دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی و درمانی بوشهر

CrossMarck

10.61882/ismj.28.1.491

مقاله پژوهشی

محتوای آهن و اسیدفولیک در آرد گندم: بررسی میزان قبل و بعد از غنی‌سازی در استان بوشهر، ایران

طاهره خلیفه[1]، ناصر محبی[1]، غلامحسین محبی[1*]، امیرحسین دارابی[2]، محمد امامی[1]، الناز امیرعضدی[1]

[1]مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[2]مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج‌فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

چکیده

زمینه: آرد گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای رژیم غذایی در ایران، بستری مناسب برای غنی‌سازی با ریزمغذی‌هایی مانند آهن و اسیدفولیک است. این مطالعه توصیفی- تحلیلی با رویکرد مقایسه‌ای، با هدف بررسی میزان آهن و اسید فولیک در آرد گندم قبل و بعد از غنی‌سازی در استان بوشهر انجام شد تا اثربخشی برنامه ملی غنی‌سازی را ارزیابی کند.

مواد و روش‌ها: نمونه‌برداری از ۱۵ فروردین تا ۱۵ تیر ۱۴۰۲ از خط تولید یک کارخانه آرد در بوشهر انجام شد. ۱۴ نمونه آرد غنی‌نشده و ۱۴ نمونه غنی‌شده جمع‌آوری گردید. میزان آهن با روش‌های آزمون نقطه‌ای (AACC،۱۹۹۹)، اسپکتروفتومتری (ISIRI ۵۶۸۸، ۲۰۰۱) و طیف‌سنجی جذب اتمی (AACC ۴۰-۷۰، ۲۰۰۲) و میزان اسیدفولیک با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، (ISIRI ۵۳۳۳، ۱۹۹۹) اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: آزمون نقطه‌ای نشان داد که آهن در نمونه‌های غنی‌نشده غیرقابل تشخیص و در نمونه‌های غنی‌شده در محدوده ۶۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. در روش اسپکتروفتومتری، میانگین آهن قبل و بعد از غنی‌سازی به‌ترتیب ۲۶/۱۳۵±۲/۳۷ و ۶۲/۳۲۴±۲/۸۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم (p<۰/۰۰۰۱) و در روش جذب اتمی ۷/۳۰۹±۸/۴۳ و ۴۰/۴۸۹±۱۱/۷۶ میکروگرم بر گرم بود (p<۰/۰۰۰۱). کروماتوگرام‌های HPLC هیچ پیک قابل تشخیصی برای اسید فولیک نشان ندادند.

نتیجه‌گیری: غنی‌سازی آرد با آهن در بوشهر موفقیت‌آمیز بود و با استانداردهای ملی (۸۵-۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مطابقت داشت، اما عدم تشخیص اسید فولیک نشان‌دهنده مشکلات احتمالی در پایداری یا افزودن پرمیکس است. بهبود فرآیند غنی‌سازی و کنترل کیفیت توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی
غنی‌سازی آرد
آهن
اسیدفولیک
اسپکتروسکوپی
کروماتوگرافی
بوشهر

***نویسنده مسئول**
غلامحسین محبی
Mohebbihsn@yahoo.com

دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸
پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۱۸

پیام کلیدی: غنی‌سازی آرد با آهن در بوشهر با موفقیت انجام شد، اما اسیدفولیک شناسایی نشد. توصیه می‌شود پایداری پرمیکس بهبود یافته و کنترل کیفیت تقویت گردد.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

Original Article

Iron and Folic Acid Content in Wheat Flour: Analysis of Pre- and Post-Enrichment Levels in Bushehr Province, Iran

10.61882/ismj.28.1.491

Tahereh Khalifeh[1], Naser Mohebbi[1], Gholamhossein Mohebbi[1*], Amirhossein Darabi[2], Mohammad Emami[1], Elnaz Amirazodi[1]

[1] The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

[2] The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

Abstract

Background: Wheat flour, a staple in the Iranian diet, serves as an ideal medium for fortification with micronutrients such as iron and folic acid. This study aimed to evaluate the effectiveness of the national fortification program by assessing iron and folic acid levels in wheat flour before and after fortification in Bushehr province.

Materials and Methods: Sampling was conducted from April 5 to July 6, 2023, at a flour factory in Bushehr. Fourteen unfortified and fourteen fortified flour samples were collected. Iron levels were measured using the spot test (AACC, 1999), spectrophotometry (ISIRI 5688, 2001), and atomic absorption spectroscopy (AACC 40-70, 2002). Folic acid levels were determined using high-performance liquid chromatography (HPLC) (ISIRI 5333, 1999).

Results: The spot test indicated undetectable iron in unfortified samples and 30-60 mg/kg in fortified samples. Spectrophotometry showed mean iron levels of 26.135 ± 2.37 mg/kg and 62.324 ± 2.81 mg/kg before and after fortification, respectively ($p<0.0001$). Atomic absorption spectroscopy revealed mean iron levels of 7.309 ± 8.43 µg/g and 40.489 ± 11.76 µg/g before and after fortification, respectively ($p<0.0001$). HPLC chromatograms showed no detectable peaks for folic acid.

Conclusion: Iron fortification of flour in Bushehr was successful and complied with national standards (40-85 mg/kg). However, the absence of detectable folic acid suggests potential issues with premix stability or addition. Improvements in the fortification process and quality control are recommended.

Keywords
Flour fortification
Iron
Folic acid
Spectroscopy
Chromatography
Bushehr

***Corresponding author**
Gholamhossein Mohebbi
Mohebbihsn@yahoo.com

Received: 2025/03/18
Accepted: 2025/08/09

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

مقدمه

آرد گندم به‌عنوان یکی از مهم‌ترین اجزای رژیم غذایی در بسیاری از جوامع، نقش محوری دارد (۱). در مناطق جنوب ایران، نان و سایر محصولات تهیه‌شده از آرد گندم بخش قابل‌توجهی از کالری روزانه مردم تأمین می‌نمایند (۲). با توجه به مصرف گسترده این ماده غذایی، آرد گندم بستری ایده‌آل برای غنی‌سازی با ریزمغذی‌های ضروری مانند آهن و اسیدفولیک به شمار می‌رود (۳).

کمبود این ریزمغذی‌ها از چالش‌های عمده سلامت عمومی در جهان است (۴). بر اساس گزارش‌های اخیر، کمبود آهن، بیش از ۱/۹ میلیارد نفر را تحت تأثیر قرار داده است و یکی از علل اصلی کم‌خونی است که اثرات منفی بر رشد شناختی، بهره‌وری کاری، و سلامت مادران دارد (۵). به‌طور مشابه، کمبود اسیدفولیک با نقایص لوله عصبی در نوزادان و افزایش خطر بیماری‌های قلبی- عروقی در بزرگسالان مرتبط است (۶).

به منظور مقابله با این کمبودها، ایران از اوایل دهه ۲۰۰۰ برنامه غنی‌سازی اجباری آرد گندم با آهن و اسیدفولیک را اجرا کرده است تا وضعیت تغذیه‌ای جمعیت را بهبود بخشد و خطرات مرتبط با این کمبودها را کاهش دهد (۷).

غنی‌سازی مواد غذایی اصلی مانند آرد گندم به‌عنوان یک استراتژی مقرون‌به‌صرفه و پایدار برای رفع کمبودهای ریزمغذی شناخته شده است، به‌ویژه در کشورهای با درآمد کم و متوسط که تنوع غذایی ممکن است محدود باشد (۸).

آرد گندم به‌صورت طبیعی حاوی مقادیر محدودی آهن است، اما به‌دلیل وجود فیتات‌ها در سبوس گندم، جذب آهن کاهش می‌یابد. فیتات‌ها با تشکیل کمپلکس‌های غیرقابل جذب با آهن و سایر املاح دوظرفیتی مانند روی و کلسیم، فراهمی زیستی این عناصر را کم می‌کنند. مقدار آهن طبیعی در آرد گندم بسته به نوع گندم و فرآیند آسیاب (میزان حذف سبوس) متفاوت است، اما معمولاً کمتر از ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (۹).

آرد گندم به‌صورت طبیعی تقریباً فاقد اسید فولیک است زیرا فولات (شکل طبیعی ویتامینB9)، در فرآیند آسیاب و تصفیه آرد تا حد زیادی از بین می‌رود. مقدار فولات طبیعی در گندم کامل (با سبوس) بیشتر است، اما در آرد سفید این مقدار ناچیز است (۱۰).

در ایران، با یکی از بالاترین سطوح مصرف نان در جهان، غنی‌سازی آرد گندم با آهن و اسیدفولیک راهکاری عملی برای دسترسی به گروه‌های آسیب‌پذیر، از جمله زنان در سنین باروری و کودکان، ارائه می‌دهد (۳). با این‌حال، موفقیت این برنامه‌ها به عوامل متعددی، از جمله تأمین سطح مناسب و یکنواخت ریزمغذی‌ها، رعایت استانداردهای غنی‌سازی، و پایداری این ریزمغذی‌ها در طی فرآیندهای تولید، ذخیره‌سازی، پخت، و مصرف وابسته است (۳ و ۱۱).

در برنامه غنی‌سازی آرد گندم در ایران، مخلوط مواد مغذی آهن و اسیدفولیک تحت عنوان پودر "پرمیکس"[1] حاوی ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آهن (فروس سولفات) و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، فولیک اسید است که توسط دستگاه میکروفیدر در کارخانجات آرد به آن اضافه می‌گردد. این پودر توسط تولیدکننده‌های معتبری در داخل کشور تولید می‌شود و قبل از ارسال، توسط آزمایشگاه کنترل غذا و دارو تأیید می‌گردد (۱۲). تغییرات در روش‌های غنی‌سازی، کنترل کیفیت ناکافی، و از دست رفتن ریزمغذی‌ها به‌دلیل شرایط محیطی می‌تواند کارایی این مداخلات را کاهش دهد (۱۳ و ۱۴).

یکی از چالش‌های کلیدی در غنی‌سازی آرد گندم با اسیدفولیک، تأثیر شرایط پخت نان بر پایداری این ریزمغذی است. اسیدفولیک به گرما و اکسیژن حساس است و فرآیند پخت نان، به‌ویژه در دماهای بالا و مدت‌زمان طولانی، می‌تواند منجر به تخریب قابل‌توجه

[1] Premix

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

این ماده مغذی شود. مطالعات نشان داده‌اند که در روش‌های سنتی پخت نان، مانند استفاده از تنور یا کوره‌های با دمای بالا، تا ۵۰ درصد اسیدفولیک ممکن است از بین برود (۳ و ۱۵). این موضوع اهمیت انتخاب روش‌های پخت مناسب و استفاده از ترکیبات پایدارتر اسیدفولیک در فرآیند غنی‌سازی را برجسته می‌کند. در ایران که نان‌های سنتی مانند سنگک و بربری به‌طور گسترده مصرف می‌شوند؛ این عامل می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر میزان اسید فولیک دریافتی توسط مصرف‌کنندگان داشته باشد.

به‌طور مشابه، پایداری و زیست‌فراهمی آهن مورد استفاده در غنی‌سازی نیز تحت تأثیر عوامل متعددی قرار دارد. ترکیبات آهن مورد استفاده در غنی‌سازی آرد، مانند سولفات آهن یا فومارات آهن، ممکن است در طول فرآیندهای آسیاب، ذخیره‌سازی، و پخت تحت‌تأثیر قرار گیرند. به‌عنوان مثال، اکسیداسیون یا تعامل با سایر اجزای آرد، مانند اسیدفیتیک، می‌تواند زیست‌فراهمی آهن را کاهش دهد و کارایی غنی‌سازی را محدود کند (۱۸-۱۶). علاوه بر این، شرایط پخت نان، به‌ویژه در دماهای بالا، می‌تواند موجب تغییر در ساختار شیمیایی ترکیبات آهن شود و جذب آن را در بدن کاهش دهد. انتخاب نوع ترکیب آهن و بهینه‌سازی فرآیندهای تولید و پخت برای حفظ زیست‌فراهمی این ماده مغذی حیاتی است (۱۹ و ۲۰).

