

## طريقة طيفية ضوئية بسيطة لتقدير غلوتامات أحادية الصوديوم في عينات غذائية

نور غزال، د. أحمد حليبي

قسم الكيمياء، كلية العلوم، إيلب

### الملخص

طُوِّرت طريقة طيفية ضوئية بسيطة وسريعة واقتصادية وصديقة للبيئة لتحديد غلوتامات أحادية الصوديوم (MSG) في عينات غذائية. اعتمدت الطريقة على التفاعل بين MSG وشاردة الرصاص الثنائي لتشكيل معقد غير ملون  $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$  يُبدي قمة امتصاص عظمى عند طول موجة 256nm. دُرست الشروط التجريبية المؤثرة في امتصاصية المعقد ووُجِد أنّ خطية الطريقة تخضع لقانون بير ضمن مجال التركيز 0.75- 32.1 mM بمعامل ارتباط جيد ( $r = 0.9997$ ) وحد للكشف (LOD) يبلغ 0.075mM وحد للتحديد الكمي (LOQ) يبلغ 0.229mM. وطُبِّقت الطريقة بنجاح لتحديد MSG في عينات غذائية (المعكرونة الفورية - شيبس) وتمت مقارنة النتائج مع تلك التي تم الحصول عليها بطريقة مرجعية من خلال مقارنة قيم الاختبار t والاختبار F عند سوية ثقة 95%. بناءً على مؤشر المقياس التحليلي الأخضر GAPI تبيّن أن الطريقة المطورة ذات خضرة ممتازة والأساليب المقدمة بسيطة وسهلة وفعالة من حيث التكلفة ومناسبة للتحليل الروتيني لـ MSG في الأغذية.

### الكلمات المفتاحية:

طريقة طيفية، غلوتامات أحادية الصوديوم، معقد، الرصاص الثنائي، الكيمياء الخضراء.

## A Simple Spectrophotometric Method to Estimate of Monosodium Glutamate in Food Samples

Noor Ghazal, Dr. Amed Halabi

Idlib University, Faculty of science, Department of chemistry

### Abstract

A simple, fast, economical and environmentally friendly spectrophotometric method has been developed to identify monosodium glutamate (MSG) in food samples. The method relied on the interaction between MSG and the II.lead ion to form a complex non-colored formation  $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$  showing a maximum absorbance peak at a wavelength of 256nm. The experimental conditions affecting the absorbance of the complex were studied and the linearity of the method was found to be subject to Beer's law within the focus range 0.75-32.1 mM, with a good correlation coefficient ( $r = 0.9997$ ), a limit of detection (LOD) of 0.075 mM, and a limit of quantification (LOQ) of 0.229 mM. The method was successfully applied to determine MSG in some food samples (noodles-chips) and the results were compared with those obtained by a reference method by comparing the values of the t-test and the F-test at 95% confidence level. Based on the GAPI green analytical index scale, The developed method was shown to be of excellent greenery and the methods provided are simple, easy, cost-effective and suitable for routine analysis of MSG in foods.

### key words:

Spectrophotometry, Monosodium glutamate, Complex, Lead (II), Green chemistry.

## 1. مقدمة

## Introduction

غلوتامات أحادية الصوديوم MSG (Monosodium Glutamate) هي أكثر المضافات الغذائية شيوعاً في الاستخدام (Wijayasekara and Wansapala 2017)، تُستخدم كمادة منكهة تُضاف إلى الأغذية (Yu et al. 2023)، وتمتلك MSG مماكبين من النمط (D,L) ويعود تأثير تعزيز النكهة المعروفة للمركب L (THUY et al. 2020). بالرغم من أن FDA (Food and Drug Administration) صنّفت MSG المضافة للأغذية على أنها آمنة بشكل عام إلا أنه تم الإبلاغ عن الآثار الجانبية الصحية بعد تناول الطعام الذي يحتوي على MSG (Chakraborty 2019)، حيث يجب أن تكون كمية MSG المضافة للطعام أقل من 0.5 g (Nimse and Corporation 2015)، ومن المتوقع أن يكون متوسط المدخول اليومي من MSG بين 0.3-1 g (Ali, Hammad, and El-Malla 2021)، ومقدار الجرعة الفموية المميتة لـ 50% من الفئران وفقاً للتجارب (LD<sub>50</sub>) هو 15000-18000 mg/kg من وزن الجسم (Husarova and Ostatnikova 2013).

