

# Feasibility of utilizing ion mobility spectrometry combined with chemometric methods to detect synthetic colorants in cherry and barberry juices

Fatemeh Mehrpoor<sup>1</sup>, Maryam Ghaderi-Ghahfarokhi<sup>2\*</sup>, Mohsen Barzegar<sup>3</sup>, Reza Fattahi<sup>4</sup>

1. M.Sc Graduate of Food Hygiene and Quality Control, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
4. Ph.D of Food Technology, Center of Research and Innovation, Ministry of Defense and Armed Forces Logistics, Tehran, Iran

(Received: 29 October 2024, Revised: 28 December 2024, Accepted: 31 December 2025)

## Abstract

**Introduction:** Color is a key organoleptic attribute that significantly influences consumers' acceptance and preference for foods. However, synthetic colorants have been linked to various adverse effects, including toxicity, allergic reactions, and behavioral and neurocognitive disturbances. Many commercially available fruit juices may contain synthetic colorants, raising serious health concerns for consumers. Red fruit juices, such as cherry and barberry juices, have garnered considerable consumer interest in recent years due to their vibrant color, rich phytochemical content, and associated health benefits. However, these juices are highly susceptible to adulteration with artificial colorants, especially when produced and distributed through retail channels. Consequently, there is an increasing demand for rapid, efficient techniques with minimal sample preparation to detect and identify such adulterations accurately. This study proposes utilizing spectral fingerprints generated by ion mobility spectrometry (IMS) combined with multivariate data analysis as an accessible and efficient method for detecting the adulteration of cherry and barberry juices with various synthetic colorants, including Allura Red, Ponceau 4R, and Carmoisine.

**Material and Methods:** The experimental conditions were optimized, including the injection port temperature (170–230°C), drift tube temperature (140–200°C), ion shutter pulse width (40–100 μs), carrier gas flow rate (50–150 mL/min), and drift gas flow rate (500–900 mL/min). Subsequently, pure and natural juices, along with synthetic colorants, were diluted with water, analyzed using IMS, and a comprehensive data set was collected. Pure barberry and cherry juices were adulterated with varying proportions (10%, 30%, and 50% w/w) of the specified synthetic colorants. A total of 90 adulterated samples for each juice were analyzed using various multivariate data processing

\* Correspondence Author: [m.ghaderi@scu.ac.ir](mailto:m.ghaderi@scu.ac.ir)

techniques, including principal component analysis (PCA) and partial least squares regression (PLSR). PLSR was applied to the pretreated IMS spectra to develop predictive models for quantifying the contents of Allura Red, Ponceau 4R, and Carmoisine in each juice. Following calibration, an independent data set (30% of the spectral data) was used to evaluate the performance of the optimized PLSR models. The accuracy of these models was assessed using the coefficient of multiple determination for calibration ( $R^2C$ ), cross-validation ( $R^2CV$ ), and testing ( $R^2test$ ). Additionally, the root mean square error (RMSE) was calculated for the calibration set (RMSEC), cross-validation set (RMSECV), and test set (RMSEtest). The best PLSR model was identified based on the lowest RMSECV and the highest  $R^2CV$  values, indicating optimal predictive performance.

**Results and discussion:** The injection port temperature, drift tube temperature, ion shutter pulse width, carrier gas flow rate, and drift gas flow rate were optimized and set at 260 °C (except 200 °C for colorants), 180 °C (except 200 °C for cherry juice), 60  $\mu$ s, 200 mL/min, and 900 mL/min, respectively. Each juice and synthetic colorant exhibited distinct ion mobility spectra, with the spectral fingerprints of the juices showing significant changes as the adulteration ratio increased. Principal component analysis (PCA) demonstrated effective discrimination patterns, enabling differentiation between the juices and between barberry juice and synthetic colorants. This discrimination was both valid and reliable, as 91.15% of the total variance in the collected data was explained by the first three principal components (PCs), with 77.67% attributed to the 1st PC, 9.17% to the 2nd PC, and 4.31% to the 3rd PC. Additionally, distinctive characteristic ions were identified using the variable importance in projection (VIP > 1) method, which were then used as discriminative features to develop the partial least squares regression (PLSR) model for the adulterated juices. Furthermore, good results were obtained for predicting the adulteration ratio using PLSR. The models developed to quantify the levels of the colorant Allura red in barberry juice demonstrated the best performance, with the  $R^2_{CV} \geq 0.704$  and the  $RMSE_{CV} \leq 10.44\%$ . Moreover, for the test set mixtures of juice and synthetic colorants, the root mean square error (RMSE) ranged from 11.05% to 13.19%, and the coefficient of multiple determination ( $R^2_{R^2}$ ) values ranged from 0.548 to 0.793.

**Conclusion:** The IMS-CDI+ technology, combined with chemometric tools such as PCA and VIP-PLSR, proved to be an effective approach for detecting various synthetic colorants in cherry and barberry fruit juices, as well as for assessing quality and quantifying potential adulterations. As a result, it presents a robust and reliable alternative to traditional methods for detecting adulteration in fruit juices, delivering results in just a few milliseconds with minimal sample preparation.

**Keywords:** Adulteration, Synthetic Colorants, Barberry juice, Cherry juice, Chemometrics, Ion mobility spectrometry

**How to cite this article:** Mehrpoor. F., Ghaderi-Ghahfarokhi. M., Barzegar. M., Fattahi. R. (2024). Feasibility of utilizing ion mobility spectrometry combined with chemometric methods to detect synthetic colorants in cherry and barberry juices. *Innov. Food Technol.*, 332-355., <https://doi.org/10.22104/IFT.2024.7203.2187>

### مقاله پژوهشی

# امکان‌سنجی کاربرد طیف‌سنج تحرک یونی در تلفیق با روش‌های شیمی‌سنجی در تشخیص رنگ‌های سنتزی در آب آلبالو و زرشک

فاطمه مهرپور<sup>۱</sup>، مریم قادری قهفرخی<sup>۲\*</sup>، محسن برزگر<sup>۳</sup>، رضا فتاحی<sup>۴</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
  ۲. استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
  ۳. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
  ۴. دکتری تکنولوژی مواد غذایی، مرکز تحقیقات و نوآوری، وزارت دفاع و پشتیبانی از نیروهای مسلح، تهران، ایران
- (تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۰۸/۱۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۰۸، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۱۰/۱۱)

### چکیده

این مطالعه با هدف استفاده از طیف‌سنج تحرک یونی مجهز به سامانه یونیزاسیون تخلیه کرونا (IMS-CDI) همراه با روش‌های شیمی‌سنجی برای تشخیص تقلب در آب آلبالو و زرشک با سه رنگ مصنوعی رایج شامل آلورا قرمز، پونسو 4R و کارموزین انجام شد. نخست دمای محفظه تزریق، دمای محفظه رانش، پالس دروازه یونی، سرعت جریان گاز حامل و سرعت جریان گاز رانش به ترتیب روی  $260^{\circ}\text{C}$  (بجز برای رنگ‌ها)،  $180^{\circ}\text{C}$  (بجز برای آب آلبالو)،  $60$  میکروثانیه،  $200$  و  $900$  میلی‌لیتر در دقیقه تنظیم شد؛ سپس طیف IMS آب‌میوه‌های خالص و رنگ‌های مصنوعی به ثبت رسید. تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی، الگوهای منطقی را برای تمایز بین آب میوه‌ها و رنگ‌ها از یکدیگر ارائه کرد. این تفکیک معتبر و قابل‌اعتماد بود، زیرا  $91\%/15$  از کل واریانس داده‌های جمع‌آوری‌شده توسط سه مؤلفه اول توصیف شد. آب زرشک خالص و آلبالو جداگانه با نسبت‌های مختلف (۱۰، ۳۰ و ۵۰ درصد وزنی/وزنی) با هریک از رنگ‌های مصنوعی مخلوط و طیف‌های تحرک یونی آن‌ها ثبت شد. افزودن رنگ‌های مصنوعی با تغییرات مشخص در طیف IMS نمونه‌های آب‌میوه همراه بود. داده‌های طیفی نمونه‌های تقلبی به روش‌های مختلف تجزیه و تحلیل داده‌های چندمتغیره بررسی شدند. نقاط مشخص مختلفی، با استفاده از شاخص تعیین متغیرهای مهم در مدل‌سازی به‌عنوان ویژگی‌های متمایز برای ساخت مدل‌های رگرسیونی حداقل مربعات جزئی برای پیش‌بینی نسبت‌های مختلف از تقلبات افزوده، انتخاب شدند. کارایی پیش‌بینی مدل‌ها در شناسایی کمی مقادیر تقلبات رنگی افزوده‌شده به نمونه‌های آب زرشک و آب آلبالو، براساس مقادیر ضریب تبیین در سه حالت درجه‌بندی، اعتبارسنجی متقابل و آزمون؛ همچنین براساس مقادیر خطای میانگین ریشه مربعات در سه حالت درجه‌بندی، اعتبارسنجی متقابل و آزمون تعیین شد. در این راستا، بهترین مدل PLSR مدلی است که دارای حداقل مقادیر RMSE و تعداد متغیرهای پنهان و همچنین حداکثر مقادیر  $R^2$  باشد. مدل‌های مربوط به پیش‌بینی کمی آلورا، در آب زرشک بهترین نتایج با حداکثر مقدار ضریب تبیین (۹۴٪) و حداقل مقدار خطای میانگین ریشه مربعات (۴/۳۷٪) را داشت. بیشترین میزان همبستگی بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی‌شده در مجموعه اعتباربخشی مربوط به ترکیب آب زرشک-آلورا مشاهده شد (۷۰۴٪).

**واژه‌های کلیدی:** آب آلبالو، آب زرشک، تقلب، طیف‌سنج تحرک یونی، شیمی‌سنجی، رنگ مصنوعی.

## ۱. مقدمه

از دیدگاه تغذیه‌ای میوه زرشک منبع غنی از ترکیبات زیست فعال، مانند کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و پلی‌فنول‌ها است و حاوی مواد مغذی مختلفی از جمله دکستروز، فروکتوز، اسیدهای مالیک، تارتاریک، سیتریک، پکتین و ویتامین‌های (ث، آ، کلسیم، آهن و پتاسیم) است. به دلیل حضور این ترکیبات، زرشک اثرات سلامتی بخش متفاوتی از خود نشان می‌دهد و دارای فعالیت‌های ضد اکسایشی و ضد سرطانی است [۱]. آلبالو نیز مانند بسیاری از میوه‌های دیگر سرشار از مواد مغذی است، تقریباً این میوه فاقد ساکاروز و چربی است. آلبالوی ترش حاوی مواد شیمیایی و گیاهی متعددی از جمله آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها (کوئرستین، کامپفرول، ایزورامنتین)، فلاوانول‌ها (کاتچین، اپی کاتچین)، مشتقات گالیک اسید، پروسیانیدین‌ها و اسیدهای فنولی است [۲].

طبق آمار سازمان خواربار جهانی، ایران نخستین کشور تولیدکننده زرشک و پنجمین تولیدکننده آلبالو [۳] در دنیا است [۴]. به دلیل طعم منحصربه‌فرد، رنگ قرمز و فواید سلامتی بخش آن‌ها، این دو آب‌میوه در ایران بسیار پرطرفدار هستند. یکی از مشکلات رایج در مصرف آب‌میوه‌ها، ازدیاد تقلب در تولید آن‌ها، به‌ویژه در شکل سنتی است که این امر معمولاً به تولید انبوه این نوشیدنی‌ها و ارزش اقتصادی آن‌ها برمی‌گردد.

از تقلبات مهم در آب‌میوه‌ها، می‌توان به افزودن پالپ در آب‌میوه‌های ارزان‌تر، آب و ترکیبات قندی (مانند قند گرفته‌شده از نیشکر و چغندر قند، شربت اینورت، شربت ذرت با فروکتوز بالا و شربت اینولین آبکافت‌شده) جایگزین کردن با آب‌میوه‌های ارزان‌تر، افزودن اسیدهای آلی، کدرکننده‌ها، افزودن رنگ‌های غیرمجاز و مقادیر غیرمجاز سولفیت اشاره کرد [۵، ۶، ۷]. رنگ یکی از شاخص‌های کیفی آب‌میوه‌ها و فراورده‌های بر پایه میوه

محسوب می‌شود و قابلیت انتخاب محصول توسط مصرف‌کننده را تحت تأثیر قرار می‌دهد؛ لذا رنگ‌های مختلف به انواع مواد غذایی افزوده می‌شود تا جذابیت و بازارپسندی را افزایش داده یا تغییرات رنگ طبیعی آن را جبران کنند [۸]. رنگ‌های مصنوعی برای ایجاد ظاهری مطلوب در مواد غذایی، جذابیت و اشتهاآوری بیشتر برای مصرف‌کننده، جبران رنگ طبیعی غذا و گاهی برای پنهان کردن عیوب و تقلب‌های حین تولید و فرایندهای ذخیره‌سازی استفاده می‌شوند [۸]. در مقایسه با رنگ‌دانه‌های طبیعی، رنگ‌دانه‌های مصنوعی دارای مزایای پایداری بالا، یکنواختی رنگ خوب، آلودگی میکروبی پایین و هزینه تولید پایین هستند [۹]. این رنگ‌ها در روده و توسط فلور میکروبی به آمین‌هایی تبدیل می‌شوند که می‌توانند عوارض مختلفی را در بدن ایجاد کنند. از جمله این عوارض می‌توان به سردردهای مکرر، سرطان‌زایی، اختلالات عصبی و ژنتیکی، نقص توجه و بیش‌فعالی در کودکان (ADHA)، واکنش‌های آنافیلاکتیک، کهیر، حساسیت، ضعف سیستم ایمنی، آسیب جدی و اختلال در سوخت‌وساز چربی و کاهش سطح IQ و کاهش ویتامین‌های بدن اشاره کرد [۱۰].