این مطالعه با هدف بررسی میزان آهن و اسیدفولیک در آرد گندم قبل و بعد از غنی‌سازی در استان بوشهر-ایران انجام شد تا اثربخشی برنامه ملی غنی‌سازی را ارزیابی کند و مشخص نماید که آیا آرد غنی‌شده با استانداردهای ملی و بین‌المللی مطابقت دارد یا خیر. استان بوشهر، به‌دلیل الگوهای غذایی خاص و وابستگی بالای مردم به نان به‌عنوان غذای اصلی، از اهمیت ویژه‌ای برای اجرای برنامه غنی‌سازی برخوردار است. شرایط محیطی منحصربه‌فرد، از جمله رطوبت بالا و نوسانات دمایی در مناطق ساحلی، می‌تواند پایداری اسیدفولیک و زیست‌فراهمی آهن را کاهش دهد (۲۱). این موضوع به‌ویژه در مناطقی مانند بوشهر، که شرایط محیطی مانند رطوبت و دما ممکن است بر پایداری ترکیبات آهن تأثیر گذارد، اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. همچنین، روش‌های سنتی پخت در این منطقه، اهمیت غنی‌سازی مؤثر را دوچندان می‌کند. مطالعات پیشین در ایران تفاوت‌های منطقه‌ای در نتایج غنی‌سازی را نشان داده و نیاز به مطالعات محلی برای اطمینان از اثربخشی برنامه را برجسته کرده است (۲۲). بر همین اساس، استان بوشهر از آغاز به‌عنوان منطقه پایلوت طرح غنی‌سازی آرد در کشور مطرح گردید (۷). برخی گزارش‌ها نشان‌دهنده غنی‌سازی بیش از حد یا کمتر از حد بوده که می‌تواند به دریافت ناکافی یا خطرات احتمالی سلامت ناشی از مصرف بیش از حد منجر شود (۲۳). این مطالعه چالش‌های احتمالی در فرآیند غنی‌سازی، را مورد بحث قرار می‌دهد. نتایج این مطالعه می‌تواند به سیاست‌گذاری‌های تغذیه‌ای و بهبود برنامه‌های غنی‌سازی در سطح منطقه‌ای و ملی کمک کند.

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این مطالعه از شرکت مرک[2] آلمان و استاندارد فولیک‌اسید از شرکت سیگما[3]، تهیه گردیدند.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی اولیه

نمونه‌برداری جهت این مطالعه توصیفی- تحلیلی، از ۱۵ فروردین تا ۱۵ تیر ۱۴۰۲، به‌مدت سه ماه، در بازه‌های زمانی مشخص و به‌صورت حضوری از خط تولید یکی از کارخانجات آرد استان بوشهر انجام شد.

[2] Merck
[3] Sigma

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

هر نمونه مجزا نیز مخلوطی از سه نمونه یک کیلویی با فاصله هر کدام سه ساعت در طی یک روز کاری در هر هفته بود. در این فرآیند، مجموعاً ۲۸ نمونه سه کیلویی، شامل ۱۴ نمونه آرد غنی‌نشده (بلانک) پیش از دستگاه میکروفیدر و قبل از افزودن پودر پرمیکس، و ۱۴ نمونه آرد غنی‌شده با آهن و اسیدفولیک از محل کیسه‌گیری جمع‌آوری گردید. از نمونه‌های آرد غنی‌شده از همان بچ‌های آرد غنی‌نشده تهیه شدند تا قابلیت مقایسه دقیق فراهم شود و فرآیند با رعایت کامل استانداردهای نمونه‌برداری انجام گرفت (۲۴ و ۲۵).

روش‌ها

تعیین میزان آهن به روش نیمه‌کمی[4]

برای تعیین میزان آهن، از روش نیمه‌کمی انجمن شیمیدانان غلات آمریکا (AACC)[5] استفاده شد. این روش بر این اصل استوار است که آهن فریک (Fe^{+3}) و آهن فروس (Fe^{+2}) افزوده شده به آرد، در حضور هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و پتاسیم تیوسیانات (KSCN)، کمپلکسی قرمز رنگ تشکیل می‌دهند. تعداد نقاط قرمز رنگ و نحوه توزیع آن‌ها در آرد غنی‌شده در مقایسه با آرد شاهد، نشان‌دهنده میزان آهن و الگوی پراکنش آن در نمونه است (۲۴). برای تهیه نمونه‌های شاهد با غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به‌ترتیب ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ گرم پودر پرمیکس با ۱۰۰ گرم آرد غنی‌نشده مخلوط شد. پیش از انجام آزمایش، محلول پتاسیم تیوسیانات ۱۰ درصد با حجم برابر از اسیدکلریدریک ۲ مولار ترکیب شد. برای این منظور، ابتدا هیدروکلریدریک‌اسید ۲ مولار در یک بشر ریخته شد و سپس پتاسیم تیوسیانات ۱۰ درصد با حجم یکسان به آن افزوده شد (واکنش‌گر ۱). همچنین، محلول هیدروژن‌پراکسید ۳ درصد (واکنش‌گر ۲) به‌صورت تازه تهیه شد. برای هر نمونه، ۵۰ گرم آرد به‌صورت یکنواخت روی سطحی صاف به ابعاد ۴×۴ سانتی‌متر پخش شد. سپس، حدود ۱۰ قطره از واکنش‌گر ۱ با استفاده از قطره‌چکان به گونه‌ای که سطح کاملاً مرطوب شود، به آرد اضافه شد. پس از ۳۰ ثانیه، چهار قطره از واکنش‌گر ۲ به سطح مرطوب افزوده شد و ۱ تا ۲ دقیقه زمان برای تکمیل واکنش در نظر گرفته شد (۲۴).

تعیین میزان آهن به روش اسپکتروفتومتری

تعیین مقدار آهن به روش کمی با استفاده از اسپکتروفتومتری، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵۶۸۸ (۱۳۸۰) انجام شد (۲۵). برای تهیه محلول‌های استاندارد ذخیره (SSS) و کاری (WSS) آهن با غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، مقدار ۳/۵۱۲ گرم سولفات آهن آمونیوم ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2{\cdot}6H_2O$) در آب مقطر حل شد. سپس، دو قطره اسید کلریدریک غلیظ به محلول اضافه و حجم آن تا ۵۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد. در ادامه، ۱۰ میلی‌لیتر از این محلول برداشته و تا حجم ۱۰۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق گردید. محلول نهایی حاوی ۱۰ میکروگرم آهن در هر میلی‌لیتر بود، به‌طوری‌که هر میلی‌لیتر از آن معادل ۰/۰۱ میلی‌گرم آهن داشت. برای رسم منحنی کالیبراسیون، محلول‌های استاندارد آهن (II) با استفاده از محلول استاندارد کاری آهن، مطابق جدول (۱)، تهیه شدند (۲۵).

[4] Semi-quantitative spot test

[5] American Association of Cereal Chemists

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

جدول ۱. آماده‌سازی محلول‌های استاندارد کاری آهن جهت تهیه منحنی کالیبراسیون

ردیف	*حجم (میلی‌لیتر)	**غلظت نهایی (۱۰۰ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم)
۱	۲	۰/۰۲
۲	۵	۰/۰۵
۳	۱۰	۰/۱
۴	۱۵	۰/۱۵
۵	۲۰	۰/۲۰
۶	۲۵	۰/۲۵
۷	۳۰	۰/۳۰
۸	۳۵	۰/۳۵
۹	۴۰	۰/۴۰
۱۰	۴۵	۰/۴۵

*حجم مورد نیاز از محلول استاندارد کاری برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول استاندارد کالیبراسیون (میلی‌لیتر)
**غلظت نهایی استاندارد کالیبراسیون (۱۰۰ میلی‌لیتر بر میلی‌گرم)

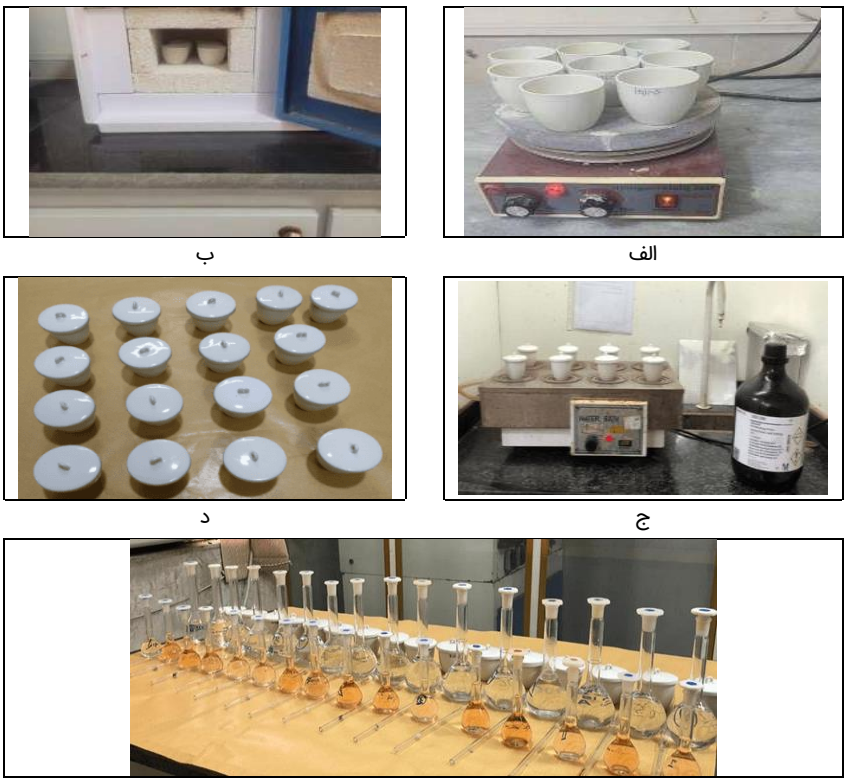
آماده‌سازی نمونه آرد و انجام آزمون

ابتدا ۲ گرم از نمونه‌های آرد کاملاً همگن شده در بوته‌های چینی روی اجاق و زیر هود سوزانده شدند. سپس، بوته‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در کوره با دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از خاکستر شدن، بوته‌ها به دمای اتاق خنک شدند. در ادامه، ۵ میلی‌لیتر محلول هیدروکلریدریک‌اسید غلیظ به‌آرامی به بوته‌ها اضافه شد و سپس روی بن‌ماری جوش زیر هود تا خشک شدن کامل حرارت داده شدند. باقیمانده با افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول HCl غلیظ حل شد و به‌مدت ۵ دقیقه روی بن‌ماری جوش قرار گرفت. پس از آن، محتوای بوته‌ها از کاغذ صافی عبور داده شد و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید. پس از خنک شدن، محلول تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رقیق شد. همچنین، یک نمونه بلانک تهیه شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های استاندارد، نمونه‌ها و بلانک به بالن‌های ژوژه ۲۵ میلی‌لیتری منتقل شد و پس از افزودن ۱ میلی‌لیتر محلول هیدروکسیل‌آمین‌هیدروکلرید ۱۰ درصد، با دقت مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه، ۵ میلی‌لیتر محلول بافرسدیم‌استات و ۱ میلی‌لیتر ارتوفنانترولین اضافه شد و محلول‌ها با آب مقطر تا حجم ۲۵ میلی‌لیتر رقیق شدند. محلول‌های حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حالت سکون قرار گرفتند تا واکنش کامل شود. سپس، جذب نوری آن‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جنوای[6] (مدل ۶۳۰۰) در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (شکل ۱) (۲۵).

