مواد گیاهی، اثر عوامل مختلفی شامل ترکیب ایزوتوپی مواد استفاده شده توسط گیاه، فرایند جذب مواد بوسیله گیاه، تبدیل مواد محیط کشت و آب و هوای محیط رشد و نمو گیاه را منعکس می کند. همچنین، روش زراعت و کود دهی ممکن است بر ترکیب ایزوتوپی مواد گیاهی تاثیر بگذارد. علاوه بر این، مسیرهای فتوسنتز مختلف گیاهان باعث تفاوت در فرایند تثبیت کربن شده که نهایتاً بر نسبت ایزوتوپی $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ اثر می گذارد. ترکیب ایزوتوپی نیتروژن ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) نیز به تغذیه خاک وابسته است. بنابراین بررسی ترکیب ایزوتوپی فرآورده های گیاهی با

استفاده از IRMS به عنوان روشی مفید برای تعیین اصالت مواد غذایی و تشخیص مواد غذایی اصل از تقلبی قابل استفاده است.

به عنوان مثال، آنالیز ۳۵ نمونه گندم کاشته شده در مناطق مختلف استرالیا، USA، کانادا و چین با استفاده از طیف سنجی نسبت ایزوتوپی - آنالیز عنصری^۱ EA-IRMS نشان داد که با تعیین مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ و $\delta^{15}\text{N}$ در نمونه، می توان خاستگاه جغرافیایی نمونه های گندم کشت شده در مناطق مختلف را تشخیص داد. بنابراین اندازه گیری مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ و $\delta^{15}\text{N}$ بطور بالقوه به عنوان روشی مفید برای تعیین منشا جغرافیایی گندم و حتی غلات دیگر مانند جو و برنج پیشنهاد می شود [1]. نتایج گزارش ها نشان می دهد که از روشهای نسبت ایزوتوپی نه تنها می توان برای بررسی منشا جغرافیایی برنج استفاده کرد [4]، بلکه تقلب ناشی اضافه کردن برنج نامرغوب به برنج مرغوب را نیز می توان تشخیص داد. بطوری که در ژاپن، طبق قانون استانداردهای کشاورزی، هنگام بسته بندی برنج، برچسب هایی برای مشخص کردن گونه گیاهی، منطقه زراعی و سال کشت محصول نیاز است [1].

مطالعات مشابهی با استفاده از روشهای ایزوتوپی برای تعیین خاستگاه جغرافیایی و بررسی شرایط کشت سایر محصولات کشاورزی انجام شده است. آنالیز ایزوتوپی (H، O، N و C) انواع توت فرنگی و کشمش در ۱۹۰ نمونه از میوه های تولید شده در مناطق ایتالیا، رومانی و لهستان انجام شد، نتایج حاصل تمایز بین محصولات کاشته شده در مناطق مختلف را نشان داد [5].

از داده های ایزوتوپ کربن و اکسیژن برای تمایز منابع روغن زیتون تولید شده در مکان های مختلف منطقه مدیترانه استفاده شده است [6]. به طور مشابه، به کمک اندازه گیری ^{13}C مربوط به اسیدهای چرب به ویژه پالمیتیک اسید و اولئیک اسید می توان درجه کیفیت و منشا جغرافیایی روغن پالم را تشخیص داد [7].

علاوه بر این، آنالیز ایزوتوپی کربن و هیدروژن ($\delta^{13}\text{C}$ و $\delta^2\text{H}$) باعث شده است که بتوان منابع مختلف اسید سیتریک طبیعی حاصل از آب میوه (در مقایسه با منابع تجاری استخراج شده از نیشکر یا شربت ذرت) را به منظور ردیابی تقلب در آبمیوه های مختلف، مشخص کرد [8].

¹ Elemental analysis- Isotope ratio mass spectrometry

همچنین مطالعات ارزشمندی به منظور تشخیص عسل اصل از عسل تقلبی با استفاده از طیف سنجی نسبت ایزوتوپی - کروماتوگرافی مایع¹ LC-IRMS انجام شده است [9].

بررسی ترکیب ایزوتوپی ^{13}C در زعفران روش مناسبی برای تشخیص اصالت و منشا جغرافیایی این محصول ارزشمند می باشد [10].

لازم به ذکر است که آنالیز ایزوتوپی به منظور تشخیص تقلب در فراورده های دامی و محصولات جانبی آن ها نیز مورد استفاده قرار گرفته است. به عنوان مثال، با استفاده از نسبت ایزوتوپی کربن و نیتروژن می توان تمایز گوشت گاو تولید شده در کشورهای مختلف را تشخیص داد. علاوه بر این، روش تغذیه (رایج در مقابل ارگانیک) دام نیز گاهی می تواند توسط آنالیز ایزوتوپ های کربن، نیتروژن و گوگرد شناسایی شود. بدین منظور، نسبت های ایزوتوپی $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ و $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ، در گوشت گوسفند آفریقایی که در مزارع مختلف (۷ مزرعه) با گیاهان مختلف تغذیه شده بودند، برای ارزیابی منشا و رژیم غذایی گوسفند، با استفاده از IRMS اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ تحت تاثیر محل پرورش و در واقع رژیم غذایی مصرفی قرار گرفته است [11].