وبالتالي فإن الكشف عن محتوى MSG في الغذاء مهم لتحديد فيما إذا كانت كمية MSG ضمن الحدود الطبيعية المصرح عنها أو لا، أُجريت العديد من الدراسات لتحديد MSG في الغذاء منها ما استخدمت تقانة HPLC في فصل وقياس MSG وذلك بعد اشتقاق مركب MSG باستخدام كاشف الفلورة (Thati n.d.)، وأستخدم dansyl chloride لاشتقاق MSG باستخدام كاشف الفلورة (Soyseven and Arli 2021)، وأيضاً استخدم ثنائي نترو فلورو بنزن (DNFB) لاشتقاق MSG باستخدام كاشف الأشعة ما فوق البنفسجية (Lateef et al. 2012)، وقد استخدمت الطرائق الطيفية لتحديد MSG وذلك بعد تفاعل MSG مع كاشف مناسب لإعطاء مركب يمتلك امتصاص عند طول موجي مثل استخدام كاشف النحاس الثنائي الذي أعطى معقداً أزرق اللون وقيست امتصاصيته عند طول الموجة 621nm (Marlina, Amran, and Ulianas 2018) وكاشف الحديد الثلاثي الذي أعطى معقداً بنياً محمراً وقيست امتصاصيته عند طول الموجة 340nm

(Prasetyo 2018) وكاشف 1,2- naphthoquinone-4- sulfonate sodium وقيست امتصاصيته عند طول الموجة 452nm و حمض الأسكوربيك وقيست امتصاصية المعقد عند طول الموجة 387nm (Ali et al. 2021)، كما أُستخدمت الطرائق الكهروكيميائية لتحديد MSG وذلك بقياس الجهد (CV) باستخدام ثلاثة أقطاب كهربائية مطبوعة على الشاشة من الكربون أو الفضة أو الذهب (Baciu, Matei, and Visan 2020)، وباستخدام قطب الكربون المعدّل SPE<sub>s</sub> المطلي بطبقة من Ni<sub>3</sub>Al-CO<sub>3</sub> و طبقة من هيدروكسيد (NiAl-LDH) وحُضّر الفيليم بطريقة الترسيب بالليزر (Baciu et al. 2021). تميّزت طرائق التحليل السابقة بالحساسية والانتقائية في تحديد MSG في العينات الغذائية لكن جميع الطرائق السابقة تتطلب شروط معقدة لإجراء التحليل إضافة إلى التكلفة الباهظة المطلوبة للقيام بالتحليل، وتم التوجه في هذا البحث لتطوير طريقة طيفية بسيطة لتقدير MSG وذلك باستخدام مواد وكواشف متوفرة ورخيصة باستخدام جهاز التحليل الطيفي المزود بكاشف UV-VIS.

## Experimental Section

### 2. القسم العملي

### Apparatus and Tools

#### 1.2. الأجهزة والأدوات

أُستخدم مقياس طيفي ضوئي طراز (DR 4000U) من شركة (Hach) لإجراء جميع القياسات الطيفية الضوئية مزود بخلية كوارتز (1×1)cm ضمن مجال طول الموجة-200 800 nm وبسرعة مسح مقدارها 1 nm/min ونقطة المسح 1nm، وميزان تحليلي حساس  $\pm 0.001g$  من شركة (DENSI) وجهاز الأمواج ما فوق الصوتية Ultra Sonic من شركة ALEX، مقياس درجة الحموضة pH رقمي من شركة (Wincom) دقته 0.01 ومرشحات ميكرونية دقتها 0.45µm من شركة Isolab وماصات حجمية آلية متغيرة الحجم (ميكروبيت) ودوارق حجمية دقيقة مختلفة السعة وأدوات مخبرية زجاجية مختلفة، خلاط مغناطيسي من شركة Thermomac وأُجريت القياسات الطيفية باستخدام الجهاز الطيفي المتصل مع حاسوب عن طريق برمجيات خاصة (UV-PRO analysis) software.