[6] Jenway

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]



شکل ۱. مراحل آماده‌سازی نمونه آرد جهت تعیین مقدار آهن به روش اسپکتروفتومتر.
سوزاندن آرد (الف)؛ خاکسترگیری (ب)؛ هضم اسیدی (ج)؛ بوته حاوی نمونه و اسید (د)؛ رقیق‌سازی و افزودن واکنشگرها (ه).

Fig 1. Preparation steps of flour sample to determine iron content by spectrophotometric method. Flour burning (a); ashing (b); acid digestion (c); crucible containing sample and acid (d); dilution and reagent addition (e).

غلظت استاندارد آهن (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) روی محور افقی و تغییرات جذب روی محور عمودی ترسیم شد. سپس، با استفاده از منحنی کالیبراسیون و اعمال ضریب رقت، مقدار آهن نمونه مجهول بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق رابطه (i) محاسبه گردید (۲۶).

رابطه (i):

$$c = \frac{(C_1 - c_2).1000}{W}$$

که در آن:

C: غلظت آهن در نمونه مورد نظر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

C1: غلظت آهن در محلول تهی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

C2: غلظت آهن در محلول نهایی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)

W: وزن نمونه (g)

اندازه‌گیری آهن به روش طیف‌سنجی جذب اتمی[7]

میزان آهن موجود در نمونه‌ها به روش طیف‌سنجی جذب اتمی، بر اساس روش‌های ۱۹۹۹، ۷۰-۴۰AACC و استاندارد ملی ایران شماره ۵۳۳۹، غلات و فرآورده آن اندازه‌گیری آهن به روش اسپکتروسکوپی جذب اتمی تعیین گردید (۲۷ و ۲۸).

محلول‌های استاندارد

جهت تهیه محلول استاندارد ذخیره یا استوک[8] (SSS) آهن (۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر)، میزان

[7] Atomic Absorption Spectrophotometry

[8] Stock Standard Solution

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

۳/۵۱۲ گرم فروآمونیوم‌سولفات $Fe(NH_4)_2.(SO_4)_2.6H_2O$ در یک بالن حجمی ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس، دو قطره اسیدکلریدریک و مقداری آب به آن افزوده شد. پس از انحلال کامل، محلول با آب مقطر تا حجم ۵۰۰ میلی‌لیتر رقیق گردید. هر میلی‌لیتر از این محلول حاوی یك میلی‌گرم در میلی‌لیتر آهن است. برای تهیه محلول استاندارد کاری[9] (WSS) آهن با غلظت ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۴ میلی‌لیتر از محلول استاندارد ذخیره برداشته و با آب مقطر تا حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر رقیق شد. سپس، با استفاده از محلول استاندارد کاری، محلول‌های کالیبراسیون با غلظت‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شدند (۲۸).

آماده‌سازی نمونه

بوته‌های چینی در کوره با دمای حدود ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت یک ساعت حرارت داده شدند. پس از کاهش دمای بوته‌ها به حدود ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، در خشک‌کن قرار گرفتند تا به دمای محیط آزمایشگاه برسند. سپس، بوته‌ها از خشک‌کن خارج و بلافاصله با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شدند. در ادامه، ۵ گرم نمونه آرد در بوته‌ها وزن شد و بوته‌ها به آرامی روی اجاق الکتریکی حرارت داده شدند. پس از آن، برای خاکستر شدن، به‌مدت ۱۰ ساعت در کوره با دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک‌اسید غلیظ به بوته‌ها اضافه شد و روی حمام بخار، خشک گردید. به باقی‌مانده، ۲۰ میلی‌لیتر هیدروکلریدریک اسید ۲ نرمال افزوده شد و محلول به آرامی جوشانده شد. محلول حاصل در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری فیلتر شد و کاغذ صافی به‌طور کامل با آب مقطر شسته و به بالن اضافه گردید. پس از تنظیم حجم محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر، محلول به خوبی مخلوط و همگن شد. برای آنالیز کمی آهن در نمونه آرد، از دستگاه طیف‌سنج جذب اتمی کوره‌ای واریان (Varian SpectrAA-10 Plus) استفاده شد. طول موج اندازه‌گیری آهن با لامپ هالوکاتد، ۵۱۰ نانومتر بود. پس از تنظیم دستگاه و رقیق‌سازی نمونه با اسیدکلریدریک ۰/۵ نرمال، جذب محلول اندازه‌گیری شد. منحنی کالیبراسیون از استانداردها تهیه شد. غلظت آهن نمونه از روی منحنی کالیبراسیون تعیین و مقدار آهن نمونه مجهول با در نظر گرفتن ضریب دقت، بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم، با استفاده از رابطه (ii) محاسبه گردید (۲۸).

رابطه (ii):

$$C=\frac{(C1-C2).100}{W}$$

C: غلظت آهن در نمونه مورد نظر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
C1: غلظت آهن در محلول تهی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
C2: غلظت آهن در محلول نهایی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)
W: وزن نمونه (g)

$$\text{غلظت آهن}\left(\frac{\mu g}{g}\right)=\frac{\text{غلظت حاصل از دستگاه}(\mu g/ml)\times\text{حجم نهایی نمونه}\ (ml)}{\text{وزن اولیه نمونه}\ (g)}$$

تعیین میزان فولیک‌اسید

تشخیص و اندازه‌گیری مقادیر فولیک‌اسید در نمونه‌های آرد، بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵۳۳۳ (اندازه‌گیری تیامین ریبوفلاوین، پیریدوکسین، نیاسین و اسیدفولیک در مکمل‌های ویتامینی خشک به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا)، انجام شد (۲۹).

[9] Working Standard Solution

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

آماده‌سازی استانداردها و رسم منحنی کالیبراسیون

برای تهیه محلول استاندارد ذخیره، با غلظت ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱۰۰ میلی‌گرم استاندارد فولیک‌اسید در بالن حجمی ۲۰۰ میلی‌لیتری توزین شد. سپس، ۲ میلی‌لیتر محلول سدیم‌هیدروکسید ۱ درصد (w/v)، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۵۰ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه شد و با آب دیونیزه به حجم رسید. برای تهیه محلول استاندارد کاری، با غلظت ۱۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۱ میلی‌لیتر از محلول استاندارد ذخیره به بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری منتقل و با آب دیونیزه به حجم نهایی رسانده شد. به‌منظور رسم منحنی کالیبراسیون فولیک‌اسید، محلول‌هایی با غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر از محلول استاندارد کاری تهیه شدند. برای آنالیز نمونه، ۵ گرم نمونه (W_s) در بالن حجمی ۱۰۰ میلی‌لیتری توزین شد و ۶۰ میلی‌لیتر استیک‌اسید ۲ درصد (v/v) به آن افزوده شد. مخلوط به‌مدت ۲۰ دقیقه تحت حرارت غیرمستقیم قرار گرفت، سپس به‌مدت ۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک پردازش و پس از آن خنک شد. بالن با افزودن ۲۵ میلی‌لیتر متانول و استیک‌اسید ۲ درصد (v/v) به حجم رسانیده شد. محلول حاصل سانتریفیوژ شد و فاز رویی آن برای آنالیز به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تزریق گردید. آزمون فولیک اسید با استفاده از دستگاه HPLC واترز (مدل ۱۵۲۵، آمریکا)، مجهز به دتکتور UV (طول موج ماکزیمم ۲۵۴ نانومتر)، ستون MZ-ODS3 (۴/۶×۲۵۰ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرومتر)، فاز متحرک بافر فسفات: آب (۲۵:۷۵، v/v، pH=۲)، سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، دمای ستون ۳۵ درجه سانتی‌گراد و حجم تزریق ۱۰۰ میکرولیتر انجام شد. غلظت فولیک اسید بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر با استفاده از معادله کالیبراسیون (رابطه iii) محاسبه شد (۲۹).

رابطه (iii):

$$conc. = \frac{fs \times c}{fst \times ws \times 10}$$

Fs: سطح پیک محلول نمونه

Fst: سطح پیک محلول استاندارد

Ws: وزن نمونه گرم

C: غلظت فولیک‌اسید در محلول استاندارد (میکروگرم بر میلی‌لیتر).

حدود تشخیص، تعیین مقدار و بازیافت (ریکاوری)

حدود تشخیص و تعیین مقدار روش‌ها از رابطه (iv)، محاسبه گردیدند:

رابطه (iv)

$$LOD = {(3.3 \times Sb)}/{a} \quad و \quad LOQ = {(10 \times Sb)}/{a}$$

که در آن: Sb انحراف استاندارد عرض از مبدا و a شیب منحنی کالیبراسیون است.

به‌منظور بررسی کارایی روش آماده‌سازی نمونه و قدرت آن در حذف بافت نمونه بدون حذف آنالیت مدنظر، بازیابی روش به‌صورت رابطه (v)، محاسبه گردید (۳۰).

رابطه (v)

$$R = \frac{\text{(سطح زیر پیک نمونه غنی شده)}}{\text{(سطح زیر پیک نمونه همسان سازی شده)}} \times ۱۰۰$$

بدین منظور، سه غلظت در محدوده (LOQ، LOQ ۰/۵ و LOQ ۵ /۱)، از نمونه شاهد تهیه و مقادیر آن‌ها پس از سه بار تکرار با استفاده از رابطه v محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج آماری با استفاده از آزمون تجزیه واریانس مورد بررسی قرار گرفت. در تجزیه و تحلیل داده‌ها

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

از نرم‌افزار SPSS، ویرایش ۲۰ و جهت رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده گردید. سرانجام، مقایسه میانگین‌ها مربوط به مقادیر آهن و فولیک‌اسید با آزمون‌های تی تست و مقایسه هر کدام از نمونه‌ها قبل و بعد از غنی‌سازی با یکدیگر، با آزمون Paired- T Test انجام گرفت. سطح معناداری (P<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میزان آهن به روش آزمون نقطه‌ای

مقادیر آهن موجود در آرد، قبل و پس از غنی‌سازی، به روش نیمه کمی در جدول (۲)، آورده شده است.

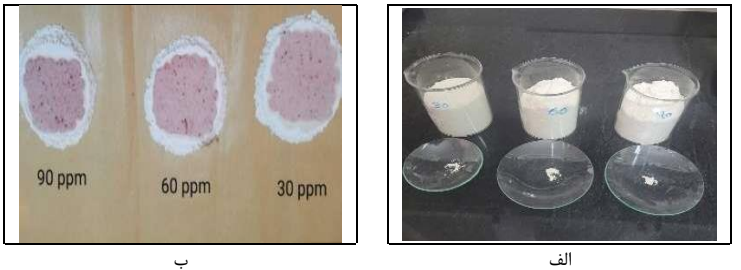
جدول ۲. تعیین مقادیر آهن در آرد قبل و پس از غنی‌سازی به روش آزمون نقطه‌ای

نمونه	قبل از غنی‌سازی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پس از غنی‌سازی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)			
		<۳۰	۶۰-۳۰	۹۰-۶۰	>۹۰
۱	$ND	-	*		
۲	ND	-	*	-	-
۳	ND	-	*	-	-
۴	ND	-	*	-	-
۵	ND	-	*	-	-
۶	ND	-	*	-	-
۷	ND	-	*	-	-
۸	ND	-	*	-	-
۹	ND	-	*	-	-
۱۰	ND	-	*	-	-
۱۱	ND	-	*	-	-
۱۲	ND	-	*	-	-
۱۳	ND	-	*	-	-
۱۴	ND	-	*	-	-

$ND: Not detected

علامت (*) در جدول نشان دهنده میزان آهن در ستون مشخص شده در عنوان جدول و (-) نشان‌دهنده عدم وجود میزان آهن در ستون مرتبط می‌باشد.