در ایران رنگ‌های مصنوعی مجاز برای استفاده در صنایع غذایی شامل: کینولین یلو، سانست یلو، آزوروبین (کارموزین)؛ پونسو 4R (کوشینیل قرمز آ)، آلورا رد، ایندیگوتین<sup>۴</sup> و برلیانت به لو<sup>۵</sup> است. با توجه به عوارض ذکرشده، قوانینی برای مقدار مجاز مصرف روزانه فرآورده‌هایی که به‌عنوان رنگ مصنوعی تأییدشده هستند، وضع شده است [۱۱]. علاوه بر این، استفاده از رنگ‌های خوراکی مجاز در برخی از محصولات، مانند بستنی، نوشیدنی، آب‌میوه، دسر و محصولات که به‌صورت سنتی و در فروشگاه‌های سطح شهر عرضه می‌شوند، ممنوع شده است [۱۲]. تاکنون مطالعات مختلفی در زمینه تشخیص انواع رنگ‌های غیرمجاز در آب‌میوه‌های عرضه‌شده در سطح

1. Attention deficit-hyperactivity disorder

2. Azorubine (Carmoisine)

3. Allura Red

4. Indigotine

5. Brilliant Blue

شیمی‌سنجی شاخه‌ای از علم شیمی است که از علمی مانند آمار چندمتغیره، مدل‌سازی ریاضی، علوم رایانه و شیمی تجزیه برای آزمون‌های درجه‌بندی، معناداری و اعتبارسنجی، بهینه‌سازی، اندازه‌گیری‌های شیمیایی و آزمون‌های تجربی و استخراج حداکثر اطلاعات شیمیایی از داده‌های تجزیه‌ای سود می‌برد [۱۹]. تاکنون روش IMS در تلفیق با روش‌های شیمی‌سنجی به‌عنوان تکنیکی توانمند برای تشخیص تقلب رنگ‌های خوراکی مصنوعی، مانند تارترازین، سانست‌یلو، پونسو 4-R و اریتریزین در زعفران [۲۰]، رنگ‌های خوراکی طبیعی، نظیر گلرنگ، گل همیشه‌بهار، زردچوبه، سماق و پرچم گل زعفران [۲۱] و رنگ‌های مصنوعی نظیر کارمین، کارموزین، ایندیگو کارمین، برلیانت‌بلو، سانست‌یلو و تارترازین در چای سیاه [۲۲] استفاده شده‌اند. در ایران برای شناسایی رنگ‌های مصنوعی بیشتر از روش‌های کروماتوگرافی استفاده می‌شود که بسیار پرهزینه و وقت‌گیر هستند؛ بنابراین هدف این مطالعه، بررسی پتانسیل دستگاه IMS در تلفیق با روش‌های شیمی‌سنجی جهت تشخیص سریع برخی رنگ‌های مصنوعی، شامل آلوراقرمز، پونسو 4R و کارموزین در آب‌میوه زرشک و آلبالو است.

## ۲. مواد و روش‌ها

### ۲.۱. مواد استفاده‌شده

زرشک و آلبالوی تازه از بازار تهران خریداری، شسته شد. مدی در دمای محیط باقی ماندند تا آب اضافی آن‌ها خارج شود. رنگ‌های مصنوعی خالص آلوراقرمز، پونسو 4R و کارموزین با درجه خلوص بالای ۹۸٪ (شرکت الوان‌رنگ ثابت همدان- ایران) خریداری و کپسول هوای فشرده با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹ (۲۰٪ O<sub>2</sub>: ۸۰٪ N<sub>2</sub>) (شرکت مهرگان ماناگس تبریز- ایران) و متانول نیز با درجه HPLC (شالولو- بلژیک) تهیه شد.

کشور انجام شده است؛ از جمله تشخیص رنگ کارموزین و تارترازین و ترکیب کارموزین و سانست‌یلو در ۲۰۸ فرآورده میوه‌ای و آب‌میوه‌های سنتی فاقد پروانه‌های بهداشتی در سطح شهر تهران با کروماتوگرافی لایه‌نازک [۱۳]، رنگ‌های سانست‌یلو و تارترازین در ۳۰ نمونه آب‌پرتقال با کروماتوگرافی مایع [۱۴] و کارموزین و سانست‌یلو در آب اناری که سنتی و در سطح شهر شیراز [۱۵] عرضه می‌شود.

در کل تشخیص تقلبات در آب‌میوه‌ها به دلیل تنوع در واریته و ارقام میوه‌ها، تفاوت‌های ناشی از منطقه جغرافیایی کشت، شرایط انبارداری و روش فرآوری بسیار پیچیده و دشوار است [۱۶]. بنابراین توسعه راهکارهای تجزیه‌ای پیشرفته، سریع و دقیق برای تجزیه ترکیبات آب‌میوه‌ها، تضمین ایمنی غذا و جلوگیری از تقلب در مواد غذایی از جمله آب‌میوه‌ها مورد نیاز است. در حال حاضر روش‌های متعددی برای بهبود کیفیت آب‌میوه و جلوگیری از تقلبات ارائه شده است. روش‌های تجزیه‌ای، نظیر طیف‌سنجی و کروماتوگرافی برای تعیین اصالت آب‌میوه‌ها توسعه یافته‌اند که به بررسی ترکیبات مختلف موجود در آن‌ها، از قبیل ترکیبات رنگی، فنول‌ها، اسیدهای آلی فرار و پروفایل آمینواسیدها می‌پردازند [۱۷].

علاوه بر روش‌های مذکور، برخی از روش‌های دیگر متداول در شیمی تجزیه نیز برای شناسایی آلاینده‌ها و تقلبات مواد غذایی استفاده می‌شوند. در سال‌های اخیر روش طیف‌سنجی تحرک یونی<sup>۱</sup> (IMS) به‌عنوان یک فناوری تجزیه‌ای با قابلیت‌های کاربردی متعدد برای ترکیبات فرار و شبه‌فرار به‌کاررفته است. اساس کار در این روش، تحرکات یون‌های جداسازی شده از نمونه و حرکت آن‌ها در یک میدان الکتریکی است. از مهم‌ترین مزایای آن می‌توان به قابلیت اطمینان بالا، هزینه پایین، پاسخ‌های سریع و حساسیت بالای دستگاه اشاره کرد [۱۸]. رویکردها و ابزارهای تکمیلی نظیر روش‌های شیمی‌سنجی، جزء ضروری روش‌های تجزیه‌ای مدرن محسوب می‌شوند.

1. Ion mobility spectrometry

2. Calibration

3. Significance testing

4. Validation

## ۲.۲. آماده‌سازی آب‌میوه و رنگ‌های مصنوعی

در ابتدا نمونه آب‌زرشک و آلبالوی خالص، در شرایط بهداشتی مناسب آزمایشگاه با آب‌میوه‌گیری دستی جدا شد. آب‌میوه‌های حاصله جهت حذف هرگونه حباب‌های گاز، ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسوند (فاپن، ایران) قرار گرفتند، سپس فالكون‌های حاوی نمونه در ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه جهت جداسازی ذرات احتمالی با سانتریفیوژ مدل 30-3 KS (سیگما، آلمان) چرخانده شدند و تا زمان تجزیه، در دمای یخچال قرار گرفتند. پودر سه‌رنگ مصنوعی آلورا قرمز، پونسو R۴ و کارموزین هرکدام با غلظت ۳۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب، رقیق و سپس در دور  $5000 \times g$  سانتریفیوژ شدند [۱۴]. برای تهیه نمونه‌های تقلبی آب زرشک/آلبالو، هر رنگ در سه سطح ۱۰، ۳۰ و ۵۰٪ به هر یک از آب‌میوه‌ها اضافه شد.

## ۳.۲. بهینه‌سازی شرایط دستگاه برای تجزیه نمونه‌ها

ویژگی‌های طیفی هر یک از آب‌میوه‌ها و رنگ‌های مصنوعی با استفاده از طیف‌سنج تحرک یونی مجهز به سامانه یونیزاسیون تخلیه کرونا (IMS-CDI-300)، ساخت شرکت تاف فناوری پارس (اصفهان، ایران)، در بازه زمانی تا ۲۴ میلی‌ثانیه<sup>۱</sup> ثبت شد. برای پیدا کردن شرایط بهینه تجزیه یک نمونه خاص، لازم است ۵ پارامتر دستگاهی بهینه شود تا به بیشینه حساسیت و قدرت تفکیک نمونه‌ها دست‌یافت. پارامترهای مورد بررسی در این تحقیق، شامل موارد زیر هستند: دمای ناحیه تزریق (۲۰۰، ۲۳۰ و ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد)، دمای لوله رانش (۱۶۰، ۱۸۰ و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد)، سرعت جریان گاز رانش (۵۰۰، ۷۰۰ و ۹۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه)، سرعت جریان گاز حامل (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه) و پالس دروازه یونی (۴۰، ۵۰ و ۶۰ میکروثانیه).

جهت یافتن نقاط بهینه هر یک از پارامترهای ذکر شده، از روش آماری یکی در یک زمان<sup>۱</sup> استفاده شد. برای مثال، دمای بهینه ناحیه تزریق برای هر آب‌میوه، ۱۰ بار در هر

یک از دماهای مشخص برای محفظه تزریق، آزمایش شد. برای این منظور مقدار مشخصی از نمونه در آب با غلظت معین تهیه شد و مقدار ۲ میکرولیتر از نمونه ساخته‌شده با سرنگ همیلتون، مستقیم به ناحیه تزریق دستگاه وارد و بیشینه شدت پیک‌های نمونه ذخیره شد. به این ترتیب برای هر پارامتر ۳۰ تزریق انجام و دمای بهینه ناحیه تزریق انتخاب شد. برای دمای لوله رانش، دمای گاز رانش، گاز حامل و دروازه یونی نیز به همین ترتیب عمل شد و در هر مرحله پارامترهای تأییدشده در مرحله قبل در حد ثابت نگه داشته می‌شد و پارامتر بعدی بهینه‌سازی می‌شد. در نهایت پس از ۱۵۰ بار تزریق هر آب‌میوه به دستگاه، شرایط بهینه آن پس از بررسی طیف‌های حاصله با در نظر گرفتن حداکثر حساسیت و حداقل نوفه انتخاب شد. با مقایسه طیف‌ها در دماهای مختلف، بهترین شرایط از نظر دمای تزریق، دمای لوله رانش، سرعت گاز رانش، سرعت گاز حامل و پالس دروازه یونی، از جهت برخورداری از بیشترین علامت با کمترین مزاحمت برای تجزیه نمونه‌های آب‌میوه انتخاب شد. در مورد هر یک از رنگ‌های مصنوعی نیز با همین عملکرد بهترین شرایط انتخاب گردید [۲۳، ۲۰].

همچنین نوع منبع یون، قطبیت، ولتاژ رانش، میدان الکتریکی و طول لوله رانش برای تمامی آزمایش‌ها ثابت و به ترتیب تخلیه کرونا، مثبت، ۸۰۰۰ ولت، ۷۴/۸ ولت بر میلی‌متر و ۱۶ سانتی‌متر بود. همان‌طور که در بخش ۲-۲ گفته شد، هر رنگ در سه سطح به هر یک از آب‌میوه‌ها اضافه و آب‌میوه‌های تقلبی تهیه شدند. به این ترتیب، برای آب زرشک با رنگ آلورا قرمز در هر یک از سطوح تقلب ۱۰، ۳۰ و ۵۰٪، ۱۰ بار تزریق انجام شد؛ در مجموع برای هر آب‌میوه و هر رنگ ۳۰ تزریق صورت گرفت و برای هر آب‌میوه با سه رنگ و سه سطح تقلب، ۹۰٪ تزریق انجام شد.

## ۴.۲. ثبت طیف نمونه‌ها

برای ثبت طیف تحرک یونی نمونه‌ها، آب‌میوه‌ها به دستگاه طیف‌سنج تحرک یونی تزریق شد. سپس نمونه‌ها به واسطه گاز حامل از غشای ورودی رد شده و وارد ناحیه یونش

1. One-at-a-time

می‌شوند. یون‌های واکنش‌گر هیدرونیوم با متابولیت‌های موجود در آب‌میوه وارد واکنش انتقال پروتون گردیده و سپس یون‌های ایجادشده با عبور از دروازه یونی وارد ناحیه رانش شدند. یون‌های حاصل بسته به جرم، اندازه و بارشان، توسط گاز رانش تحت یک میدان الکتریکی با ولتاژ بالا، از هم تفکیک شدند. یون‌ها پس از جداسازی به ترتیب با آشکارساز دستگاه که یک صفحه فارادی است برخورد می‌کنند. جریان حاصل از این برخورد، توسط صفحه جمع‌کننده تجمع و بعد از تقویت با آمپلی‌فایر به مبدل آنالوگ دیجیتال انتقال می‌یابد. جریان پالسی مبدل آنالوگ به دیجیتال و همچنین دروازه یونی توسط پالس مولد تأمین می‌شود. در نهایت طیف حاصل از نمونه‌ها به صورت منحنی دوبعدی (محور x زمان رانش (میلی ثانیه) و محور y به‌عنوان علامت (ولت) در بازه زمانی ۰ تا ۲۰ میلی ثانیه ثبت شد [۲۰، ۲۱].