**Chemicals****2.2. المواد الكيميائية**

غلوتمات أحادية الصوديوم  $C_5H_8NNaO_4 \cdot H_2O$  نقاوتها (99%) إنتاج شركة Solarbio، نترات الرصاص  $Pb(NO_3)_2$  نقاوته 99% إنتاج شركة MERK، هيدروكسيد الصوديوم نقاوته 99% و حمض الأزوت 65% إنتاج SIGMA-ALDRICH. تم جمع العينات الغذائية (ماجي-شيبس -إندومي) من السوق المحلية ومن شركات مختلفة.

**Preparation of Solutions****3.2. تحضير المحاليل:**

- محلول MSG الأم 1M: وزن 18.7 g من مسحوق MSG بدقة ثم نقلت إلى دورق حجمي سعة 100 ml وأذيب بكمية من الماء المقطر مع التحريك على جهاز الأمواج فوق الصوتية ولمدة 5 min حتى تمام الانحلال ثم إتمام الحجم بالماء المقطر حتى الإشارة ويُحفظ في وعاء محكم الإغلاق ومكان بارد وجاف. (Shah (Prasetyo 2018) et al. 2020)
- محلول الرصاص الثنائي الأم 0.08 M: وزن 160 mg من نترات الرصاص (تكافئ من الرصاص الثنائي 100 mg) بدقة كافية ثم نُقلت لدورق حجمي سعته 10 ml وأُذيبت بكمية من الماء المقطر حتى تمام الانحلال ثم أُتمم الحجم بالماء المقطر الإشارة.
- تحضير محلول حمض الأزوت بتركيز 0.1 M: أخذ حجم 0.7 ml من محلول حمض الأزوت المركز (نو النقاوة 65%wt والكثافة  $1.37 \text{ g/cm}^3$ ) وأُضيف إلى كمية من الماء المقطر في دورق حجمي سعته 100 ml وتُترك المحلول ليبرد وبعدها أُتمم بالماء المقطر الإشارة.
- تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه 0.1 M: وزن 0.4 g من هيدروكسيد الصوديوم بدقة ثم نُقلت لدورق حجمي سعته 100 ml وأُذيبت بكمية من الماء المقطر حتى تمام الانحلال ثم أُتمم الحجم بالماء المقطر حتى الإشارة.

**Preparation of Sample Solution****4.2. تحضير محلول العينة**

طُحن محتوى 5 عبوات من العينة ومجانستها بشكل جيد وأُخذت وزنة معينة من المسحوق (0.5 g بحال عينات الماجي والإندومي و 5 g بحال عينات الشيبس) ووُضعت في بيشر ويضاف لها كمية من الماء المقطر مع تحريك المحلول لمدة 10 min والتسخين للدرجة

70°C ثم يُترك ليرقد ويبرد ومن ثم يُرشح المحلول وتُنقل الرشاحة لدورق حجمي سعته 100ml و يُغسل الراسب فوق الرشاحة قبل تمديد المحلول لتجنب أي ضياع من المادة المحددة ويتم الحجم بالماء المقطر حتى الدائرة العيارية، يُرشح المحلول النهائي باستخدام مُرشح دقيق 0.45µm وبذلك يكون جاهز للقياس (Alnokkari, Ataie, and Alasaf 2013)

## Standard Graph Line

## 5.2. الخط البياني العياري

توضع في سلسلة دوارق حجمية سعة 10 ml حجوماً مناسبة من محلول MSG العياري 1M ويُضاف 1.8 ml من محلول نترات الرصاص 0.08 M إلى كل منها، تُضبط قيمة pH المحلول عند 8 بواسطة 0.1M NaOH ويكمل الحجم حتى الإشارة بالماء المقطر. تُمزج المحاليل جيداً، وبعد 5 دقائق تقاس امتصاصية محاليل المعقد المتشكل عند طول الموجة 256 nm مقابل محلول مقارن بالطريقة نفسها عدا المركب المدروس. يُرسم الخط البياني العياري لحساب تراكيز مجهولة من المركب MSG.