نمونه‌های شاهد آماده‌سازی شده در غلظت‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و نیز نمونه‌های مورد آزمون آن‌ها در شکل (۲)، نشان داده شده است.



ب الف

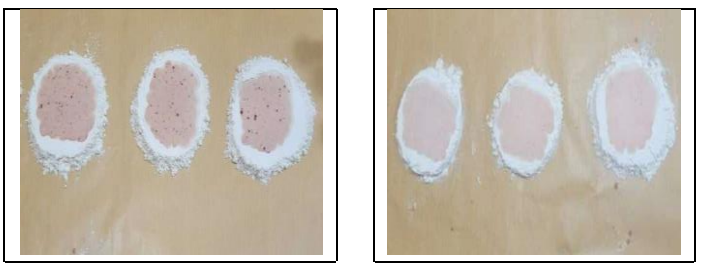
شکل۲. آرد و پودر پرمیکس جهت تهیه نمونه‌های شاهد (الف)؛ نمونه‌های شاهد ۳۰، ۶۰ و ۹۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم) (ب).

Fig 2. Flour and premix powder for preparing control samples (A); 30, 60 and 90 (mg/kg) control samples (B).

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

ظهور نقاط قرمز رنگ، بیان‌گر حضور آهن و تعدد نقاط و وضعیت پراکندگی آن‌ها بیان‌گر اختلاط مناسب پرمیکس در آرد (آهن در نمونه) بود. از مقایسه نمونه با شاهد، میزان آهن آرد در دامنه ۳۰>، ۳۰-۶۰، ۶۰-۹۰ و ۹۰< میلی‌گرم در کیلوگرم، تخمین زده شدند. در شکل (۳)، نمونه‌ای از آزمون نقطه‌ای نمونه‌های آرد قبل و پس از غنی‌سازی با آهن نشان داده شده است.



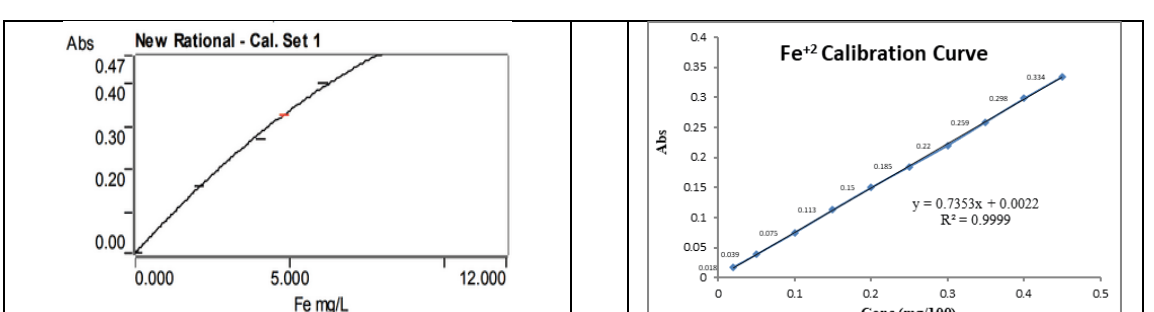
ب الف

شکل ۳. آزمون نقطه‌ای نمونه آرد جهت تعیین میزان آهن قبل از غنی‌سازی (الف)؛ و پس از غنی‌سازی با آهن (ب).

Fig 3. Spot test of flour sample to determine iron content before enrichment (a); and after enrichment with iron (b).

میزان آهن به روش‌های اسپکتروفتومتری و جذب اتمی

منحنی کالیبراسیون آهن با استفاده از محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵، ۰/۲، ۰/۲۵، ۰/۳، ۰/۳۵، ۰/۴، ۰/۴۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر در روش اسپکتروفتومتری (شکل ۴- الف) و منحنی کالیبراسیون آهن در روش جذب اتمی کوره‌ای با استفاده از محلول‌های استاندارد با غلظت‌های ۲/۰۰، ۴/۰۰، ۶/۰۰ و ۸/۰۰ میلی‌گرم بر لیتر (شکل ۴- ب) ارائه شده است. بر اساس منحنی کالیبراسیون آهن در روش جذب اتمی کوره‌ای، معادله کالیبراسیون (-۰/۰۵۴۲۵×A×A-۰/۰۱۴۸۳×A+۰/۰۷۸۰۰) و ضریب رگرسیون (R^2=۰/۹۹۹) به‌دست آمد:



ب الف

شکل۴. منحنی کالیبراسیون آهن با استفاده از محلول‌های استاندارد ۰/۰۲تا ۰/۴۵ (۱۰۰ میلی‌لیتر در میلی‌گرم) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (الف)؛ منحنی کالیبراسیون آهن با استفاده از محلول‌های استاندارد ۲، ۴، ۶ و ۸ (میلی‌گرم بر لیتر) توسط دستگاه جذب اتمی کوره‌ای واریان، مدل SpectrAA-10 Plus (ب).

Fig 4. Iron calibration curve using standard solutions 0.02 to 0.45 (100 ml/mg) by spectrophotometer (A); Iron calibration curve using standard solutions of 2, 4, 6 and 8 (mg/L) using a Varian furnace atomic absorption spectrometer, model SpectrAA-10 Plus (B).

مقادیر LOD، LOQ و حدود مجاز آهن در آرد گندم غنی‌شده با استفاده از هر دو روش در جدول (۳) آورده شده است. حد مجاز آهن در آرد بر اساس ضوابط سازمان غذا و دارو (۱۴۰۰)، به میزان ۸۵-۴۰ میلی‌گرم بر

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

کیلوگرم می‌باشد (۳۱). مقادیر آهن موجود در آرد قبل و پس از غنی‌سازی بر اساس روش‌های اسپکتروفتومتری و جذب اتمی کوره‌ای، در جدول (۳) آورده شده است.

جدول ۳. مقادیر آهن موجود در آرد قبل و پس از غنی‌سازی و نتایج LOD و LOQ مربوط به آن‌ها (میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر اساس روش‌های اسپکتروفتومتری و جذب اتمی کوره‌ای

نمونه	میانگین مقادیر آهن (±SD) میلی‌گرم بر کیلوگرم					
	اسپکتروفتومتری			جذب اتمی کوره‌ای		
	قبل	بعد	p-value (<)	قبل	بعد	p-value (<)
۱	۲۷/۸۶±۰/۴۸۶	۶۵/۳۱±۲/۶۹	۰/۰۰۰۱	۰/۸۴۶±۰/۰۰۱	۴۰/۵۸۲±۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱
۲	۲۷/۱۱±۰/۸۴۱	۶۳/۸۸±۲/۵۳	۰/۰۰۰۱	۴/۸۹۳±۰/۰۰۶	۳۳/۴۱±۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱
۳	۲۹/۱۴±۰/۵	۶۳/۹۱±۲/۵۴	۰/۰۰۰۱	۲۲/۴۵۹±۰/۰۰۶	۳۷/۱۴۷±۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱
۴	۲۵/۴۵±۰/۳۱۸	۶۵/۳۲±۲/۶۹	۰/۰۰۰۱	۱/۵۸۷±۰/۰۰۲	۴۰/۲۲±۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱
۵	۲۰/۸۵±۰/۰۷۹	۶۵/۹۱±۲/۶۹	۰/۰۰۰۱	۱۷/۶۳۲±۰/۰۰۲	۳۳/۳۴۳±۰/۰۰۳	۰/۰۰۰۱
۶	۲۷/۱۰±۰/۸۲۶	۶۳/۵۱±۲/۶۹	۰/۰۰۰۱	۰/۸۴۱±۰/۰۰۳	۴۰/۵۸۱±۰/۰۰۵	۰/۰۰۰۱
۷	۲۷/۰۸±۰/۷۹۰	۶۲/۴۴±۲/۳۹	۰/۰۰۰۱	۴/۸۹۷±۰/۰۱۱	۳۳/۴۱۳±۰/۰۰۴	۰/۰۰۰۱
۸	۲۴/۱۱±۰/۲۳۵	۵۹/۸۹±۲/۲۷	۰/۰۰۰۱	۲۲/۴۶±۰/۰۰۶	۳۷/۱۴۷±۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱
۹	۲۵/۴۳±۰/۳۱۱	۶۶/۶۸±۲/۸۱	۰/۰۰۰۱	۱/۵۸۵±۰/۰۰۰۶	۴۰/۲۱۸±۰/۰۰۶	۰/۰۰۰۱
۱۰	۲۶/۰۳±۰/۳۴۰	۶۳/۹۱±۲/۵۴	۰/۰۰۰۱	۱۷/۶۳۴±۰/۰۰۳	۳۳/۳۴±۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱
۱۱	۲۵/۹۴±۰/۳۸۲	۶۳/۴۲±۲/۴۰۰	۰/۰۰۰۱	۳/۷۰۲±۰/۰۰۳	۳۶/۶۷۲±۴/۹۵۲	۰/۰۰۰۱
۱۲	۲۷/۲±۰/۴۶۸	۶۱/۰۱±۱/۸۱۱	۰/۰۰۰۱	ND	۴۱/۹۰۲±۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۱
۱۳	۲۳/۴۷±۰/۲۰۱	۵۷/۹۸±۱/۷۷۶	۰/۰۰۰۱	ND	۴۳/۴۲۶±۲/۱۲	۰/۰۰۰۱
۱۴	۲۹/۱۲±۰/۵۷۴	۵۸/۳۶±۱/۸۲۱	۰/۰۰۰۱	۳/۷۹±۰/۸۳۱	۷۵/۳۶۴±۸/۰۰۱	۰/۰۰۰۱
حد تشخیص		<۰/۰۶			۰/۰۱۵	
حد تعیین مقدار		<۰/۲			۰/۰۵	
حد مجاز				۴۰-۸۵		

ND: Not Detected

در روش اسپکتروفوتومتری، آزمون t دو نمونه‌ای نشان داد که میانگین ستون دوم (پس از غنی‌سازی)، با مقدار ۶۲/۳۲۴±۲/۸۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین ستون اول (قبل از غنی‌سازی) با مقدار ۲۶/۲±۱۳۵/۳۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم است (P<۰/۰۰۰۱). همچنین، آزمون t جفتی تأیید کرد که مقادیر پس از غنی‌سازی در هر نمونه، با تفاوت‌های بزرگ و انحراف معیار کوچک، به‌طور معنی‌داری بیش از قبل از غنی‌سازی است (P<۰/۰۰۰۱). در روش جذب اتمی کوره‌ای، میانگین آهن قبل از غنی‌سازی ۷/۳۰۹±۸/۴۳ میکروگرم بر گرم و پس از غنی‌سازی ۴۰/۱۱±۴۸۹/۷۶ میکروگرم بر گرم بود. آزمون t جفت‌شده نشان داد که مقادیر آهن پس از غنی‌سازی در هر نمونه (۱ تا ۱۴) به‌طور معنی‌داری بیشتر از قبل از غنی‌سازی است (P<۰/۰۰۰۱).