۲.۵.۲. تجزیه و تحلیل افتراقی بر مبنای مدل تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی<sup>۲</sup> (PCA) روشی برای شناسایی الگوهای موجود در داده‌ها است به‌گونه‌ای که می‌تواند شباهت‌ها و تفاوت‌های آن‌ها را مشخص کند. از آنجایی که تشخیص الگوهای موجود در داده‌های با ابعاد بالا می‌تواند مشکل باشد، از این‌رو PCA ابزاری قدرتمند برای تجزیه داده‌ها است. در تجزیه و تحلیل مؤلفه‌های اصلی برای کاهش ابعاد داده‌ها، از دستور تجزیه مقادیر منفرد<sup>۳</sup> (SVD) استفاده شد. مؤلفه‌های اصلی (PCs) به صورتی استخراج می‌شوند که اولین مؤلفه اصلی حاوی بیشترین اطلاعات داده‌ها است. در واقع مؤلفه اول در جهت بیشترین واریانس قرار می‌گیرد. برای نمایش موقعیت نمونه‌ها و متغیرها در فضای مؤلفه‌های اصلی به ترتیب از نمودار امتیاز و نمودار لودینگ استفاده می‌شود. نمودار امتیاز حاوی نقاطی است که نمونه‌های اصلی تصویب شده بر مؤلفه‌های اصلی را نشان می‌دهد. نمودار لودینگ وابستگی بین متغیرها و مؤلفه‌های اصلی را نشان می‌دهد [۲۰، ۲۱].

## ۲.۵.۲. تحلیل داده‌های حاصل از دستگاه با روش‌های

### شیمی سنجی

برای ثبت و تجزیه و تحلیل طیف‌ها از نرم‌افزار پیکواسکوپ 2240 A ساخت شرکت پیکوفناوری - انگلستان استفاده شد؛ همچنین پیش‌پردازش، طبقه‌بندی و کمی‌سازی داده‌ها از نرم‌افزار متلب (Matlab R2017a) کمک گرفته شد.

## ۲.۵.۱. پیش‌پردازش داده‌های طیفی

طیف‌های IMS ابتدا پیش‌پردازش شدند. اهمیت این مرحله در تفسیر صحیح داده‌ها بسیار بالاست و یکی از اصول آماده‌سازی داده‌ها محسوب می‌شود. هدف تمام روش‌های پیش‌پردازش این است که نوفه تصادفی و تغییرات در داده‌های طیفی را کاهش و ویژگی‌های طیفی را بهبود بخشند [۲۰، ۲۱]. ابزار فیلترسازی ساویتزکی-گولی<sup>۱</sup> با پنجره ۱۷ و مرتبه ۲ برای حذف نویز از طیف‌ها و بهینه‌سازی عدم قطعیت اندازه‌گیری و افزایش نسبت

## ۲.۵.۲. تجزیه و تحلیل افتراقی بر مبنای مدل تجزیه و تحلیل مؤلفه اصلی

۳.۵.۲. مدل‌سازی از نرم‌افزار متلب برای ساخت مدل استفاده شد. پس از پیش‌پردازش داده‌ها، انواع روش‌های رگرسیون و طبقه‌بندی داده‌ها مانند PCA، رگرسیون حداقل مربعات جزئی<sup>۴</sup> (PLSR) و تعیین متغیرهای مهم در مدل‌سازی<sup>۵</sup> (VIP) توسط این نرم‌افزار بررسی شد و بهترین مدل با توجه به مواردی همچون

1. Savitzky-Golay

2. Principe component analysis

3. Singular value decomposition

4. Partial least squares regression

5. Variable importance in projection

مدل وارد تجزیه و تحلیل PLSR گردید [۲۰]. در این راستا، ۹۰ مخلوط از هر نمونه حاوی ترکیبات رنگ‌دهنده مصنوعی در نمونه خالص آب زرشک یا آلبالو (شامل ۱۰ تکرار برای هر سطح از مقادیر تقلبات استفاده شده بین ۱۰ تا ۳۰٪ وزنی به وزنی) و همچنین ۱۰ نمونه از هر آب‌میوه خالص به عنوان سطح کنترل استفاده شد؛ به این ترتیب، ۱۰۰ نمونه از هر آب‌میوه برای این منظور تجزیه و تحلیل شدند.

## ۲.۵.۵. تعیین کمی مقادیر تقلبات بر مبنای

### مدل‌های PLSR

به منظور تعیین مقادیر کمی تقلبات (Y) در یک نمونه آب‌میوه خالص با استفاده از داده‌های طیفی به دست آمده از روش رگرسیون حداقل مربعات جزئی<sup>۵</sup> استفاده می‌شود. این روش یک مدل درونیابی دوخطی<sup>۶</sup> برای پیش‌بینی مقادیر کمی است. در این روش داده‌ها به دو مقدار درجه‌بندی و آزمون مدل تقسیم می‌شوند. برای ساخت مدل‌های پیش‌بینی کمی، ۷۰٪ از مجموعه داده‌ها برای ساختن مدل‌ها یا مجموعه درجه‌بندی<sup>۷</sup> و باقی‌مانده مجموعه داده‌ها که شامل ۳۰٪ از کل داده‌ها بود برای ارزیابی مدل‌های بهینه شده (آزمون مدل)<sup>۸</sup> استفاده گردید. مقادیر ضریب تبیین<sup>۹</sup> در سه حالت درجه‌بندی  $R^2_c$ ، اعتبارسنجی متقابل  $R^2_{cv}$  و آزمون  $R^2_t$  و همچنین براساس مقادیر خطای میانگین ریشه مربعات<sup>۱۰</sup> در سه حالت درجه‌بندی  $(RMSE_c)$ <sup>۱۱</sup>، اعتبارسنجی متقابل<sup>۱۲</sup>  $(RMSE_{cv})$ <sup>۱۳</sup> و آزمون  $(RMSE_T)$ <sup>۱۴</sup> تعیین شد [۲۱].

ضریب تبیین ( $R^2$ )، ضریب همبستگی و جذر میانگین مربعات خطای استاندارد (RMSE) تعیین شد [۲۰، ۲۱].

## ۲.۵.۴. تعیین متغیرهای مهم در مدل‌سازی بر مبنای تجزیه و تحلیل VIP

در روش‌های طیف‌سنجی استفاده از روش پیش‌پردازش VIP، به منظور انتخاب پیک‌هایی است که دارای بیشترین قابلیت شناسایی کمی در مدل‌های رگرسیونی هستند. VIP، معیار آماری است که در تحلیل‌های چندمتغیره، به ویژه در مدل‌های رگرسیون حداقل مربعات جزئی (PLS)، برای ارزیابی اهمیت متغیرهای مستقل در پیش‌بینی متغیر وابسته استفاده می‌شود. این معیار به تشخیص متغیرهایی که بیشترین تأثیر را بر روی پیش‌بینی‌ها دارند، کمک می‌کند تا تصمیمات بهتری در انتخاب متغیرها برای مدل‌سازی اتخاذ شود. مقادیر بالاتر نشان‌دهنده اهمیت بیشتر آن متغیر در مدل است. عمدتاً برای این منظور محدوده‌هایی از طیف با مقادیر  $VIP > 1$  انتخاب می‌شود. متغیرهای پنهان<sup>۳</sup> (LVs)، مفاهیم یا سازه‌های غیرقابل مشاهده‌ای هستند که از طریق متغیرهای آشکار اندازه‌گیری می‌شوند. VIP به ارزیابی اهمیت هر یک از این متغیرهای پنهان در پیش‌بینی متغیر وابسته کمک می‌کند. مقادیر VIP برای هر متغیر متناسب با مقادیر وزنی تجمیع شده آن‌ها از تمامی متغیرهای پنهان<sup>۴</sup> (LVs) انتخاب شده است. برای تعیین متغیرهای مهم در مدل‌سازی از مقادیر  $VIP > 1$  استفاده شد. خروجی مقادیر برای ساخت

1. Coefficient of calibration

2. Root mean square error

3. Latent variables

4. Latent variables

5. Partial least squares regression

6. Bilinear

7. Calibration set

8. Test set

9. Coefficient of calibration

10. Root mean square error

11. Root mean square error of calibration

12. Root mean square of cross-validation

13. Root mean square of cross-validation

14. Root mean square of test



جدول (۱) شرایط بهینه دستگاه<sup>+</sup> IMS-CDI برای تجزیه نمونه‌های مختلف

Table 1. Optimal injection conditions for the IMS-CDI device for each of the juices and synthetic colorant

Experimental conditions	Cherry Juice	Barberry juice	Synthetic Colorants
Injection port temperature (°C)	260	260	200
Drift tube temperature (°C)	200	180	180
Drift gas flow (ml min <sup>-1</sup> )	900	900	900
Carrier gas flow (ml min <sup>-1</sup> )	200	200	200
Shutter pulse width (μs)	60	60	60

### ۳. نتایج و بحث

#### ۳.۱. بهینه‌سازی شرایط دستگاهی

به‌منظور رسیدن به حداکثر میزان حساسیت و گزینش‌پذیری طیفی، متغیرهای عملیاتی مختلف شامل دماهای لوله رانش و محفظه تزریق، سرعت جریان گازهای حامل و رانش؛ همچنین پالس دروازه یونی در مد مثبت دستگاه<sup>+</sup> (IMS-CDI) بررسی شدند و شرایط بهینه برای آب‌زرشک و رنگ‌های مصنوعی در جدول (۱) ذکر شده است. از مهم‌ترین متغیرهایی که می‌تواند بر شدت پیک‌های طیف دستگاه IMS تأثیر بگذارد، سرعت جریان گاز حامل و رانش است. عمده جریان گاز از انتهای لوله رانش و پشت صفحه جمع‌کننده، وارد لوله رانش می‌شود که گاز رانش گفته می‌شود. گاز حامل نیز جریان گاز ورودی به ناحیه یونیزاسیون است که این گاز بخارات نمونه را به سمت ناحیه یونیزاسیون هدایت نموده تا به گونه‌های یونی تشکیل‌دهنده تبدیل شوند. همیشه سرعت گاز رانش باید بزرگ‌تر از گاز حامل باشد تا مانع از ورود مولکول‌های نمونه به ناحیه رانش و واکنش‌های یون-مولکول و در نتیجه پهن شدن پیک‌ها شود [۲۴]. در بالاترین سرعت جریان گاز حامل (۲۰۰ ml/min)، مقدار گاز بیشتر به یون‌ها کمک می‌کند تا به دروازه یونی برسند؛ همچنین زمانی که فشار بیشتری پشت یون‌ها باشد، مدت‌زمان رانش کمتری مورد انتظار است و شدت

پیک‌های اصلی در آب‌زرشک با افزایش سرعت جریان، گاز حامل افزایش یافت. در نهایت بهترین سرعت گاز حامل، باتوجه‌به بیشترین شدت پیک ایجادشده و سطح زیر نمودارها در هر دو نمونه آب‌زرشک و آلبالو در ۲۰۰ ml/min انتخاب شد.

گاز رانش در داخل ناحیه رانش و در خلاف جهت حرکت یون‌ها جریان دارد تا گونه‌های خنثی را خارج از ناحیه رانش نگه دارد [۲۳]. با افزایش سرعت جریان گاز رانش اصطکاک بین یون‌ها و گاز افزایش می‌یابد و از طرفی گاز رانش، آن‌ها را در طول ناحیه رانش به جلو می‌راند و یون‌ها سریع‌تر خود را به صفحه فارادی می‌رسانند. با توجه به شدت پیک‌های ایجادشده، بهترین پیک برای آب‌زرشک و آلبالو در سرعت جریان گاز رانش ۹۰۰ ml/min حاصل گردید که به‌عنوان سرعت جریان گاز رانش بهینه برای آن ثبت شد. در سرعت جریان بالاتر گاز رانش، ترکیبات حاصل از یونیزاسیون آب‌میوه، به‌آرامی از لوله رانش دستگاه IMS عبور می‌کنند و به‌عبارتی پیک‌ها تا حدودی به زمان‌های رانش بیشتر جابه‌جا می‌شوند [۲۰].

دمای لوله رانش در IMS بر تعداد پیک‌ها، زمان ظاهرشدن و همچنین بر شدت آن‌ها تأثیرگذار است. افزایش دما، کاهش چگالی مولکول‌های موجود در لوله رانش و در نتیجه افزایش تحرک را به دنبال دارد که می‌توان آن را دلیل جابه‌جاشدن پیک‌ها دانست. افزایش تحرک موجب می‌شود که یون‌ها سریع‌تر به آشکارساز رسیده و پیک در زمان رانش

افزایش دمای ناحیه تزریق از ۲۰۰ به ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد منجر به افزایش شدت پیک‌ها در هر دو آب‌میوه شد. با توجه به این که گرمایش در محفظه تزریق انجام می‌شود، دمای محفظه تزریق نقش مهمی در تبدیل نمونه به گاز دارد. افزایش دمای محفظه تزریق موجب افزایش شدت پیک‌ها شد. افزایش شدت پیک را می‌توان با افزایش سرعت و میزان تبخیر و همچنین سرعت ورود نمونه به ناحیه رانش مرتبط دانست. ورود یک‌مرتبه‌ای نمونه می‌تواند حساسیت اندازه‌گیری را بهبود بخشد [۲۵]. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش دمای محفظه تزریق زمان رانش پیک‌های آب‌آلبالو بیشتر و در مورد آب زرشک، شدت پیک‌های شاخص آن افزایش بیشتری نشان دادند. با افزایش دمای ناحیه تزریق، تعداد متابولیت‌های گازی و فراری که از نمونه غذایی، نظیر آب‌میوه به منبع یونیزاسیون می‌رسند، به‌طور چشمگیری افزایش می‌یابد و به همان نسبت نیز سرعت تبخیر حلال‌های به‌کاررفته نیز در جریان آماده‌سازی نمونه افزایش می‌یابد [۲۰]؛ بدین ترتیب شدت علائم تحرک یونی ترکیبات نیز بهبود می‌یابد که ممکن است به دلیل افزایش در میزان تجزیه بافت شیمیایی آب‌میوه زرشک در دماهای بالای ایجاد شده باشد؛ از این‌رو، برای هر دو آب‌میوه، بیشترین دمای ممکن یعنی ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ناحیه تزریق دستگاه IMS انتخاب شد؛ همچنین این دمای بالا در ناحیه تزریق برای تبخیر سریع حلال نیز مطلوب است [۲۱، ۲۳].