## Results and Discussion

## 3. النتائج و المناقشة

### Spectral Study

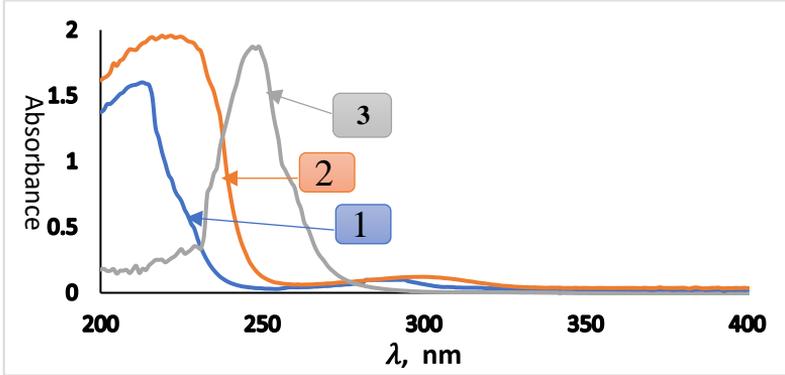
### 1.3. الدراسة الطيفية

تعتمد الطريقة على التفاعل بين MSG وشاردة الرصاص الثنائي لتشكيل معقد غير ملون  $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$  عند pH=8 والذي يُبدي قمة امتصاص عظمى عند طول موجة 256nm. ويحدث التفاعل بين جزيئات MSG وشوارد الرصاص الثنائي وفق التفاعل:



ترتبط شوارد الرصاص مع MSG بشكل رئيس من خلال زمرة الكربوكسيل والهيدروكسيل (LI et al. 2009).

يعرض الشكل (1) طيوف الامتصاص لمحاليل MSG ومحلول نترات الرصاص الثنائي والمعقد المتشكل  $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$ .



الشكل (1): طيُوف الامتصاص لمحاليل: (1) MSG تركيزه 0.1M مقابل الماء،  
 (2) نترات الرصاص الثنائي بتركيز 0.01M مقابل الماء، (3) المعقد المتشكل  
 $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$  بتركيز 0.1M من MSG عند pH=8 مقابل المحلول  
 الفارغ

يُبيّن الطيف (1) أنّ MSG يبدي قمتي امتصاص الأولى ضمن المجال (200-250)nm وتكون الامتصاصية العظمى عند  $\lambda_{max} = 213nm$  والثانية ضمن المجال (250-320)nm وتكون الامتصاصية العظمى عند  $\lambda_{max} = 284nm$  وهذا يتوافق مع ما ذكر في المرجع (Cahyana, Andika, and Liandi 2020)، كما نلاحظ أنّ طيف محلول نترات الرصاص (2) يبدي قمتي امتصاص الأولى ضمن المجال (200-250)nm وتكون الامتصاصية العظمى عند  $\lambda_{max} = 219nm$  والثانية ضمن المجال (330-360)nm وتكون الامتصاصية العظمى عند  $\lambda_{max} = 300nm$ ، ويمكن أن تُعزى الامتصاصية لشاردة النترات المرافقة للرصاص الثنائي. (Svoboda, Kubelová, and Slavíček 2013)، أما الطيف (3) طيف المعقد المتشكل  $[Pb(C_5H_8NO_4)_2]^{2+}$  بتركيز 0.1M من MSG عند pH=8 مقابل المحلول الفارغ، فقد أبدى قمة امتصاص ضمن المجال 230-290 nm وقمة الامتصاص العظمى لها عند  $\lambda_{max} = 256nm$ . يمكن أن تُعزى قمة الامتصاص إلى تشكل مركب (معقد) غير ملون  $[MSG-Pb^{2+}]$  يمتلك قمة امتصاص عظمى عند 256nm.