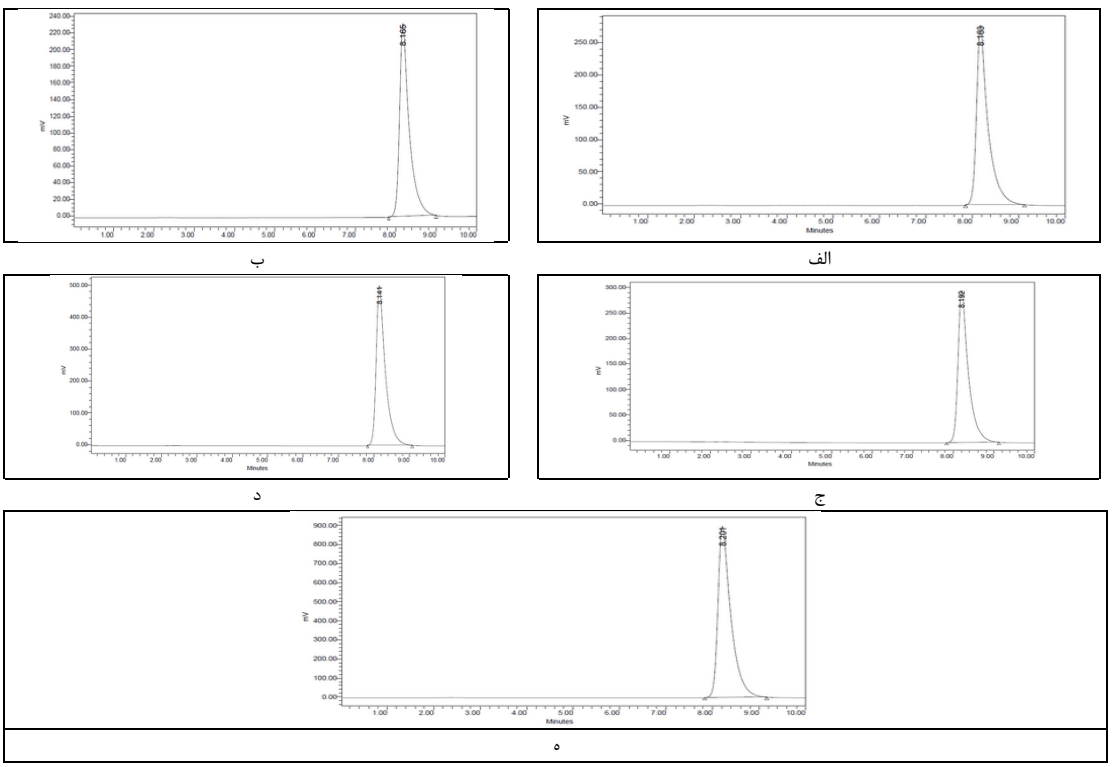
تعیین میزان فولیک‌اسید به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

در ابتدا، پنج غلظت استاندارد فولیک‌اسید (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) با استفاده از محلول پایه ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم تهیه شد و با فلوی ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه به دستگاه HPLC تزریق گردید. ظهور پیک‌های مربوط به این استانداردها در کروماتوگرام‌ها و تکرارپذیری مناسب نتایج، تأییدکننده شرایط بهینه

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

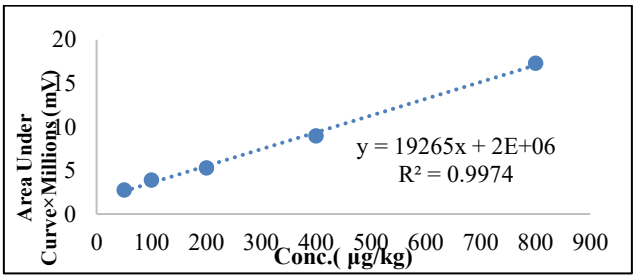
سیستم HPLC برای آنالیز فولیک‌اسید بود. در شکل ۵، کروماتوگرام‌های استاندارد فولیک‌اسید در غلظت‌های مذکور ارائه شده است.



شکل ۵. کروماتوگرام‌های استاندارد فولیک‌اسید در غلظت‌های ۵۰ میکروگرم بر کیلوگرم (الف)؛ ۱۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم (ب)؛ ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم (ج)؛ ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم(د) و ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم (ه).

Fig 5. Standard chromatograms of folic acid at concentrations of 50 µg/kg (a); 100 µg/kg (b); 200 µg/kg (c); 400 µg/kg (d) and 800 µg/kg (e).

منحنی کالیبراسیون فولیک اسید، بر اساس سطح زیر منحنی برای غلظت‌های استاندارد ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، در شکل (۶) نشان داده شده است.



شکل ۶. منحنی کالیبراسیون مربوط غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ (میکروگرم بر کیلوگرم) فولیک اسید جهت آنالیز HPLC

Fig 6. Calibration curve for concentrations of 50, 100, 200, 400, and 800 (micrograms/kg) of folic acid for HPLC analysis

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

حد تشخیص و حد تعیین مقدار فولیک‌اسید به‌ترتیب برابر با ۰/۰۳ و ۰/۱۱ میکروگرم در کیلوگرم بودند. درصد بازیافت فولیک‌اسید در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در جدول (۴) آورده شده است.

جدول ۴. مقادیر ریکاوری (%) مربوط به فولیک‌اسید در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم

غلظت (میکروگرم بر کیلوگرم)	زمان (روز)	غلظت نهایی (میکروگرم بر کیلوگرم)	بازیافت (%)
۲۰۰	اول	۱۶۶/۳۳۳۳	۸۳/۱۶۶۶۷
	دوم	۱۵۳/۳۳۳۳	۷۶/۶۶۶۶۷
	سوم	۱۸۵/۳۳۳۳	۹۲/۶۶۶۶۷
	میانگین (SD ±)	۱۶۸/۳۳۳۳ ± ۱۶/۰۹۳۴۸	۸۴/۱۶۶۶۷ ± ۸/۰۴۶۷۳۸
۴۰۰	اول	۳۴۵/۳۳۳۳	۸۶/۳۳۳۳
	دوم	۳۲۰/۶۶۶۶	۸۰/۱۶۶۶
	سوم	۳۱۳/۶۶۶۶	۷۸/۴۱۶۶
	میانگین (SD ±)	۳۲۶/۵۵۵۵ ± ۱۶/۶۳۴۴۳	۸۱/۶۳۸۸۳ ± ۴/۱۵۸۶۲۲
۸۰۰	اول	۶۸۲	۸۵/۲۵
	دوم	۶۵۶	۸۲
	سوم	۷۱۱	۸۸/۸۷۵
	میانگین (SD ±)	۶۸۳/۰۰ ± ۲۷/۵۱۳۶۳	۸۵/۳۷۵ ± ۳/۴۳۹۲۰۴

همان‌گونه که در جدول (۴) مشاهده می‌گردد درصد بازیافت فولیک اسید ازSD ۷۶/۷۶ تا SD ۹۲/۷۶ درصد، محاسبه گردید که در محدوده قابل قبول قرار دارد.

دقت روش

زمان بازداری در کروماتوگرام مربوط به تعیین تکرارپذیری فولیک اسید در غلظت ۲۰۰ (میکروگرم بر کیلوگرم)، به‌ترتیب ۸/۱۲۹، ۸/۱۷۳ و ۸/۱۷۷ دقیقه، زمان بازداری غلظت ۴۰۰ (میکروگرم بر کیلوگرم)، به‌ترتیب ۸/۲۱۸، ۸/۱۳۱ و ۸/۲ دقیقه و در غلظت ۸۰۰ (میکروگرم بر کیلوگرم)، به‌ترتیب ۸/۱۶۹، ۸/۱۸ و ۸/۱۳۷ دقیقه در سه تکرار، در زمان‌های مختلف مربوط به یک روز بود. میزان تکرارپذیری روش تعیین فولیک‌اسید (در سه غلظت) مربوط به یک روز و در سه تکرار در جدول (۵) آورده شده است.

جدول ۵. تعیین تکرارپذیری روش تعیین فولیک‌اسید (هر کدام در سه غلظت ۴۰۰ و۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم) مربوط به یک روز

غلظت (میلی‌گرم/ کیلوگرم)					
۲۰۰		۴۰۰		۸۰۰	
شماره تکرار	سطح زیر منحنی	شماره تکرار	سطح زیر منحنی	شماره تکرار	سطح زیر منحنی
۱	۶۵۲۰۸۸۳	۱	۹۳۹۶۱۴۱	۱	۱۵۶۸۶۴۶۱
۲	۵۳۰۴۳۲۰	۲	۸۷۷۳۸۱۵	۲	۱۷۹۲۳۳۶۹
۳	۴۹۴۲۸۱۵	۳	۷۸۸۱۲۵۱	۳	۱۸۸۷۷۳۳۰
میانگین	۵۵۸۹۳۳۹	میانگین	۸۶۸۳۷۳۶	میانگین	۱۷۴۹۵۷۲۰
RSD	۰/۱۴۷۹۱۴	RSD	۰/۰۸۷۶۸۷	RSD	۰/۰۹۳۶۱۵

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

کروماتوگرام‌های مربوط به روند تجدیدپذیری روش در سه روز متوالی در فولیک‌اسید (هر کدام در سه غلظت) به‌دست آمدند که براساس این نتایج، نمونه‌های فولیک‌اسید، زمان‌های بازداری در غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، در روز اول به‌ترتیب ۸/۲۰۳، ۸/۲۱۱ و ۸/۲۱۶ دقیقه؛ در روز دوم ۸/۲۲۶، ۸/۲۱۷ و ۸/۲۱۶ دقیقه و در روز سوم ۸/۲۰۷، ۸/۲۳ و ۸/۲۰۱ دقیقه بود. همچنین در غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، به‌ترتیب در روز اول ۸/۲۵۴، ۸/۲۲۲ و ۸/۲۵ دقیقه، در روز دوم ۸/۲۴۵، ۸/۲۳۵ و ۸/۲۴ دقیقه و در روز سوم ۸/۱۷۵، ۸/۱۹۵ و ۸/۱۸۴ دقیقه و در غلظت ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم، به‌ترتیب در روز اول ۸/۲۵۷، ۸/۲۵۸ و ۸/۲۵۸ دقیقه، در روز دوم ۸/۲۲۱، ۸/۲۰۹ و ۸/۲۱۱ دقیقه و در روز سوم ۸/۱۷۲، ۸/۱۹۹ و ۸/۱۸۵ دقیقه بود. روند بررسی تجدیدپذیری روش در سه روز متوالی در فولیک‌اسید (هر کدام در سه غلظت) در جدول (۶) آورده شده است.