سرعت بازوبسته شدن دروازه یونی در حد میکروثانیه است. دروازه یونی برای یک‌زمان یا بازه زمانی معین، حدود  $\mu\text{s}$  ۴۰-۱۰۰ باز و سپس بسته می‌شود. این باز شدن اجازه می‌دهد تا جریانی از یون‌ها به منطقه رانش وارد شوند. در این مطالعه با توجه به خواص یونی آب‌میوه، با افزایش پهنای پالس از ۴۰ به ۶۰  $\mu\text{s}$ ، پیک‌ها تیزتر و شدت آن‌ها نیز افزایش یافت؛ بنابراین، پالس ۶۰  $\mu\text{s}$  به‌عنوان پالس دروازه یونی بهینه برای هر دو آب‌میوه انتخاب شد. در مطالعه فتاحی و همکاران [۲۰]، متابولیت‌های حاصل از تجزیه زعفران، در پالس پایین‌تری از دروازه یونی ( $40 \mu\text{s}$ )

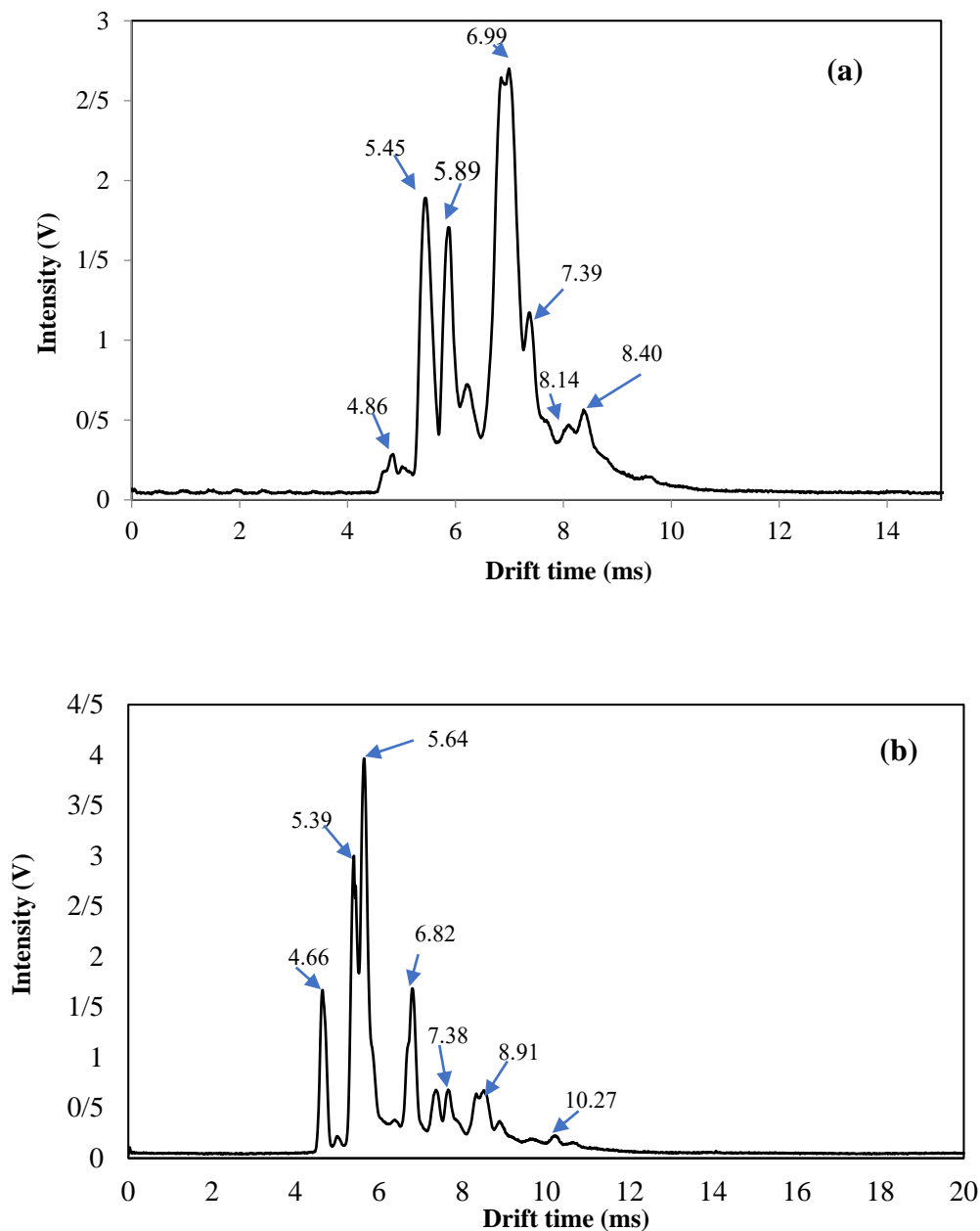
کوتاه‌تری ظاهر شود. علاوه‌براین، با کوتاه‌تر شدن زمان رسیدن یون‌ها به آشکارساز، درصد عبور افزایش می‌یابد که این عامل نیز می‌تواند دلیل افزایش شدت پیک باشد [۲۵]. همچنین، دمای پایین در لوله رانش دستگاه IMS اثرات ناشی از انتقال‌های قبلی<sup>۱</sup> را نیز تشدید می‌کند و خطر تراکم حلال در لوله رانش و مشکلات بعدی را نیز افزایش می‌دهد [۲۰، ۲۳]. با کوتاه‌تر شدن زمان رسیدن یون‌ها به آشکارساز، درصد عبور افزایش می‌یابد که این عامل نیز می‌تواند دلیل افزایش شدت پیک باشد. این شدت، در طیف آب‌زرشک به ترتیب در دمای  $180 < 200 < 160$  درجه سانتی‌گراد بود؛ بنابراین دمای بهینه لوله رانش ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب شد. شدت پیک‌ها در آب‌آلبالو نیز به ترتیب در دمای  $200 < 160 < 180$  درجه سانتی‌گراد بود؛ بنابراین دمای ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌عنوان دمای بهینه لوله رانش در مورد آب‌آلبالو لوله رانش انتخاب شد.

در مطالعه فتاحی و همکاران [۲۰]، مقادیر بهینه دمای لوله رانش، سرعت جریان گاز رانش و سرعت جریان گاز حامل برای زعفران خالص، سافرانال، کروسین و پیکروکروسین به ترتیب ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد، ۹۰۰ ml/min و ۱۵۰ ml/min گزارش شد. این محققین گزارش کردند، دمای لوله رانش تعیین‌کننده زمان ماندن یون‌ها در لوله رانش است؛ بنابراین شدت پیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این مطالعه نیز کاهش دمای لوله رانش سبب حرکت کند یون‌ها و افزایش زمان رانش گردید. زمانی که دمای لوله رانش پایین بود (حدود ۱۴۰ درجه سانتی‌گراد)، متابولیت‌های فرار نمونه‌ها، با سرعت بسیار کم از لوله رانش عبور کرده و تعداد زیادی از آن‌ها پیش از رسیدن به آشکارساز از دست می‌روند؛ بنابراین شدت پیک‌های حاصله نیز کم خواهد بود. دمای لوله رانش بالاتر به دهیدراتاسیون یون‌ها کمک می‌کند و قدرت تفکیک بالاتری را ایجاد می‌کند. از آن جایی که در دماهای پایین لوله رانش اثر حافظه‌ایی ممکن است چالش‌برانگیز شود، دماهای بالا می‌تواند این مشکل را مرتفع سازد [۲۶].

1. Carryover effect

رنگ‌های آزو [۲۷] و آفلاتوکسین [۲۸] باتوجه‌به ویژگی‌های یونی هر یک از ترکیبات یادشده به ترتیب ۱۲۰ و ۱۰۰  $\mu\text{s}$  گزارش شدند. لازم به ذکر است برای تمامی رنگ‌های مصنوعی نیز به همین ترتیب عمل شد و پارامترهای بهینه برای هر یک از آن‌های انتخاب شد.

پیک‌های تیزتری ایجاد کردند. این محققین حضور تعداد زیادی از متابولیت‌های خنثی موجود در گاز حامل را علت این نتایج دانستند که وارد لوله رانش شده و با یون‌های تولیدشده واکنش می‌دهند و در نتیجه شکل و شدت پیک‌ها را تغییر می‌دهند. پالس بهینه دروازه یونی در تشخیص



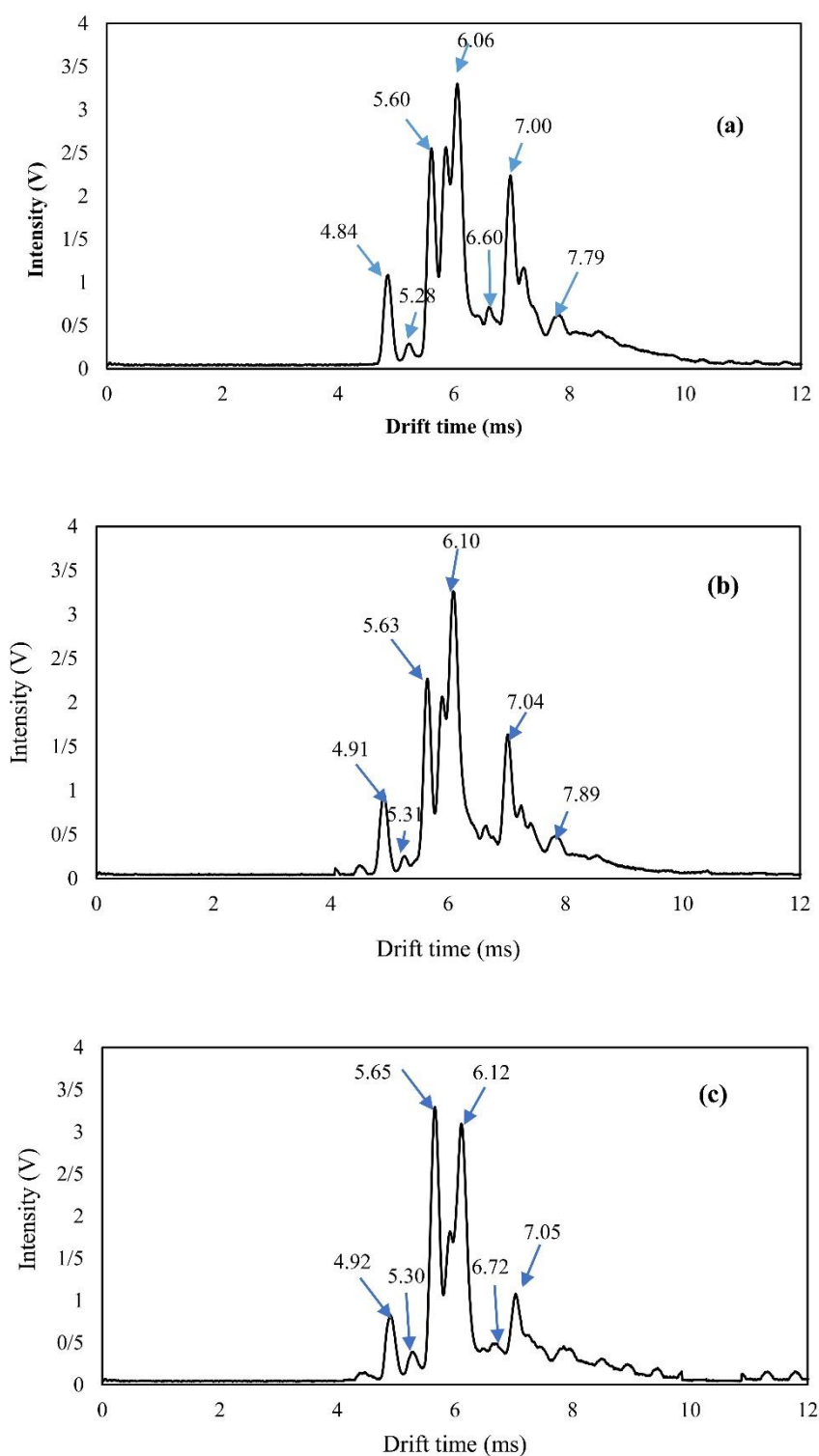
شکل (۱) طیف IMS-CID<sup>+</sup> نمونه‌های آب آلبالو (a) و آب زرشک (b) خالص تحت شرایط بهینه دستگاهی  
**Fig 1.** IMS-CID<sup>+</sup> spectra of pure cherry juice (a) and barberry juice (b) under the optimized conditions

روغن کنجد با سایر روغن‌های خوراکی مقایسه شد. نتایج نشان داد هر یک از روغن‌ها طیف IMS خاص خود را داشتند و پیک‌های اختصاصی روغن کنجد در زمان‌های رانش ۱۵/۸ و ۲۴ میلی‌ثانیه ظاهر شدند که کاملاً متفاوت با روغن سویا، بادام‌زمینی، کلزا و آفتاب‌گردان بود.