با توجه به اینکه ردیابی اصالت فراورده های لبنی از اهمیت بسیاری برخوردار است، آنالیز ایزوتوپی بسیار کمک کننده می باشد. بدین منظور، مطالعات ایزوتوپی پنیر های ایتالیا، اسپانیا و فرانسه با اندازه گیری مقادیر $\delta^{13}\text{C}$ ، $\delta^{15}\text{N}$ و $\delta^{34}\text{S}$ در کازیین و $\delta^{18}\text{O}$ در گلیسرول توسط IRMS انجام شد و اثر عوامل موثر مانند رژیم غذایی حیوان، منشا جغرافیایی، شرایط اقلیمی و فصلی بر ترکیب ایزوتوپی پنیر های مورد مطالعه، بررسی شدند. نتایج نشان داد که مقدار $\delta^{13}\text{C}$ کازیین و گلیسرول تحت تاثیر مقدار ذرت در رژیم غذایی حیوان است و مقادیر $\delta^{15}\text{N}$ و $\delta^{34}\text{S}$ کازیین تاثیر پذیر از شرایط آب و هوایی خاستگاه مانند خشکی، فاصله و ارتفاع از سطح دریا می باشد [12]. مطالعات مشابهی نشان داد که ترکیب ایزوتوپی پنیر ($\delta^{13}\text{C}$ ، $\delta^{15}\text{N}$ ، $\delta^{34}\text{S}$ و $\delta^{18}\text{O}$) می تواند ارتباطی قوی با مقدار ذرت مصرفی در رژیم غذایی حیوان داشته باشند [13]. بنابراین آنالیز ترکیب ایزوتوپی مواد غذایی از قبیل فراورده های کشاورزی و دامی بطور وسیعی به منظور بررسی اصالت مواد غذایی استفاده می شود.

¹ Liquid chromatography- Isotope ratio mass spectrometry

نتیجه گیری

بکارگیری روش های آنالیز نسبت های ایزوتوپی و بررسی امضاهای ایزوتوپی طبیعی، راه حل بسیاری از مسایل در زمینه جرم شناسی غذا¹ می باشد. جرم شناسی غذا، به منظور ردیابی و کنترل اصالت مواد غذایی، علوم مختلف، شامل زیست شناسی، هیدرولوژی، شیمی تجزیه و آمار را به خدمت می گیرد. در واقع، آگاهی از نوع تغذیه گیاهان و حیوانات و فرایندهای متابولیسمی آن ها، به درک و تفسیر بهتر مسیرهای جذب ایزوتوپهای پایدار توسط گیاهان و حیواناتی که از این گیاهان تغذیه می کنند، کمک می کند. آگاهی از این مبانی، تفسیر امضاهای ایزوتوپی را به منظور تشخیص شیوه های کشت گیاهان و منشا آنها و نیز خاستگاه و نوع رژیم غذایی حیوانات را ممکن می سازد.

منابع

- [1] D Luo, H Dong, H Luo, Y Xian, J Wan, X Guo, Y Wu, The application of stable isotope ratio analysis to determine the geographical origin of wheat, Food Chemistry, 174 (2015) 197–201.
- [2] LA Chesson, BJ Tipple, and JD Howa, GJ Bowen, JE Barnette, TE Cerling, JR Ehleringer, Stable Isotopes in Forensics Applications, Elsevier, 2014.
- [3] J Francis Carter, L Ann Chesson, Food forensics: stable isotopes as a guide to authenticity and origin, 2017.
- [4] IM Chung, SK Park, KJ Lee, MJ An, JH Lee, YT Oh, SH Kim, Authenticity testing of environment-friendly Korean rice (*Oryza sativa* L.) using carbon and nitrogen stable isotope ratio analysis, Food Chemistry, 234 (2017) 425-430.
- [5] M. Perini, L. Giongo, M. Grisenti, L. Bontempo, F. Camin, Stable isotope ratio analysis of different European raspberries, blackberries, blueberries, currants and strawberries, Food Chemistry, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.023>.
- [6] F. Angerosa, O. Breas, S. Contento, C. Guillou, F. Reniero, and E. Sada, Application of Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of the Geographical Origin of Olive Oils, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (1999) 1013-1017.

¹ Food forensic

- [7] Spangenberg, J. E., Macko, S. A., & Hunziker, J. Characterization of olive oil by carbon isotope analysis of individual fatty acids: implications for authentication. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (1998) 4179–4184.
- [8] E. Jamin, F. Martin, R. Santamaria-Fernandez, and M. Lees, Detection of Exogenous Citric Acid in Fruit Juices by Stable Isotope Ratio Analysis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (2005) 5130-5133.
- [9] A.I. Cabañero, J.L. Recio, M. Ruperez, Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry: a new perspective on honey adulteration detection, *J. Agric. Food Chem.* 54 (2006) 9719–9727.
- [10] D. Semiond, S. Dautraix, M. Desage, R. Majdalani, H. Casabianca, J. L. Brazier, Identification and Isotopic Analysis of Safranal from Supercritical Fluid Extraction and Alcoholic Extracts of Saffron, *Analytical Letters*, 29 (1996) (6) 1027-1039.
- [11] S Wilhelmina Erasmus, M Muller, M Rijst, Stable isotope ratio analysis: A potential analytical tool for the authentication of South African lamb meat, *Food Chemistry*, 192 (2016) 997-1005.
- [12] F Camin, K Wietzerbin, A B Cortes, G Haberhauer, M Lees, G Versini, Application of Multielement Stable Isotope Ratio Analysis to the Characterization of French, Italian, and Spanish Cheeses, *J. Agric. Food Chem.* 52 (2004) (21) 6592–6601.
- [13] F Camin, L Bontempo, M Perini, E Piasentier, Stable Isotope Ratio Analysis for Assessing the Authenticity of Food of Animal Origin, *Comprehensive Reviews, Food Science and Food Safety*, 15 (2016).