جدول ۶. تعیین تجدیدپذیری روش در سه روز متوالی درفولیک‌اسید (هر کدام در سه غلظت۴۰۰ و۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم)

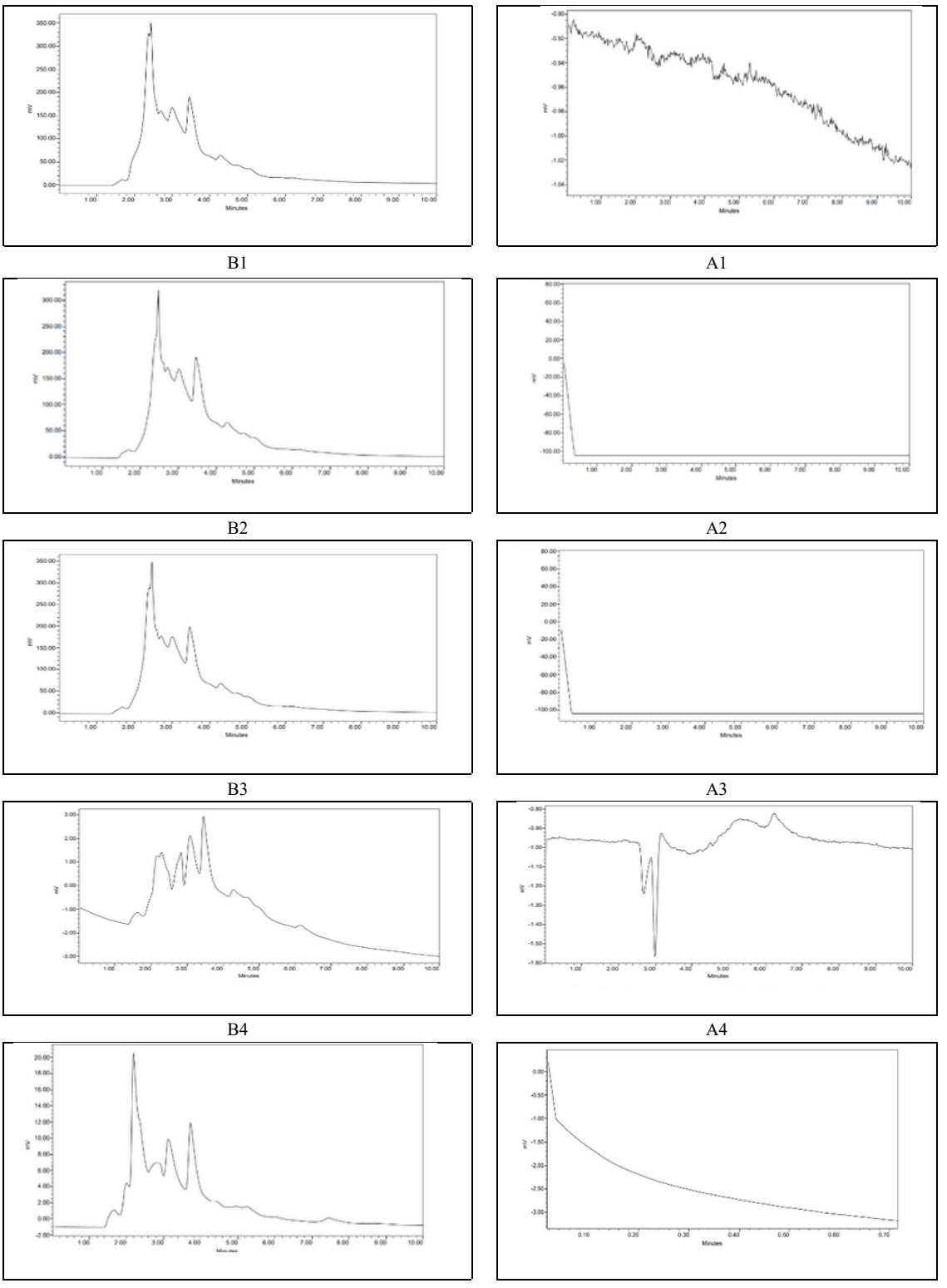
غلظت (میلی‌گرم/ کیلوگرم)					
۲۰۰		۴۰۰		۸۰۰	
تکرار	سطح زیرپیک	تکرار	سطح زیر پیک	تکرار	سطح زیرپیک
۱	۷۶۱۴۸۷۷	۱	۶۴۴۸۱۹۶	۱	۱۲۲۷۵۰۲۹
۲	۵۰۲۶۸۰۲	۲	۶۷۲۲۷۴۰	۲	۱۳۱۱۲۴۴۰
۳	۴۲۶۶۹۲۲	۳	۶۸۸۵۶۹۰	۳	۱۳۱۱۲۴۴۰
میانگین	۵۶۳۶۲۰۰	میانگین	۶۶۸۵۵۴۲	میانگین	۱۲۸۳۳۳۰۳
RSD	۰/۳۱۱۴۱۵	RSD	۰/۰۳۳۰۷۲	RSD	۰/۰۳۷۶۷۴
*روز اول					
تکرار	سطح زیرپیک	تکرار	سطح زیرپیک	تکرار	سطح زیرپیک
۱	۱۰۶۶۸۶۲۵	۱	۹۴۸۶۷۵۹	۱	۱۷۲۰۰۰۴۲
۲	۷۲۰۶۱۴۶	۲	۱۰۱۹۹۸۲۸	۲	۱۹۵۲۸۵۴۱
۳	۵۷۹۸۳۹۱	۳	۱۰۳۱۱۷۱۲	۳	۲۰۶۵۵۴۹۴
میانگین	۷۸۹۱۰۵۴	میانگین	۹۹۹۹۴۳۳	میانگین	۱۹۱۲۸۰۲۶
RSD	۰/۳۱۷۶۱۵	RSD	۰/۰۴۴۷۵۲	RSD	۰/۰۹۲۱۲۷
*روز دوم					
تکرار	سطح زیرپیک	تکرار	سطح زیرپیک	تکرار	سطح زیر پیک
۱	۱۰۶۶۸۶۲۵	۱	۸۴۲۹۸۰۱	۱	۱۶۹۱۹۷۵۷
۲	۷۲۰۶۱۴۶	۲	۹۹۵۵۱۴۵	۲	۱۸۳۱۸۶۰۴
۳	۵۷۹۸۳۹۱	۳	۱۰۰۱۵۷۵۰	۳	۱۹۶۰۲۱۳۵
میانگین	۷۸۹۱۰۵۴	میانگین	۹۴۶۶۸۹۹	میانگین	۱۸۲۸۰۱۶۵
RSD	۰/۱۳۷۶۱۵	RSD	۰/۰۹۴۹۲۷	RSD	۰/۰۷۳۳۹۱
*روز سوم					

تعیین میزان فولیک‌اسید در نمونه آرد قبل و پس از غنی‌سازی

برخی کروماتوگرام‌های مربوط به فولیک اسید در پنج نمونه آرد در شکل (۷)، آورده شده است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]



شکل ۷. کروماتوگرام‌های HPLC مربوط به فولیک اسید در پنج نمونه آرد قبل و پس از غنی‌سازی

Fig 7. HPLC chromatograms of folic acid in five flour samples before and after enrichment

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

همان‌گونه که ملاحظه می‌گردد کروماتوگرام‌ها، فاقد هرگونه پیک در زمان بازداری مربوط به فولیک‌اسید در نمونه‌های آرد قبل و پس از غنی‌سازی می‌باشند.

بحث

این مطالعه به بررسی میزان آهن در آرد قبل و بعد از غنی‌سازی با استفاده از روش‌های کیفی و کمی، شامل آزمون نقطه‌ای، اسپکتروفتومتری، طیف‌سنجی جذب اتمی (AAS) و فولیک‌اسید با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، پرداخته است. نتایج ارائه شده، بینش‌های ارزشمندی در مورد اثربخشی فرآیند غنی‌سازی و قابلیت اطمینان روش‌های تحلیلی برای ارزیابی سطح مواد مغذی در ماتریس‌های غذایی فراهم می‌کند.

آزمون نقطه‌ای به‌عنوان یک روش نیمه‌کمی برای تخمین میزان آهن در نمونه‌های آرد قبل و بعد از غنی‌سازی استفاده شد. بر اساس نتایج، آهن در تمامی نمونه‌ها قبل از غنی‌سازی غیرقابل شناسایی (ND) بود، در حالی‌که نمونه‌های پس از غنی‌سازی به‌طور مداوم سطوح آهن در دامنه ۳۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را نشان دادند. ظهور نقاط قرمز رنگ، نشان‌دهنده حضور آهن، و پراکندگی آن‌ها، بیانگر یکنواختی اختلاط پرمیکس در آرد بود که با پروتکل‌های استاندارد آزمون نقطه‌ای در غنی‌سازی مواد غذایی همخوانی دارد (۳۲). سادگی و هزینه پایین، این روش را برای ارزیابی سریع در محل مناسب می‌سازد. با این‌حال، ماهیت نیمه‌کمی آن، دقت را محدود می‌کند، زیرا تنها دامنه‌ای از غلظت (مانند ۶۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و نه مقادیر دقیق را ارائه می‌دهد. این موضوع لزوم استفاده از روش‌های کمی مکمل برای تعیین دقیق‌تر میزان آهن را، همان‌طور که در این مطالعه انجام شد، تأیید می‌کند.

یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعه علیزاده و همکاران، در ارزیابی کیفی غنی‌سازی آهن در آرد تافتون، لواش و بربری با پرمیکس (آهن و فولیک‌اسید) در پنج کارخانه تولید آرد در زنجان همخوانی دارد. در مطالعه آن‌ها، از نمونه‌های آرد تافتون و لواش، ۱۸۸ نمونه در محدوده ۶۰-۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۵۰ نمونه در محدوده ۹۰-۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم قرار داشتند. همچنین، از نمونه‌های آرد بربری، ۱۹۴ نمونه در محدوده ۶۰-۳۰ و ۴۶ نمونه در محدوده ۹۰-۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند. تنها یک نمونه آرد بربری (۰/۰۲ درصد) دارای آهن بیش از حد مجاز (>۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود و سایر نمونه‌ها در محدوده مجاز سازمان غذا و دارو قرار داشتند (۳۳). مطالعه دهقان و همکاران، نیز در بررسی میزان آهن آرد غنی‌شده در کارخانجات آذربایجان غربی با روش آزمون نقطه‌ای نشان داد که از ۳۴۱ نمونه، ۱۴/۳۶ درصد کمتر از حد مجاز و ۸۵/۶۴ درصد، در محدوده مجاز بودند (۳۴).

آنالیز کمی آهن با استفاده از روش‌های اسپکتروفتومتری و جذب اتمی کوره‌ای انجام شد (جدول ۳). اسپکتروفتومتری، افزایش قابل‌توجهی در محتوای آهن پس از غنی‌سازی نشان داد ($P<0/0001$). این یافته‌ها اثربخشی فرآیند غنی‌سازی در افزایش سطح آهن به حد استانداردهای نظارتی (۸۵-۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، طبق سازمان غذا و داروی ایران (۱۴۰۰) را تأیید می‌کند (۳۱). منحنی‌های کالیبراسیون برای هر دو روش (شکل ۴)، خطی بودن بالایی را نشان دادند، با ضریب رگرسیون $R^2= 0/999$ برای AAS، که نشان‌دهنده قابلیت اطمینان بالای روش است. حد تشخیص و حد تعیین مقدار در اسپکتروفتومتری (به‌ترتیب ۰/۰۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به AAS (۰/۰۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بالاتر بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر AAS است. با این‌حال، تنوع بالاتر در نتایج AAS (مانند نمونه ۱۴، برابر ۰/۳۶۴±۸/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم پس از غنی‌سازی) ممکن است نشان‌دهنده تداخل‌های ماتریس یا محدودیت‌های دستگاه

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

باشد، زیرا AAS به آماده‌سازی نمونه و اثرات ماتریس حساس است (۳۵).

بر اساس نتایج، روش اسپکتروفوتومتری به‌طور معنی‌داری مقادیر آهن بالاتری را چه قبل و چه پس از غنی‌سازی، نسبت به روش جذب اتمی نشان داد؛ با توجه به حساسیت و اختصاصیت بیشتر روش جذب اتمی، این تفاوت ممکن است ناشی از جذب مزاحمت‌ها در روش اسپکتروفوتومتری باشد، به‌ویژه در نمونه‌های ۱۲ و ۱۳ که مقادیر غیر قابل آشکارسازی در روش جذب اتمی و مقادیر غیرصفر در اسپکتروفوتومتری گزارش شده‌اند. این مشاهدات می‌توانند به دلیل واکنش‌های غیراختصاصی با یون‌های مزاحم یا پراکندگی نور ناشی از ذرات معلق باشند. انحراف معیار کمتر در اسپکتروفوتومتری (۲/۳۷ و ۲/۸۱) نسبت به جذب اتمی (۸/۴۳ و ۱۱/۷۶)، ممکن است نشان‌دهنده اثر ثابت مزاحمت‌ها باشد که به‌طور یکنواخت جذب را افزایش می‌دهد. انحراف معیار بالاتر در روش جذب اتمی (۸/۴۳ و ۱۱/۷۶ در مقابل ۲/۳۷ و ۲/۸۱ برای اسپکتروفوتومتری)، نشان از پراکندگی بیشتر داده‌هاست که می‌تواند به ناپایداری روش یا تفاوت در آماده‌سازی نمونه‌ها نسبت داده شود.