طیف IMS مربوط به سه‌رنگ مصنوعی آلورا قرمز، کارموزین و پونسینو 4R خالص در شرایط بهینه دستگاه در شکل (۲) مشاهده می‌شود. در تمامی طیف‌های حاصله، سه پیک ابتدایی مربوط به یون‌های واکنش‌گر بود. در طیف آلورا قرمز پیک‌های اصلی در زمان‌های رانش ۶/۰۶، ۶/۶۰، ۷/۰۰ و ۷/۷۹ میلی‌ثانیه مشاهده شدند. پیک‌های شاخص کارموزین در زمان‌های رانش ۶/۱۰، ۷/۰۴ و ۷/۸۹ میلی‌ثانیه و پیک‌های شاخص پونسینو 4R در زمان‌های ۶/۱۲، ۶/۷۲ و ۷/۰۵ میلی‌ثانیه ظاهر گردید. در مطالعه فتاحی و همکاران [۲۰] طیف IMS زعفران بررسی شد؛ اما در این مطالعه به دلیل این‌که طیف تمامی متابولیت‌های موجود در زعفران، شامل سافرانال، کروسین و پیکروکروسین نیز هم‌زمان بررسی شدند، تخصیص هر یک از پیک‌های ظاهر شده در طیف IMS عصاره زعفران به متابولیت‌های خاص امکان‌پذیر بود و پیک‌های ظاهر شده در زمان‌های رانش ۱۱/۸۹، ۱۲/۷۵، ۱۳/۱۵، ۱۳/۵۳ و ۱۴ میلی‌ثانیه به‌عنوان نشانگرها در طیف IMS زعفران تعیین شدند؛ همچنین در طیف -IMS-CDI رنگ پونسینو 4R پیک‌های اصلی در ۶/۱۵ و ۶/۶۱، ۶/۸۱، ۸/۹۳، ۹/۸۴، ۱۳/۱۷، ۱۳/۹۲، ۱۵/۷۵ و ۱۶/۵۴ میلی‌ولت ظاهر شدند. در مطالعه سبحانی‌نیا و همکاران [۲۲]، پیک‌های اصلی مربوط به چای سیاه، به‌ترتیب در ۶/۰۶، ۶/۴۴، ۶/۹۱، ۷/۴۶، ۸/۷۳، ۸/۹۶ و ۹/۹۶ میلی‌ثانیه و برای کارموزین در ۶/۰۸، ۶/۴۳، ۶/۹۴ و ۸/۶۹ میلی‌ثانیه و ظاهر گردید که با پیک‌های مشاهده‌شده در این مطالعه برای کارموزین متفاوت است.

### ۳.۲. طیف IMS نمونه‌های خالص آب زرشک و رنگ‌های مصنوعی

در شکل (۱)، طیف IMS مربوط به آب‌زرشک (a) و آب‌آلبالو (b) خالص در شرایط بهینه دستگاهی مشاهده می‌شود. در طیف مربوط به آب‌زرشک، ۳ پیک مشخص و تفکیک‌شده در زمان رانش ۴/۶۶، ۵/۳۹ و ۵/۶۴ میلی‌ثانیه و برای آلبالو در زمان رانش ۴/۸۶، ۵/۴۵ و ۵/۸۹ میلی‌ثانیه مشاهده شد که به ترتیب مربوط به یون‌های واکنش‌گر  $\text{NH}_4^+$ ،  $\text{NO}^+$  و  $\text{H}_3\text{O}^+$  هستند. در قطبیت مثبت، پروتون‌خواهی ترکیبات نقش مهمی در یونیزاسیون بازی می‌کند [۲۹]. موقعیت و شدت نسبی این سه پیک وابسته به میدان الکتریکی به‌کاررفته، دما و کیفیت گاز رانش (هوا یا ازت) است [۲۶]. هرچه خلوص گاز بیشتر باشد و لوله رانش تمیزتر باشد شدت پیک هیدرونیوم بیشتر می‌شود [۲۰]. برای اساس، اگر یون‌های واکنش‌گر اصلی مولکول‌های آب و یون‌های آب‌پوشی شده آن با پروتون‌خواهی نسبتاً پایین باشند، سپس ترکیبات با پروتون‌خواهی بیشتر از یون واکنش‌گر  $\text{H}_3\text{O}^+$  با این یون‌ها وارد فرایند انتقال بار می‌شوند که نتیجه آن، تشکیل یون‌های محصول با بار مثبت خواهد بود. پیک‌های مشخص در قطبیت مثبت، نشان‌دهنده پروتون‌خواهی بالای این ترکیبات هستند [۲۰]. سایر پیک‌های شاخص آب‌زرشک در زمان‌های رانش ۶/۸۲، ۷/۳۸، ۷/۶۸، ۸/۹۱ و ۱۰/۲۷ میلی‌ثانیه ظاهر شدند (شکل ۱-a). در مورد آلبالو نیز سایر پیک‌های شاخص زمان‌های رانش ۶/۹۹، ۷/۳۹، ۸/۱۴ و ۸/۴۰ میلی‌ثانیه ظاهر شدند (شکل ۱-b). مطالعه‌ای در حوزه تعیین طیف IMS در آب‌میوه‌ها انجام نشده است. با توجه به این‌که انواع مختلفی از ترکیبات در آب‌میوه حضور دارند، اختصاص دادن پیک‌ها به متابولیت‌های خاص در این مطالعه امکان‌پذیر نبود. در مطالعه ژانگ و همکاران [۳۰] نیز طیف IMS نمونه‌های

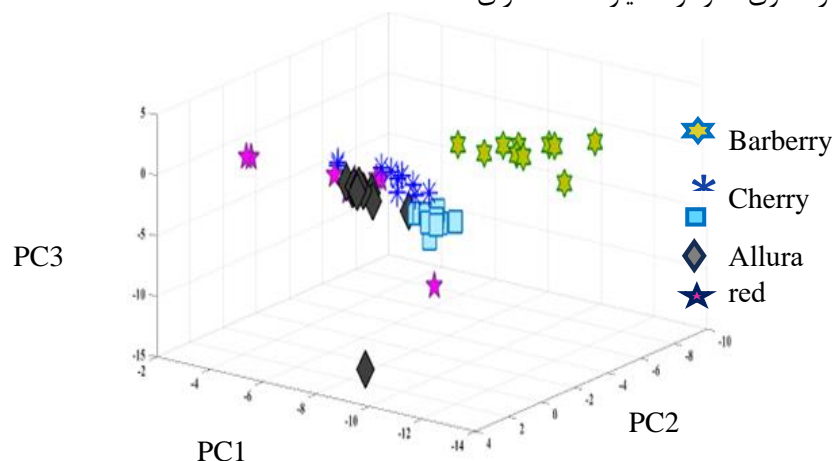


شکل (۲) طیف IMS-CDI+ نمونه‌های آلورا قرمز (a)، کارموزین (b) و پونسیو 4R (c) تحت شرایط بهینه دستگاهی  
**Fig 2.** IMS-CDI+ spectra of pure Allura red (a), Carmoisine (b), and Ponceau 4R (c) under the optimized conditions

هم‌پوشانی هستند که به‌عنوان مثال می‌توان به هم‌پوشانی آب آلبالو با آلورا قرمز، کارموزین و پونسیو 4R اشاره کرد، درحالی‌که این هم‌پوشانی در آب‌زرشک با رنگ‌های مصنوعی مشهود نبود. این مقدار از مجموع مؤلفه‌های اصلی (PCs) به لحاظ آماری برای بیان تفاوت بین نمونه‌ها معتبر است [۳۱]. در تشخیص تقلب روغن‌زیتون فوق‌بکر از سایر روغن‌های گیاهی بر اساس داده‌های IMS نیز PCA توانست به‌خوبی این روغن را از سایر روغن‌های خوراکی نظیر آفتاب‌گردان، ذرت و سایر روغن‌های دانه‌ای تفکیک نماید. مقادیر PC1 و PC2 در این مطالعه به ترتیب ۶۱/۴۸٪ و ۱۷/۱۴٪ بود. سایر روغن‌ها در نمودار امتیاز از یکدیگر تفکیک نشده و با هم هم‌پوشانی بالایی داشتند [۳۲]. سبحانی‌نیا و همکاران [۲۲] با روش IMS و تجزیه‌وتحلیل داده‌های چندمتغیره PCA توانستند به ۵۱٪ از واریانس داده‌ها با PC1 و PC2 برای تشخیص تقلب چای سیاه با رنگ‌های مصنوعی کارمین، کارموزین، ایندیگو کارمین، برلیانت به‌لو، سانستیلو و تارترازین دست یابند که کمتر از مقدار گزارش‌شده در پژوهش حاضر بود؛ همچنین در این مطالعه رنگ‌های کارموزین و تیندیگو کارمین با یکدیگر هم‌پوشانی داشتند؛ اما چای سیاه به‌خوبی از رنگ‌های مصنوعی تفکیک شد.

### ۳.۳. تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA)

تشخیص تفاوت‌های موجود در الگوهای طیفی IMS در بین نمونه اصلی و نمونه تقلبی با رنگ مصنوعی امری دشوار است. به همین علت می‌توان از روش‌های تجزیه‌وتحلیل چندمتغیره داده‌ها برای تمایز تفاوت طیفی پنهان بین نمونه‌ها در جهت تشخیص و مشاهده مقدار تقلبات افزوده‌شده ناشی از رنگ‌های مصنوعی در آب‌میوه استفاده کرد. با در نظر گرفتن الگوهای طیفی به‌دست‌آمده در شکل‌های (۱ و ۲)، به‌منظور دستیابی به بینش عمیق از ارتباط طیفی بین نمونه‌ها، ابزار PCA روی داده‌های پیش‌تیمار شده IMS اعمال گردید تا از این طریق امکان تفکیک نمونه‌های آب‌میوه خالص و رنگ‌های مصنوعی و همچنین رنگ‌های مصنوعی از یکدیگر بررسی شود. نتایج تجزیه‌وتحلیل PCA در شکل (۳) ارائه شده است. در نمودار امتیاز PCA، داده‌های طیفی مربوط به آب‌زرشک، واضح و به‌خوبی از داده‌های مربوط به آب آلبالو و رنگ‌های مصنوعی تفکیک شده است. می‌توان گفت که این تفکیک معتبر و منطقی بود، زیرا ۹۱٪/۱۵٪ از کل واریانس در داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از سه مؤلفه اصلی (PC1: ۷۷٪/۶۷، PC2: ۹٪/۱۷، PC3: ۴٪/۳۱) بیان گردید. برخی از مواد افزوده‌شده در الگوی نمودار امتیاز PCA دارای



شکل (۳) نمودار امتیاز PCA (PC1, PC2, PC3) از طیف‌های پیش پردازش شده IMS-CID حاصل از آب زرشک، آب آلبالو، آلورا رد، کارموزین و پونسیو 4R

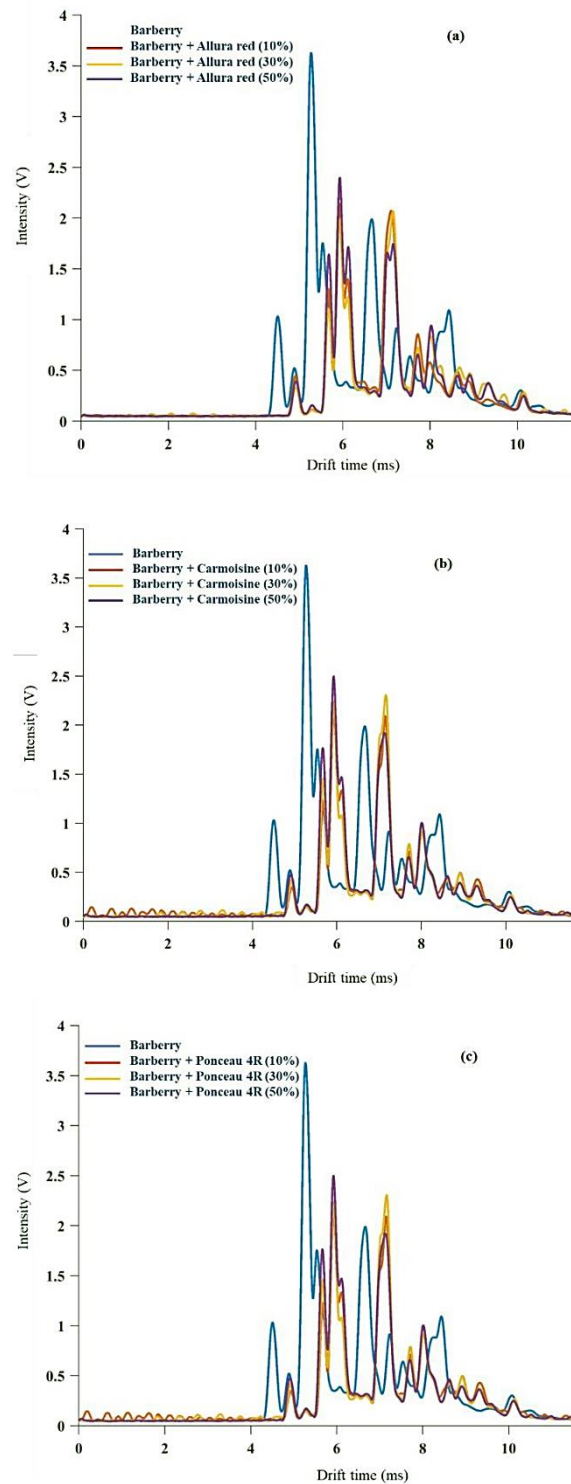
Fig 3. PCA score plot (PC1 vs. PC2 vs. PC3) of preprocessed IMS-CID spectra of pure barberry, cherry, Allura red, Carmoisine, and Ponceau 4R

### ۴.۳. ویژگی‌های طیفی آب‌میوه‌های حاوی رنگ‌های مصنوعی

تقلبات صورت‌گرفته در آبرزشک برای هر نوع از ترکیب رنگی مصنوعی افزوده‌شده به آن با استفاده از طیف IMS حاصل از نمونه‌های اصلی و تقلب‌شده بررسی گردید. شکل (۳) طیف‌های آبرزشک خالص و تقلبی با سه رنگ آلورا قرمز (a)، کارموزین (b) و پونسیو 4R (c) را نشان می‌دهد. با مقایسه طیف‌های حاصله، می‌توان متوجه شد که سه نوع رنگ مصنوعی خوراکی مخلوط‌شده با آبرزشک قابل تشخیص هستند. با در نظر گرفتن پیک‌های اصلی و در نظر گرفتن پیک‌های اضافه و نوفه‌ها، تغییر در شدت پیک‌ها و زمان رانش آن‌ها و همچنین بیشترین سطح زیر پیک، در آبرزشک پس از انجام تقلب بررسی شد. لازم به ذکر است، پارامترهای عملیاتی دستگاه مجدداً برای تزریق آب‌میوه‌های تقلبی بهینه‌سازی شد. با ثابت در نظر گرفتن سرعت جریان گاز رانش (۹۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه)، سرعت جریان گاز حامل (۲۰۰ میلی‌لیتر بر دقیقه) و پالس دروازه یونی (۶۰ میکرو ثانیه) که برای آب‌میوه‌ها و رنگ‌ها مشترک بود، دو پارامتر دمای ناحیه تزریق (۲۰۰، ۲۳۰ و ۲۶۰ درجه سانتی‌گراد) و دمای لوله رانش (۱۶۰، ۱۸۰ و ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد) مجدداً جهت حصول حداکثر شدت پیک‌های اصلی در سطح ۳۰٪ رنگ، بهینه‌سازی شدند تا از صحت نتایج اطمینان حاصل شود. نتایج این مرحله نشان داد برای آب‌آلبالو تقلبی‌شده با رنگ‌های مختلف، بهترین دمای تزریق و دمای لوله رانش به ترتیب ۲۶۰ °C و ۲۰۰ °C و برای آبرزشک نیز ۲۶۰ °C و ۱۸۰ °C در نظر گرفته شد که مشابه با شرایط آب‌میوه‌های خالص بودند.

همان‌طور که مشخص است پیک اصلی مربوط به آبرزشک در زمان رانش ۶/۸۲ در تقلب پس از افزودن درصد‌های مختلف آلورا قرمز حذف شده است؛ همچنین شدت دو پیک ظاهر شده در محدوده رانش ۷ میلی‌ثانیه نیز با افزودن آلورا قرمز افزایش داشته است، به‌ویژه پیک ظاهر شده در ۷ میلی‌ثانیه که در طیف آلورا قرمز نیز مشاهده شد؛ همچنین در طیف آب زرشک حاوی ۵۰٪ آلورا قرمز زمان رانش برخی از پیک‌های رنگ به مقدار بسیار جزئی بیشتر از طیف حاوی ۳۰٪ و ۱۰٪ آلورا قرمز است شکل (۳-a).

در شکل (۳-b) نیز شدت پیک در محدوده ۶ و ۷ میلی‌ثانیه با افزایش غلظت کارموزین افزایش یافت که پیک شاخص کارموزین است. پیک اصلی آب زرشک نیز در محدوده ۶/۸۲ میلی‌ثانیه در نمونه‌های تقلبی مشاهده نشد و پیک اصلی دیگر آب زرشک در محدوده ۸/۹ میلی‌ثانیه به زمان‌های رانش کمتر منتقل شد و در عین حال، در نمونه‌های تقلبی مشاهده نشد. پیک اصلی مربوط به کارموزین در محدوده ۷/۸۹ میلی‌ثانیه در طیف آب زرشک مشاهده نشد حال آن‌که در طیف نمونه‌های تقلبی ظاهر گردید. در طیف‌های مربوط به آب زرشک حاوی درصد‌های مختلف رنگ پونسیو 4R شکل (۳-c) پیک‌های اصلی مربوط به این آب‌میوه در زمان‌های رانش ۶/۸۲ و ۸/۹۱ میلی‌ثانیه در آب‌میوه‌های تقلبی مشاهده نشد؛ اما پیک ظاهر شده در زمان رانش ۷/۶۸ میلی‌ثانیه با افزایش درصد تقلب، افزایش یافت. پیک اصلی پونسیو 4R در محدوده ۶/۱۲ میلی‌ثانیه در آب‌میوه‌های تقلبی به زمان رانش کمتر منتقل شد و شدت و سطح زیر پیک آن با افزایش غلظت رنگ افزایش یافت. شدت پیک اصلی آب زرشک در محدوده ۷/۳۸ میلی‌ثانیه در نمونه‌های تقلبی نیز نسبت به آب زرشک افزایش یافت. در محدوده زمان رانش ۸ میلی‌ثانیه نیز شدت پیک افزایش یافت.



شکل (۴) طیف IMS-CID<sup>-</sup> نمونه‌های آب زرشک حاوی رنگ‌های مصنوعی در نسبت‌های وزنی ۱۰ تا ۵۰٪ وزنی/وزنی، آلورا قرمز (a)، کارموزین (b) و پونسئو 4R (c).

Fig 4. IMS-CID<sup>-</sup> spectra of barberry juice adulterated with synthetic colorants at 10–50% w/w. Allura red (a), Carmoisine (b), and Ponceau 4R (c)



مشاهده نشد؛ بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تقلب در آب‌میوه‌ها با رنگ‌های مصنوعی منجر به تغییر در متابولیت‌های یونی تولیدشده در IMS می‌شود. به‌طور کلی تشخیص دقیق تفاوت‌های موجود در الگوهای طیفی بین آب‌میوه‌های خالص و تقلب‌شده با رنگ‌های مصنوعی با چشم غیرمسلح دشوار است. در نتیجه تحلیل‌های چندمتغیره برای استخراج تفاوت‌های طیفی پنهان نمونه‌ها، به‌منظور حدس مقدار تقلبات افزوده‌شده ناشی از رنگ‌های مصنوعی در آب‌میوه‌ها ضروری است. در مطالعه دیگری اثر افزودن روغن‌های ذرت و آفتاب‌گردان بر طیف IMS نمونه روغن‌زیتون فوق بکر بررسی شد. نتایج نشان داد هر یک از ترکیبات افزوده‌شده اثر مشخصی بر طیف داشتند؛ به‌عنوان مثال، پس از افزودن ۳۰٪ روغن آفتاب‌گردان به روغن‌زیتون فوق بکر، شدت پیک اصلی ظاهرشده در زمان رانش ۲۰ میلی‌ثانیه کاهش و پیک جدیدی در زمان رانش ۲۶/۱ میلی‌ثانیه ظاهر شد؛ این در حالی بود که با افزایش درصد تقلب روغن ذرت، تغییرات محسوسی در طیف IMS روغن‌زیتون فوق بکر ایجاد نشد. این محققین در پایان گزارش کردند تغییرات ظاهری شدید در زمان رانش و شدت پیک‌ها دیده نشد؛ در نتیجه بر لزوم انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری چندمتغیره تأکید شد [۳۲].

### ۳.۵. تجزیه و تحلیل چندمتغیره VIP بر روی داده‌های طیفی

ویژگی‌های طیفی IMS آب‌میوه‌های زرشک و آلبالو پس از تقلب با نسبت‌های مختلف از رنگ‌های مصنوعی آلورا قرمز، کارموزین، پونسینو در ناحیه طیفی ۱۰-۵ میلی‌ثانیه در مرحله اول مطالعه شد و برای ساخت مدل PLSR به کار گرفته شد. به این ترتیب، زمان‌های رانش با مقادیر VIP بزرگ‌تر از یک ( $VIP > 1$ ) به‌عنوان پیک‌های مهم و اصلی انتخاب شدند؛ به عبارت دیگر، متغیرهای مهم یا در واقع پیک‌های اصلی با مقادیر  $VIP > 1$  را می‌توان در مدل تأثیرگذار در نظر گرفت، در حالی که متغیرهای کمتر از این مقدار معمولاً حذف می‌شوند. این پیک‌های اصلی با بهبود قابلیت پیش‌بینی، امکان تعیین مقدار رنگ‌های مصنوعی افزوده‌شده به آب‌میوه‌های خالص زرشک و آلبالو را

شکل (۴) ویژگی‌های طیفی آب‌آلبالوی خالص و تقلب‌شده با سه رنگ آلورا رد، کارموزین و پونسینو 4R را نشان می‌دهد. پس از افزودن آلورا قرمز به آب‌آلبالو، شدت پیک اصلی این آب‌میوه در زمان رانش ۶/۹۹ میلی‌ثانیه به‌میزان چشمگیری افزایش یافت که به دلیل تلاقی با پیک اصلی آلورا قرمز در زمان رانش ۷ میلی‌ثانیه است؛ همچنین پیک جدید دیگری در زمان رانش ۷/۲۰ میلی‌ثانیه در تمامی نمونه‌های تقلب‌شده آب‌آلبالو مشاهده شد. پیک اصلی دیگر آب‌آلبالو در محدوده ۷/۳۹ میلی‌ثانیه با افزودن آلورا قرمز تضعیف گردید، اما شدت پیک اصلی در زمان رانش ۸/۴۰ میلی‌ثانیه با افزایش غلظت رنگ‌ها افزایش یافت شکل (۴-a).

شکل (۴-b) نیز تغییرات طیفی آب‌آلبالو پس از افزودن سطوح مختلف کارموزین را نشان می‌دهد. در مورد کارموزین نیز شدت پیک ظاهرشده در زمان رانش ۷/۰۲ به دلیل تلاقی پیک‌های اصلی آب‌آلبالو و کارموزین افزایش و پیک جدید با شدت بالایی نیز در آب‌میوه‌های تقلبی در زمان رانش ۷/۱۹ میلی‌ثانیه ظاهر شد. پیک ظاهرشده در زمان‌های رانش ۷/۳۹ و ۸/۱۴ میلی‌ثانیه مربوط به آب‌آلبالو در نمونه‌های تقلبی تضعیف گردید، اما شدت پیک اصلی آب‌آلبالو در محدوده ۸/۴۰ ثانیه با ازدیاد نسبت تقلب افزایش یافت. شدت پیک اصلی مربوط به کارموزین در محدوده زمان رانش ۷/۷۹ میلی‌ثانیه نیز در آب‌میوه‌های تقلبی نسبت به آب‌آلبالوی خالص افزایش یافت. در افزودن پونسینو 4R به آب‌آلبالوی خالص نیز تغییرات طیفی مشاهده شد که در شکل (۴-c) مشهود است. شدت پیک ظاهرشده در زمان رانش ۷/۰۲ به دلیل تلاقی پیک‌های اصلی آب‌آلبالو و پونسینو افزایش و پیک جدید نیز با شدت بالایی در آب‌میوه‌های تقلبی در زمان رانش ۷/۱۹ میلی‌ثانیه ظاهر شد که در طیف آب‌آلبالو مشاهده نمی‌شود؛ همچنین شدت پیک‌ها در زمان‌های رانش ۷/۳۹ و ۸/۴۰ میلی‌ثانیه با افزودن رنگ پونسینو افزایش اما شدت طیف در زمان رانش ۸/۱۴ میلی‌ثانیه کاهش یافت.

در مجموع، کاهش در شدت پیک اصلی آب‌زرشک و افزایش در شدت پیک اصلی آب‌آلبالو با مقایسه الگوی طیفی آب‌میوه‌های خالص و تقلب‌شده پیدا بود. با این وجود، برای هر مخلوط از نمونه‌های تقلبی تغییرات گوناگونی در الگوی طیفی آن‌ها ایجاد شد و روند یکسانی برای تقلبات مختلف

کمی آلورا قرمز در آب زرشک دارای بهترین نتایج با حداکثر مقدار  $R^2_C$  (۰/۹۴) و حداقل مقدار RMSEC (۴/۳۷) بود؛ بنابراین می‌توان گفت تعداد ۶ متغیر پنهان با مقادیر VIP  $> 1$  در نمونه‌های آب زرشک حاوی آلورا قرمز منجر به ایجاد تمایز طیفی حداکثر بین این نمونه‌ها می‌شود. پس از آن بیشترین مقادیر  $R^2_C$  به ترکیب آب زرشک- پونسو 4R، آب آلبالو-پونسو 4R و آب آلبالو-کارموزین تعلق دارد که به ترتیب ۰/۹۳۷، ۰/۹۱۳ و ۰/۹۰۳ بود و مقادیر RMSEC آنها نیز در جدول (۲) مشاهده شد. با این حال، تمامی مدل‌های PLSR توسعه‌یافته در این تحقیق، دارای مقادیر کافی و قابل‌قبولی از تعداد متغیرهای پنهان (LVs) در دامنه بین ۳-۶ بودند (جدول ۲).