با این وجود، هر دو روش کارایی فرآیند غنی‌سازی را نشان می‌دهد. سادگی و هزینه کمتر اسپکتروفتومتری آن را برای آنالیزهای روزمره مناسب می‌سازد، در حالی‌که حساسیت بالاتر AAS برای تشخیص مقادیر ناچیز مناسب‌تر است. انتخاب بین این روش‌ها به منابع آزمایشگاهی و دقت مورد نیاز بستگی دارد، به‌طوری که AAS برای تنظیمات پژوهشی و اسپکتروفتومتری برای کاربردهای صنعتی مناسب‌تر است (۳۶).

یافته‌های این مطالعه با مطالعه لشکربلوکی و همکاران، در گلستان هم‌خوانی دارد که میانگین آهن آرد نانوایی را ۵۲/۶۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم و آرد غنی‌نشده را ۲۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کردند (۳۷). در مطالعه سیلوا (Silva) و همکاران، میزان آهن در آرد غنی‌شده گندم و ذرت با روش اسپکتروفتومتری بین ۴/۳۵ تا ۳۶/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که کمتر از استاندارد ۴۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم برزیل و میانگین این مطالعه است، هرچند استاندارد ایران ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تعیین شده است (۳۸).

نمونه‌های آرد غنی‌شده با الزامات نظارتی ایران برای آهن (۸۵-۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مطابقت داشتند، که با استانداردهای جهانی مانند توصیه‌های WHO برای غنی‌سازی آرد گندم هم‌خوانی دارد (۳۹). افزایش قابل‌توجه محتوای آهن پس از غنی‌سازی، موفقیت افزودن پرمیکس را نشان می‌دهد، همان‌طور که توزیع یکنواخت نقاط قرمز در آزمون نقطه‌ای، یکنواختی اختلاط را تأیید می‌کند.

در مطالعه حاضر، تعیین آهن با استفاده از طیف‌سنجی جذب اتمی، دو نمونه آرد پیش از غنی‌سازی کمتر از حد تشخیص و میانگین غلظت آهن در هفت نمونه آرد غنی‌شده با استاندارد وزارت بهداشت ایران (۸۵-۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مطابقت نداشت. در مطالعه مشابه، ریواس (Rivas) و همکاران، غلظت آهن آرد گندم با روش اسپکتروفتومتری جذب اتمی، بین ۴۸/۹۵ تا ۸۹/۹۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شد (۴۰). همچنین، محمدی و همکاران با بررسی ۱۲۱ نمونه آرد گندم (قنادی، تافتون، ستاره، بربری، سنگک)، در تهران به روش طیف‌سنجی جذب اتمی شعله‌ای، میانگین آهن را در آرد تافتون، بربری و سنگک به‌ترتیب ۱/۷۴±۲۸/۳۲، ۳/۹۸±۳۲/۸۱ و ۴/۹۹±۱۴/۰۲، میلی‌گرم بر کیلوگرم محاسبه کردند. میانگین آهن تمام آردهای مورد بررسی، به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$)، کمتر از حداقل استاندارد وزارت بهداشت (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بود که نشان‌دهنده ناکارآمدی برنامه غنی‌سازی آهن در تهران در زمان مورد مطالعه بود (۴۱). عوامل مؤثر بر غنی‌سازی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

شامل نوع گندم (داخلی یا وارداتی)، کود مصرفی و روش افزودن پرمیکس (مخلوط آهن و فولیک‌اسید)، گزارش شده است.

سطح فولیک‌اسید با استفاده از HPLC و با ایجاد منحنی‌های کالیبراسیون برای غلظت‌های ۵۰ تا ۸۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم (شکل ۷) تعیین گردید. این روش حساسیت بالایی را با LOD برابر ۰/۰۳ میکروگرم بر کیلوگرم و LOQ برابر ۰/۱۱ میکروگرم بر کیلوگرم نشان داد که با مقادیر گزارش شده در مطالعات مشابه قابل مقایسه است (۴۲). بر اساس جدول (۵)، نرخ بازیافت، از ۷۶/۷۶±SD تا ۹۲/۷۶±SD متغیر بود که در محدوده قابل قبول (۱۲۰-۷۰ درصد) برای آنالیز HPLC در ماتریس‌های غذایی قرار دارد (۴۳). تکرارپذیری (جدول ۵) و تجدیدپذیری (جدول ۶) روش بسیار قابل قبول بود، با انحراف استاندارد نسبی (RSD) کمتر از ۰/۳۱ که نشان‌دهنده دقت بالای روش است .

با این‌حال، کروماتوگرام‌ها، هیچ پیک قابل تشخیصی برای فولیک‌اسید در نمونه‌های آرد قبل و بعد از غنی‌سازی نشان ندادند. این نتیجه غیرمنتظره می‌تواند دلایل مختلفی چون تخریب فولیک‌اسید طی ذخیره‌سازی یا فرآوری، غنی‌سازی ناکافی، یا تداخل‌های آنالیزی که تشخیص را مختل کرده‌اند داشته باشد. فولیک‌اسید به گرما، نور و pH حساس است، که ممکن است طی فرآیند آسیاب یا ذخیره‌سازی آرد تخریب شده باشد (۴۴). همچنین، عدم وجود پیک‌ها می‌تواند نشان‌دهنده افزودن ناکافی پرمیکس یا اثرات ماتریس باشد که سیگنال را سرکوب کرده‌اند که چالشی شناخته‌شده در آنالیز HPLC ماتریس‌های غذایی پیچیده می‌باشد (۴۵).

مطالعه‌ای توسط کاریلوتو (Kariluoto) و همکاران نشان داد که پخت نان در دماهای بالا می‌تواند تا ۳۰-۲۰ درصد از فولیک‌اسید موجود در نان‌های چاودار و گندم را تخریب نماید (۴۶). بر اساس منابع، کاهش فولیک‌اسید در نان‌های غنی‌شده می‌تواند ناشی از عواملی چون دمای بالای پخت، نوع و کیفیت گندم و فرآیند، توزیع ناهمگن پرمیکس، شرایط نامناسب ذخیره‌سازی، pH خمیر و تخمیر و نوع پرمیکس (۵۱-۴۷) باشد. این عوامل با ناکارآمدی غنی‌سازی در ایران، مشابه یافته‌های پوراحمدی و همکاران، هم‌خوانی دارد (۵۲). بهبود پرمیکس، کنترل تولید و آموزش نانوایان توصیه می‌شود.

عدم تشخیص فولیک‌اسید در نمونه‌های غنی‌شده، نگرانی‌هایی را در مورد کارایی فرآیند غنی‌سازی برای این ماده مغذی ایجاد می‌کند. در حالی‌که غنی‌سازی آهن موفقیت‌آمیز بود، فولیک‌اسید نیاز به بهبود پایداری پرمیکس یا بازنگری پروتکل‌های غنی‌سازی را نشان می‌دهد. تحقیقات بیشتری در مورد شرایط ذخیره‌سازی، فرمولاسیون پرمیکس و تکنیک‌های آماده‌سازی نمونه مورد نیاز است. حساسیت و دقت بالای روش HPLC نقاط قوت آن هستند، اما ناتوانی آن در تشخیص فولیک‌اسید در این مطالعه، لزوم استفاده از تکنیک‌های مکمل مانند آزمون‌های میکروبیولوژیکی را برای تأیید نتایج برجسته می‌کند (۵۳).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد برنامه غنی‌سازی آرد گندم با آهن در بوشهر با موفقیت نسبی اجرا شده و میزان آهن در نمونه‌های غنی‌شده با استانداردهای ملی مطابقت دارد. روش‌های آزمون نقطه‌ای، اسپکتروفتومتری و طیف‌سنجی جذب اتمی، افزایش یکنواخت آهن را پس از غنی‌سازی تأیید کردند. با این‌حال، اسپکتروفتومتری مقادیر آهن بالاتری نسبت به جذب اتمی گزارش کرد که ممکن است به‌دلیل حساسیت بالاتر جذب اتمی به مقادیر ناچیز و اختصاصیت بیشتر آن، یا تداخل‌های ماتریس و واکنش‌های غیراختصاصی در اسپکتروفتومتری باشد. انحراف معیار بالاتر در جذب اتمی، پراکندگی

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

بیشتر داده‌ها و احتمال ناپایداری روش یا تأثیر آماده‌سازی نمونه را نشان می‌دهد، اما اسپکتروفتومتری به‌دلیل سادگی و هزینه کمتر برای تحلیل‌های معمول مناسب‌تر است.

عدم تشخیص اسیدفولیک در نمونه‌های غنی‌شده با روش HPLC، نگرانی‌هایی را در مورد پایداری این ریزمغذی یا کارایی فرآیند افزودن پرمیکس ایجاد می‌کند. عوامل احتمالی مانند تخریب اسیدفولیک در اثر گرما، نور یا شرایط نامناسب ذخیره‌سازی، و همچنین توزیع ناهمگن پرمیکس، می‌توانند دلایل این مشکل باشند. برای بهبود اثربخشی برنامه غنی‌سازی، پیشنهاد می‌شود که فرمولاسیون پرمیکس بهینه‌سازی شود، کنترل کیفیت در فرآیند تولید تقویت گردد و آموزش‌های لازم به نانوایان برای حفظ پایداری ریزمغذی‌ها ارائه شود. همچنین، انجام مطالعات تکمیلی با استفاده از روش‌های مکمل مانند آزمون‌های میکروبیولوژیکی برای تأیید نتایج HPLC و بررسی عوامل محیطی منطقه‌ای، به‌ویژه در شرایط اقلیمی بوشهر، ضروری است. انتخاب روش آنالیز مناسب (اسپکتروفتومتری برای کاربردهای صنعتی و جذب اتمی برای مطالعات دقیق‌تر) نیز می‌تواند به بهبود ارزیابی برنامه‌های غنی‌سازی کمک کند. این اقدامات می‌توانند به بهبود سیاست‌گذاری‌های تغذیه‌ای و ارتقای سلامت عمومی در سطح منطقه‌ای و ملی کمک کنند.

حمایت مالی

این مطالعه تحت حمایت مالی هیچ سازمان یا مؤسسه‌ای نبوده است.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Pirhadi M, Alikord M, Tajdar-Oranj B, et al. Potential toxic elements (PTEs) concentration in wheat and flour products in Iran: a probabilistic risk assessment. Heliyon 2022; 8(11): e11230. 10.1016/j.heliyon.2022.e11803

2.Ghaziani S, Ghodsi D, Schweikert K, et al. Household food waste quantification and cross-examining the official figures: a study on household wheat bread waste in Shiraz, Iran. Foods 2022; 11(9): 1188. 10.3390/foods11091188

3.Abdul Majeed S, Said S, Hassan DA, et al. Evaluating the effectiveness and risks of bread fortification programs in the middle eastern region: a comprehensive review. Front Public Health 2025; 13: 1530380. 10.3389/fpubh.2025.1530380

4.Upadhyay RP, Chowdhury R, Mundra S, et al. Comparative effectiveness of daily therapeutic supplementation with multiple micronutrients and iron-folic acid versus iron-folic acid alone in children with mild-to-moderate anaemia in rural India: an open-label, randomised controlled trial. Lancet Glob Health 2025; 13(3): e497-e507. 10.1016/S2214-109X(24)00559-X

5.Eltayeb R, Binsaleh N, Barnawi H, et al. A persistent burden: global prevalence of and changes in anaemia by country income in children aged 6–59 months (2000–2019). Arch Med Sci 2025. 10.5114/aoms/197062

6.Pacołta A, Nalepka M, Pograniczny M, et al. Analysis of selected nutritional and environmental factors leading to the development of neural tube defects. Quality in Sport 2025; 41: 60332. 10.12775/QS.2025.41.60332.