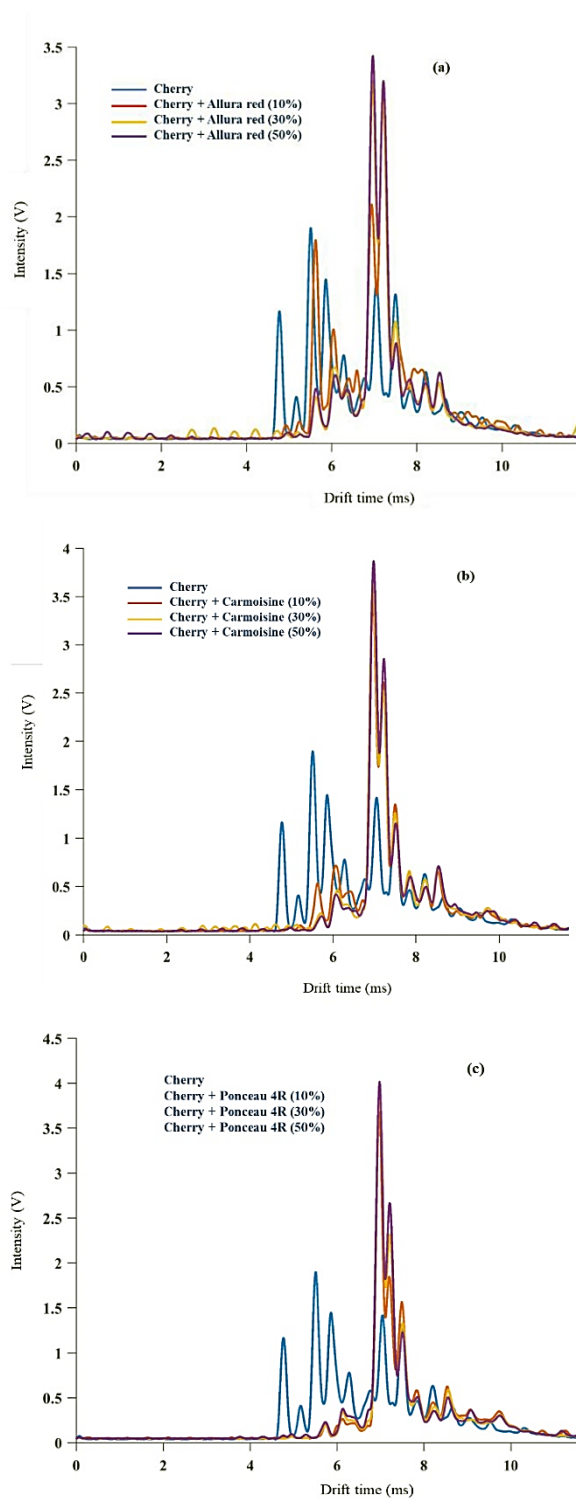
امکان‌پذیر می‌کند. لازم به ذکر است مقادیر VIP تمامی پیک‌های مربوط به طیف‌های آب زرشک تقلب‌شده با کارموزین و نیز آب آلبالو تقلب‌شده با آلورا قرمز کمتر از یک بود. کارایی پیش‌بینی مدل‌ها در شناسایی کمی مقادیر تقلبات رنگی افزوده شده به نمونه‌های آب زرشک و آب آلبالو براساس مقادیر ضریب تبیین در سه حالت درجه‌بندی  $R^2_C$ ، اعتبارسنجی متقابل  $R^2_{CV}$  و آزمون  $R^2_t$  و همچنین براساس مقادیر خطای میانگین ریشه مربعات در سه حالت درجه‌بندی (RMSEC)، اعتبارسنجی متقابل (RMSECV) و آزمون (RMSET) تعیین گردید. در این راستا، بهترین مدل PLSR مدلی است که دارای حداقل مقادیر RMSE و تعداد متغیرهای پنهان و همچنین حداکثر مقادیر  $R^2$  باشد. همان‌طور که مشخص است مدل‌های مربوط به پیش‌بینی

جدول (۲) مقادیر خطای میانگین ریشه مربعات (RMSE) و ضریب تبیین ( $R^2$ ) در پیش‌بینی سطوح افزوده‌شده از رنگ‌های مصنوعی در فازهای

درجه‌بندی، اعتبارسنجی متقابل و آزمون مدل بر اساس نتایج به‌دست آمده از مدل‌های VIP-PLSR بر مبنای داده‌های IMS

Table 2. Root-mean-squared errors (RMSE) and coefficient of determination ( $R^2$ ) in predicting the level of bio-adulterants during the calibration and cross-validation phases of PLSR models based on IMS-CDI spectrometry.

Type of adulteration	Latent variables	Calibration		Cross-validation		Test set	
		RMSE	$R^2$	RMSE	$R^2$	RMSE	$R^2$
Barberry-Allura red	6	4.37	0.948	10.44	0.704	11.21	0.793
Barberry-Ponceau 4R	4	4.79	0.937	12.44	0.580	11.05	0.609
Cherry- Carmoisine	3	5.59	0.903	12.65	0.565	13.19	0.631
Cherry- Ponceau 4R	3	5.63	0.913	12.58	0.570	12.27	0.548



شکل (۵) طیف IMS-CDI<sup>+</sup> نمونه‌های آب آلبالو حاوی رنگ‌های مصنوعی در نسبت‌های وزنی ۱۰ تا ۵۰ درصد وزنی/وزنی. آلوراقرمز (a)، کارموزین (b) و پونسیو 4R (c).  
**Fig. 5.** IMS-CDI spectra of cherry juice adulterated with synthetic colorants at 10–50% w/w. ratios: Allura red (a), Carmoisine (b), and Ponceau 4R (c).

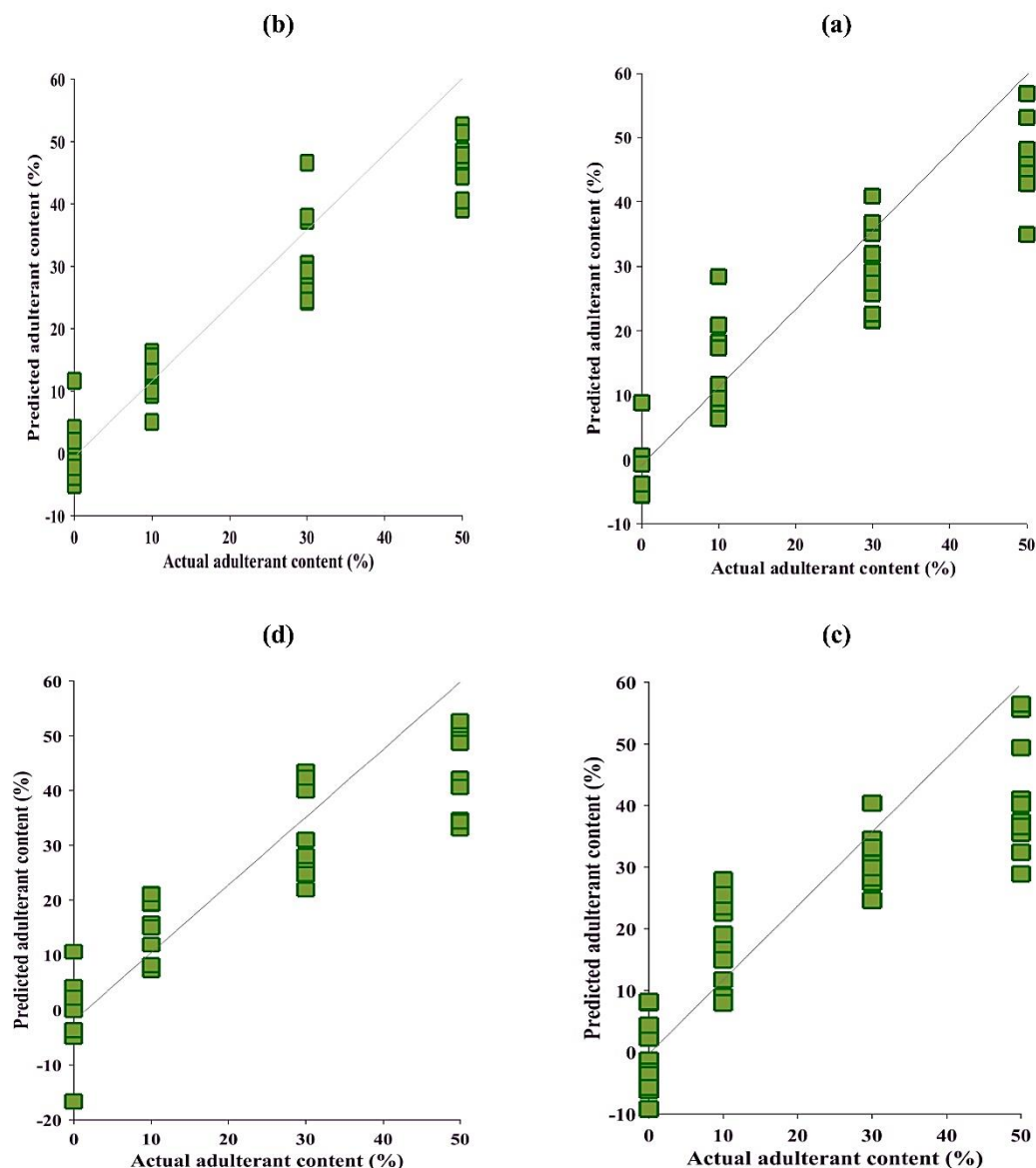
روی داده‌های IMS استفاده کردند. تعداد متغیرهای پنهان، مقادیر  $RMSEC$  و  $R^2$  به ترتیب بین ۳-۷، ۰/۹۳-۱/۲۰ و ۰/۹۳-۳/۶۴ مقادیر  $RMSECV$  و  $R^2_{cv}$  نیز بین ۰/۹۹۱/۹۹۳-۲/۵۷ و ۰/۹۴۶-۰/۸۹۳ گزارش شد. شوآی و همکاران [۳۳] از IMS به همراه مدل‌های شیمی‌سنجی برای تشخیص تقلبات روغن بزرک استفاده کردند. تجزیه و تحلیل چندمتغیره به روش تجزیه مؤلفه اصلی و RSVN نمونه‌های دستکاری‌شده با سایر روغن‌ها با مقادیر بالای ۰/۵٪ را با دقت ۹۳٪/۱ تشخیص داد. اعمال مدل شیمی‌سنجی PLSR روی داده‌های IMS همچنین امکان تشخیص مقدار شیرین‌کننده‌های مصنوعی مختلف افزوده شده به عسل را فراهم کرد. مقادیر  $R^2$  در این مطالعه بین ۰/۷۲-۰/۹۹ و میزان خطای پیش‌بینی برای تمامی شیرین‌کننده‌ها زیر ۰/۴٪ بود [۳۴]. اعمال مدل شیمی‌سنجی PLSR روی داده‌های IMS همچنین امکان تشخیص مقدار شیرین‌کننده‌های مصنوعی مختلف افزوده شده به عسل را فراهم کرد. مقادیر  $R^2$  در این مطالعه بین ۰/۷۲-۰/۹۹ و میزان خطای پیش‌بینی برای تمامی شیرین‌کننده‌ها زیر ۰/۴٪ بود. از دیگر کاربردهای IMS، اعتبارسنجی مواد غذایی است. در مطالعه شمشیری و همکاران [۳۵]، ۲۳۲ نمونه زعفران ایرانی که از پنج منطقه مختلف (خراسان، آذربایجان، گلستان، فارس و اصفهان) برداشت شده بودند، با کمک IMS و روش‌های شیمی‌سنجی آنالیز شدند. در PCA داده‌های جمع‌آوری‌شده از IMS، سه مؤلفه اصلی ۸۱٪ از واریانس داده‌ها را پوشش دادند. علاوه بر این، آنالیز تشخیصی - حداقل مربعات جزئی<sup>۱</sup> (PLS-DA) نشان‌دهنده حساسیت و اختصاصی بودن برای مجموعه آزمایش خارجی از ۰/۷۲/۳ تا ۰/۹۲/۵٪ و برای مجموعه آموزشی از ۷۵/۵ تا ۰/۹۴/۳٪ بود. دقت مدل ارائه‌شده جهت پیش‌بینی تمامی رده‌های نمونه‌ها مساوی یا بیشتر از ۰/۸۵٪ بود.

شکل (۵) نمودارهای برازش مقادیر تقلبات استفاده‌شده در برابر مقادیر پیش‌بینی‌شده توسط مدل‌های PLSR برای هر دو آب‌میوه مورد مطالعه را نشان می‌دهد. در اعتبارسنجی متقابل، تکیه بر داده‌هایی است که تعیین شده‌اند، اما هنگام ساختن مدل به کار گرفته نمی‌شوند. این داده‌ها به‌منظور بررسی و سنجش کارایی مدل برای پیش‌بینی داده‌های جدید به کار می‌روند. همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود، بیشترین مقادیر  $R^2_{cv}$  (میزان همبستگی بین مقادیر واقعی و پیش‌بینی‌شده) در مجموعه اعتباربخشی مربوط به ترکیب آب زرشک-آلورا قرمز (۰/۷۰۴) بود، ولی در سایر گروه‌ها مقادیر  $R^2_{cv}$  بین ۰/۵۸۰-۰/۵۶۵٪ بود. هدف از آزمون مدل در PLSR ارزیابی عملکرد مدل PLSR بر روی داده‌های جدید و اندازه‌گیری نشده و ارزیابی قابلیت تعمیم مدل به نمونه‌های جدید است. همان‌طور که در جدول (۲) مشاهده می‌شود، بیشترین  $R^2_T$  و کمترین RMSET مربوط به آب زرشک تقلبی، حاوی آلورا قرمز (۰/۷۹۳ و ۰/۱۱/۲۱) بود.

مطالعات محدودی در زمینه کاربرد تلفیق داده‌های حاصل از IMS و آمار چندمتغیره در زمینه تعیین کمی تقلبات در مواد غذایی صورت گرفته است. نتایج مطالعه گاردیو-دلگادو و همکاران [۳۲] برای تشخیص تقلبات روغن‌زیتون فرابکر نشان داد IMS قابلیت تشخیص روغن‌زیتون دست‌کاری‌شده با روغن‌های ارزان‌قیمت به مقدار حداقل ۱۰٪ را داراست. تعداد متغیرهای پنهان در تقلب روغن‌زیتون با روغن ذرت، آفتاب‌گردان و مخلوط روغن‌ها، به ترتیب ۵، ۴ و ۵ بود؛ همچنین مقادیر  $R^2_c$  ۰/۷۲۱/۹۲۴ و محدوده  $RMSEC$  و  $RMSECV$  به ترتیب ۹/۲۲-۵/۱۱ و ۹/۵۹-۱۲/۶۲ گزارش شد. فتاحی و همکاران [۲۰] برای تشخیص تقلب زعفران با رنگ‌های مصنوعی شامل تارتراژین، سانست‌یلو، پانسیو 4R و اریتروزین از مدل PLSR

1. Recursive support vector machine

2. Partial least squares-discriminant analysis



شکل (۶) منحنی درجه بندی پیش‌بینی مقادیر رنگ‌های مصنوعی در آب میوه‌ها در مقابل مقادیر اندازه‌گیری شده توسط IMS. پونسو 4R در آب زرشک (a)، آلورا قرمز در آب آلبالو (b)، کارموزین در آب آلبالو (c)، پونسو در آب آلبالو (d)

**Fig. 6.** Prediction plot of synthetic colorant content vs IMS-CDI measured content. Barberry -Ponceau 4R (a), Cherry-Allura red (b), Cherry-Carmoisine (c), and Cherry-Ponceau 4R (d).

استفاده شد. دو آب‌میوه مورد بررسی دارای طیف IMS- $CDI^+$  کاملاً متمایز از یکدیگر بودند، درحالی‌که طیف رنگ‌های مورد بررسی شباهت‌هایی به یکدیگر داشتند. بر مبنای نتایج حاصل از مدل‌های چندمتغیره شیمی‌سنجی، این روش تجزیه دستگاهی، امکان تفکیک نمونه آب‌میوه

#### ۴. نتیجه‌گیری

در این مطالعه، برای اولین بار از دستگاه IMS در تشخیص تقلبات ناشی از رنگ‌های مصنوعی در دو آب‌میوه پرتطرفدار و پرمصرف در بازار ایران، یعنی آب‌زرشک و آب‌آلبالو

نمونه‌برداری شده و مجموع داده‌های بزرگ‌تری برای این منظور فراهم شود.

### تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز به دلیل حمایت‌های مادی آن مرکز (شماره گرنت SCU.VF1401.38687) و همچنین از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس و کارشناس محترم آزمایشگاه مرکزی، سرکار خانم ملکی به دلیل همکاری در انجام آزمایشات تشکر و قدردانی نمایند.

خالص زرشک از رنگ‌های مصنوعی را بر مبنای مدل‌های کیفی، نظیر PCA فراهم کرد. مدل‌های چندمتغیره تلفیقی VIP-PLSR امکان پیش‌بینی درصد‌های افزوده‌شده از رنگ‌های مصنوعی به آب‌میوه را بر مبنای الگوهای طیفی به‌دست‌آمده فراهم کرد. این روش در ترکیب با مدل‌های شیمی‌سنجی چندمتغیره امکان ارزیابی سریع و دقیق رنگ‌های مصنوعی افزوده‌شده به آب‌میوه‌ها را دارد. روش توسعه‌یافته به‌دلیل سرعت بالا در طیف‌گیری، هزینه پایین تجزیه، عدم نیاز به استفاده از حلال‌ها و مواد شیمیایی و همچنین عدم نیاز به پیش‌آماده‌سازی زیاد می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های مرسوم در شناسایی تقلبات رنگی در مواد غذایی، از جمله آب‌میوه‌ها باشد. با این‌وجود، جهت حصول نتایج دقیق و کمی‌سازی سطح تقلبات در آب‌میوه‌ها پیشنهاد می‌شود از رقم‌های مختلف زرشک یا آلبالو که در سطح کشور تولید می‌شود،

### منابع

- [1]. Alizadeh, H. R., Mortezapour, H., Akhavan, H. R., & Balvardi, M. (2019). Performance of liquid desiccant-assisted solar juice concentration system for barberry juice. *Sol. Energy.*, 184, 1-10. [In Persian]
- [2]. Wojdyło, A., Nowicka, P., Laskowski, P., & Oszmiański, J. (2014). Evaluation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) fruits for their polyphenol content, antioxidant properties, and nutritional components. *J. Agric. Food Chem.*, 62(51), 12332-12345.
- [3]. Arzanlou, M., Torbati, M., & Narmani, A. (2017). *Podosphaera clandestina* causes powdery mildew on sour cherry in Iran. *Australas. Plant Dis. Notes.*, 12, 1-4. [In Persian]
- [4]. Sharma, D., Jeet, K., & Kumar, S. (2024). Botanical study of *Berberis vulgaris* L of family berberidaceae: A review. *Res J. Pharmacogn Phytochem.*, 16(1), 52-56.
- [5]. Wistaff, E. A., Beller, S., Schmid, A., Neville, J. J., & Nietner, T. (2021). Chemometric analysis of amino acid profiles for of fruit juice adulterations—Application to verify authenticity of blood orange juice. *Food Chem.*, 343, 128452.
- [6]. Dasenaki, M. E., & Thomaidis, N. S. (2019). Quality and authenticity control of fruit juices—a review. *Molecules*, 24(6), 1014.
- [7]. Ghasemi, F., Pirsā, S., Alizadeh, M., & Mohtarami, F. (2018). Extraction and determination of volatile organic acid concentration in pomegranate, sour cherry, and red grape juices by PPy-Ag nanocomposite fiber for authentication. *Sep Sci. Technol.*, 53(1), 117-125. [In Persian]
- [8]. Alves, S. P., Brum, D. M., de Andrade, É. C. B., & Netto, A. D. P. (2008). Determination of synthetic dyes in selected foodstuffs by high

- performance liquid chromatography with UV-DAD detection. *Food Chem.*, 107(1), 489-496.
- [9]. Amchova, P., Kotolova, H., & Ruda-Kucerova, J. (2015). Health safety issues of synthetic food colorants. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 73(3), 914-922.
- [10]. Miller, M. D., Steinmaus, C., Golub, M. S., Castorina, R., Thilakartne, R., Bradman, A., & Marty, M. A. (2022). Potential impacts of synthetic food dyes on activity and attention in children: a review of the human and animal evidence. *Environ. Health.*, 21(1), 45.
- [11]. ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran) (2019). Permitted food additives- Food colors- List and general specifications. Iranian National Standard 740, pp. 3-14. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 6<sup>th</sup> revision. [In Persian]
- [12]. ISIRI (Institute of Standards and Industrial Research of Iran) (2016). Permitted food additives- Food colors- List and general specifications. Iranian National Standard 2837, pp. 3-6. Tehran: Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 3<sup>rd</sup> revision [In Persian].
- [13]. Mohammadi, H., Vahedi, S., Hajimahmoodi, M., Nadjarian, A., Salsali, M., & Shokrzadeh, M. (2015). A Survey on the use of synthetic and natural fruit colors in non-certified juice and fruit products in Tehran, Iran. *JMUMS.*, 24(120), 159-172.
- [14]. Akbari-Adergani, B., Poorasad, M., & Esfandiari, Z. (2018). Sunset yellow, tartrazine and sodium benzoate in orange juice distributed in Iranian market and subsequent exposure assessment. *Int. Food Res. J.*, 25(3), 975-981.
- [15]. Gholami, Z., Marhamatizadeh, M. H., Mazloomi, S. M., Rashedinia, M., & Yousefinejad, S. (2021). Identification of synthetic dyes in traditional juices and beverages in Shiraz, Iran. *Int. J. Nutr. Sci.*, 6(1), 39-44.
- [16]. Alizadeh, M., Pirsa, S., & Faraji, N. (2017). Determination of lemon juice adulteration by analysis of gas chromatography profile of volatile organic compounds extracted with nano-sized polyester-polyaniline fiber. *Food Anal. Methods.*, 10, 2092-2101 [In Persian]
- [17]. Ghasemi, F., Alizadeh, M., Pirsa, S., & Mohtarami, F. (2019). Study of the physicochemical properties/gas chromatography profile of adulterated pomegranate juice by nano-composite-fiber. *JAST.*, 21(6), 1447-1458.
- [18]. Karpas, Z. (2013). Applications of ion mobility spectrometry (IMS) in the field of foodomics. *Food Res Int.*, 54(1), 1146-1151.
- [19]. Roberts, J. J., & Cozzolino, D. (2016). An overview on the application of chemometrics in food science and technology—An approach to quantitative data analysis. *Food Anal. Methods.*, 9(12), 3258-3267.
- [20]. Fattahi, R., Mani-Varnosfaderani, A., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2023). An ion mobility spectrometry-chemometrics combination approach for assessing adulteration in saffron (*Crocus sativus* L.) with synthetic colorants. *Ind Crops Prod.*, 193, 116161. [In Persian].
- [21]. Fattahi, R., Mani-Varnosfaderani, A., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2022). Rapid metabolites fingerprinting by ion mobility spectrometry: A novel evaluation method for bio-adulteration of saffron (*Crocus sativus* L.). *Ind Crops and Prod.*, 188, 115707. [In Persian]
- [22]. Sobhaninia, M., Mani-Varnosfaderani, A., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2024). Combining



- ion mobility spectrometry and chemometrics for detecting synthetic colorants in black tea: A reliable and fast method. *Food Chem: X*, 21, 101213. [In Persian]
- [23]. Khalesi, M., Sheikh-Zeinoddin, M., & Tabrizchi, M. (2011). Determination of ochratoxin A in licorice root using inverse ion mobility spectrometry. *Talanta*, 83(3), 988-993. [In Persian]
- [24]. Lai, H. T. (2010). *The construction and optimization of an ion mobility spectrometer for the analysis of explosives and drugs*. Florida International University.
- [25]. Golavar, B., Sheibani, A., & Tabatabaee, M. (2019). Detection and measurement of acetone in the diabetics by ion mobility spectrometry methods. *IJDLD*, 18 (5), 257-265 [In Persian]
- [26]. Tabrizchi, M., & Rouholahnejad, F. (2004). Corona discharge ion mobility spectrometry at reduced pressures. *Rev. Sci. Instrum.*, 75(11), 4656-4661. [In Persian]
- [27]. Jiao, J., Wang, J., Li, M., Li, J., Li, Q., Quan, Q., & Chen, J. (2016). Simultaneous determination of three azo dyes in food product by ion mobility spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 1025, 105-109.
- [28]. Sheibani, A., Tabrizchi, M., & Ghaziaskar, H. S. (2008). Determination of aflatoxins B1 and B2 using ion mobility spectrometry. *Talanta*, 75(1), 233-238. [In Persian]
- [29]. Tabrizchi, M., & ILbeigi, V. (2010). Detection of explosives by positive corona discharge ion mobility spectrometry. *J. Hazard. Mater.*, 176(1-3), 692-696. [In Persian]
- [30]. Zhang, L., Shuai, Q., Li, P., Zhang, Q. I., Ma, F., Zhang, W., & Ding, X. (2016). Ion mobility spectrometry fingerprints: A rapid detection technology for adulteration of sesame oil. *Food Chem.*, 192, 60-66.
- [31]. Song, J., Shao, Y., Yan, Y., Li, X., Peng, J., & Guo, L. (2021). Characterization of volatile profiles of three colored quinoas based on GC-IMS and PCA. *LWT-Food Sci. Technol.*, 146, 111292.
- [32]. Garrido-Delgado, R., Muñoz-Pérez, M. E., & Arce, L. (2018). Detection of adulteration in extra virgin olive oils by using UV-IMS and chemometric analysis. *Food Control*, 85, 292-299.
- [33]. Shuai, Q., Zhang, L., Li, P., Zhang, Q., Wang, X., Ding, X., & Zhang, W. (2014). Rapid adulteration detection for flaxseed oil using ion mobility spectrometry and chemometric methods. *Anal Methods*, 6(24), 9575-9580.
- [34]. Aliaño-González, M. J., Ferreiro-González, M., Espada-Bellido, E., Barbero, G. F., & Palma, M. (2020). Novel method based on ion mobility spectroscopy for the quantification of adulterants in honeys. *Food Control*, 114, 107236.
- [35]. Shamshiri, N., Fattahi, R., Mani-Varnosfaderani, A., Barzegar, M., & Sahari, M. A. (2024). Geographical authentication of saffron by chemometrics applied to the ion mobility spectrometry data. *Food Chemistry: X*, 22, 101455. [In Persian]