7.Pouraram H. Fortification of wheat flour with iron: a national fortification program in Iran. Nutr Food Health Dis 2017; 4(3): 1-2. http://nfsr.sbmu.ac.ir/article-1-249-en.html

8.Kancherla V, Chadha M, Rowe L, et al. Reducing the burden of anemia and neural tube defects in low-and middle-income countries: an analysis to identify countries with an immediate potential to benefit from large-scale mandatory fortification of wheat flour and rice. Nutrients 2021; 13(1): 244. 10.3390/nu13010244

9.Mehrjardi MM, Dehghani A, Khaniki GJ, et al. Determination of phytic acid content in different types of bread and dough consumed in Yazd, Iran. J Food Qual Hazards Control 2014; 1(1): 29-31. http://jfqhc.ssu.ac.ir/article-1-50-en.html

10.Zheng J, Wang X, Wu B, et al. Folate (vitamin B9) content analysis in bread wheat (Triticum aestivum L.). Front Nutr 2022; 9: 933358. 10.3389/fnut.2022.933358

11.Karki R, Ojha P, Dongol DM, et al. Food fortification: global experience, importance, challenges and potential

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

in Nepal. J Food Sci Technol Nepal 2024; 18: 69-88. 10.3126/jfstn.v14i14.71713
12.Mahdavi-Roshan M, Ramezani A. Overview of flour fortification program with iron and folic acid in Iran. J Health Res Commun 2017; 3(1): 57-68. (persian) https://jhc.mazums.ac.ir/browse.php?a_code=A-10-4317-4&sid=1&slc_lang=en
13.Sadighi J, Nedjat S, Rostami R. Systematic review and meta-analysis of the effect of iron-fortified flour on iron status of populations worldwide. Public Health Nutr 2019; 22(18): 3465-3484. 10.1017/S1368980019002179
14.Osendarp SJ, Martinez H, Garrett GS, et al. Large-scale food fortification and biofortification in low-and middle-income countries: a review of programs, trends, challenges, and evidence gaps. Food Nutr Bull 2018; 39(2): 315-331. 10.1177/0379572118774229
15.Gujska E, Majewska K. Effect of baking process on added folic acid and endogenous folates stability in wheat and rye breads. Plant Foods Hum Nutr 2005; 60(2): 37-42. 10.1007/s11130-005-2538-0
16.Podder R, Glahn RP, Vandenberg A. Dual-Fortified Lentil Products—A Sustainable New Approach to Provide Additional Bioavailable Iron and Zinc in Humans. Curr Dev Nutr 2021; 5(2): nzab004. 10.1093/cdn/nzab004
17.Hurrell R, Bothwell T, Cook JD, et al. The usefulness of elemental iron for cereal flour fortification: a SUSTAIN Task Force report. Sharing United States Technology to Aid in the Improvement of Nutrition. Nutr Rev 2002; 60(12): 391-406. 10.1301/002966402320964061
18.Rebellato AP, Klein B, Wagner R, et al. Fortification effects of different iron compounds on refined wheat flour stability. J Cereal Sci. 2018; 82: 1-7. 10.1016/j.jcs.2018.05.006
19.Maekawa AA, Glahn RP, Lei XG, et al. Effect of bread baking on the bioavailability of hydrogen-reduced iron powder added to unenriched refined wheat flour. J Agric Food Chem 2006; 54(21): 8362-8368. 10.1021/jf0615395
20.Song P, Huang Y, Li J, et al. The influence of processing technologies on the biological activity of carbohydrates in food. Food Chem: X. 2024;23:101590. 10.1016/j.fochx.2024.101590
21.Khamila S, Sila DN, Makokha A. Compliance status and stability of vitamins and minerals in fortified maize flour in Kenya. Sci Afr. 2020; 8: e00384. 10.1016/j.sciaf.2020.e00384
22.Abdollahi Z, Elmadfa I, Djazayery A, et al. Efficacy of flour fortification with folic acid in women of childbearing age in Iran. Ann Nutr Metab 2011; 58(3): 188-196. 10.1159/000329726
23.Hurrell R, Ranum P, de Pee S, et al. Revised recommendations for iron fortification of wheat flour and an evaluation of the expected impact of current national wheat flour fortification programs. Food Nutr Bull 2010; 31(1): S7-S21. 10.1177/15648265100311S102
24.AACC International. AACC Method 44-40.01: moisture modified vacuum-oven method. Approved methods of analysis. St Paul: AACC International; 1999. https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1860991
25.ISIRI 5688. Cereal and cereal products - determination of iron by spectrophotometry; 1st ed. Tehran: ISIRI; 2001. https://standard.inso.gov.ir/StandardFiles/5688.htm
26.AACC International. Approved methods of analysis, method 40–40: iron–qualitative method. St Paul: AACC; 2002.
27.AACC International. Approved methods of analysis, method 40–70: elements by atomic absorption spectrophotometry. St Paul: AACC International; 2002.
28.ISIRI 104. Cereal and cereal products -Wheat -Specification & Test methods. 5th.Revision. Nov.2012. https://standard.inso.gov.ir/StandardView.aspx?Id=36452
29.ISIRI 5333. Determination of thiamin, riboflavin, pyridoxin, niacin, and folic acid in dry vitamin supplements by high performance liquid chromatography (HPLC); 1st ed. Tehran: ISIRI; 1999. https://standard.inso.gov.ir/StandardView.aspx?Id=89
30.ISIRI 6872. Food and feed stuffs – determination of aflatoxins B&G by HPLC method using immunoaffinity column clean up-test method. Tehran: ISIRI; 2013. 1st. revision. https://standard.inso.gov.ir/StandardView.aspx?Id=34869
31.Iran's Food and Drug Organization. Guidelines for the fortification of wheat flour with iron and folic acid. Tehran: General Directorate for Food and Beverages, 2022. https://fdo.iums.ac.ir/uploads/25/2022/Jun/14/dastorolamal_ghanisazi_arde_gandom.pdf
32.Lindsay A, de Benoist B, Dary O, et al. WHO/FAO Guidelines on Food Fortification With Micronutrients World Health Organization. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Geneva. 2006. https://www.who.int/publications/i/item/9241594012
33.Alizadeh AM, Heidary RH, Tajkey J, et al. Assessment of wheat flour fortification by premix (iron and folic acid) in flour factories of Zanjan province, Iran, 2016. J Nutr Sci Diet 2017; 3(1): 3. https://www.magiran.com/p1742883
34.Dehghan K, Ghazanfarirad N, Asadzadeh J, et al. Investigating the iron level in produced enriched flour of west Azerbaijan province, northwest of Iran. J Novel Appl Sci 2014; 3(6): 562-565. https://blue-

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]

ap.com/J/List/8/iss/volume%2003%20(2014)/issue%2006/1.pdf
35.Welz B, Sperling M. Atomic absorption spectrometry. spectrometry. Weinheim: Wiley-VCH; 1999. https://download.e-bookshelf.de/download/0000/6030/76/L-G-0000603076-0002364813.pdf
36.Allen L, de Benoist B, Dary O, et al. Guidelines on food fortification with micronutrients. Geneva: World Health Organization; 2006. https://www.who.int/publications/i/item/9241594012
37.Lashkarboloki F, Maghsoudlou Y, Alami M, et al. Phytic acid content in Barbari bread fortified with iron. In: 18th International Congress on Food Technology; Mashhad: 2008, Research Institute of Food Science and Technology. https://www.en.symposia.ir/NCFOODI18
38.de Silva AF libro, de Castro WV, de Andrade FP. Development AL. Development of spectrophotometric method for iron determination in fortified wheat and maize flours. Food Chem 2018; 242: 205-210. 10.1016/j.foodchem.2017.08.110
39.WHO, FAO, UNICEF, GAIN, MI, & FFI. Recommendations on wheat and maize flour fortification. Meeting Report: Interim Consensus Statement. Geneva, World Health Organization, 2009. https://www.who.int/publications/i/item/WHO-NMH-NHD-MNM-09.1
40.Rivas GB, Almada RA, Siqueiros LE, et al. The fortification of flours fortification of flour and their contribution to the intake of vitamins (B1, B2, B3, folic acid), iron, B1, and zinc in preschool population. Curr Dev Nutr Dev. 2020; 4: nzaa043-012. 10.1093/cdn/nzaa043_012
41.Mohamadi S, Yazdanfar N, Ebrahiminejad B, et al. Evaluation of iron content in bakery flour samples of flour in Tehran, Iran. Heliyon 2023; 9(1): e12937. 10.1016/j.heliyon.2023.e12937
42.Breithaupt DE. Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction. Food Chem 2001; 74(4): 521-525. 10.1016/S0308-8146(01)00219-9
43.AOAC International. Official methods of analysis. 21st ed. Gaithersburg: AOAC International, 2019. https://www.aoac.org/official-methods-of-analysis/
44.Arcot J, Shrestha A. Folate: methods of analysis. Trends Food Sci Technol 2005; 16(6-7): 253-266. 10.1016/j.tifs.2005.03.013
45.Gebrehiwot NT, He MN, Li J, et al. Challenges of folate species analysis in food and biological matrices by liquid chromatography-tandem mass spectrometery. Bioanalysis 2025; 17(10): 681-700. 10.1080/17576180.2025.2515009
46.Kariluoto S, Vahteristo L, Salovaara H, et al. Effect of baking method and fermentation on folate content of rye and wheat breads. Cereal Chem 2004; 81(1): 134-139. 10.1094/CCHEM.2004.81.1.134
47.Anderson WA, Slaughter DJ, Laffey C, et al. Reduction of folic acid during baking and implications for mandatory fortification of bread. Int J Food Sci Technol 2010; 45(6): 1104-1110. 10.1111/j.1365-2621.2010.02226.x
48.Liang Q, Wang K, Shariful I, et al. Folate content and retention in wheat grains and wheat-based foods: Effects of storage, processing, and cooking methods. Food Chem 2020; 333: 127459. 10.1016/j.foodchem.2020.127459
49.Nguyen MT. Study on folate stability during thermal processing. CTU J of Inn & Sus Dev 2016; 30(04): 87-94. 10.22144/ctu.jen.2016.047
50.Moyo HN. The Impact of Food Processing Techniques on Nutrient Retention and Bioavailability. International Research Journal of Engineering and Technology. 2024 Aug. Retrieved from https://www.irejournals.com/formatedpaper/1706163.pdf
51.Olson R, Gavin-Smith B, Ferraboschi C, et al. Food fortification: The advantages, disadvantages and lessons from sight and life programs. Nutrients 2021; 13(4): 1118. 10.3390/nu13041118
52.Poorahmadi Z, Nahidi M, Hosseini H, et al. The effect of baking process on stability of fortified folic acid in the breads. J Nutr Sci & Diet 2022; 6(1): 19-26. https://jnsd.tums.ac.ir/index.php/jnsd/article/view/311
53.Pfeiffer CM, Rogers LM, Gregory JF. Determination of folate in cereal-grain food products using trienzyme extraction and combined affinity and reversed-phase liquid chromatography. J Agric Food Chem. 1997;45(2):407-13. https://doi.org/10.1021/jf960633q.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-09-11]

[DOI: 10.61882/ismj.28.1.491]