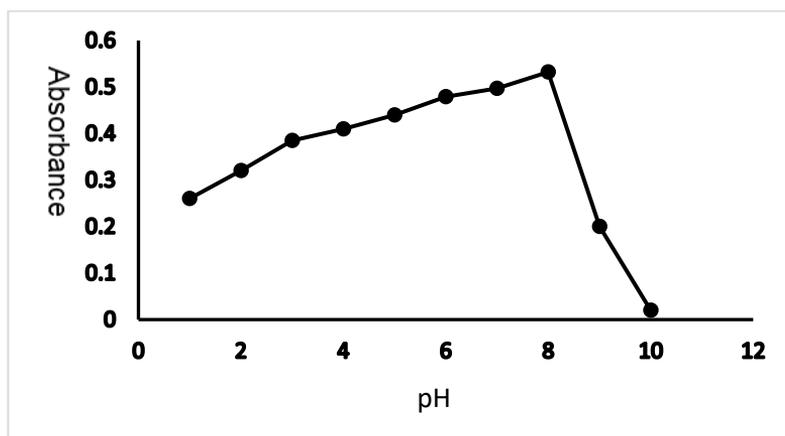
2.3. دراسة الشروط التجريبية على تشكيل المعقد [MSG-Pb<sup>2+</sup>]Study the Experimental Conditions Affecting the Formation of the Complex [MSG-Pb<sup>2+</sup>]

دُرست الشروط التجريبية المؤثرة في تشكيل المعقد [MSG – Pb<sup>2+</sup>] وذلك من خلال دراسة تغير امتصاص المعقد بتغير بعض الشروط مثل (pH المحلول -حجم الكاشف- الزمن-تسلسل الإضافات-درجة الحرارة -نسبة الارتباط) ، وقد تم اعتماد منهجية دراسة تغير عامل واحد بثبات العوامل الأخرى (OFAT) (Qu and Wu 2005).

## Effect of pH Solution

## 1.2.3. تأثير pH الوسط

دُرست تأثير تغير قيم pH الوسط في امتصاصية المعقد [MSG – Pb<sup>2+</sup>] عند طول الموجة 256nm وذلك ضمن مجال من قيم pH ما بين 1-10، بتحضير 10 محاليل للمعقد المذكور بتركيز 25mM من MSG ومن ثم ضبط pH كل منها عند قيمة معينة، واستخدم حمض الأزوت 0.1M لضبط pH المحلول في المجال الحمضي وهيدروكسيد الصوديوم 0.1M للحصول على قيم pH في المجال القلوي، ويعرض الشكل (2) تغيرات امتصاصية المعقد [MSG – Pb<sup>2+</sup>] بتغير قيمة pH الوسط :



الشكل (2): تأثير قيم pH الوسط في امتصاصية معقد [MSG-Pb<sup>2+</sup>]

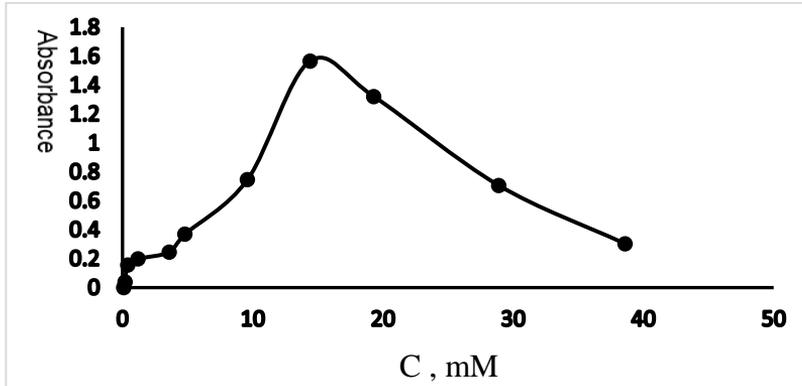
حيث نلاحظ أن قيمة الامتصاصية تزداد بازدياد قيمة pH الوسط بدءاً من الأوساط الحمضية وتبلغ أعظم قيمة لها عند المجال من قيم pH 7-8 إلا أنها تتناقص

وبشكل كبير عند قيم pH أكبر من 8 ويمكن تفسير ذلك أنه عند قيم  $\text{pH} > 1$  يبدأ المعقد  $[\text{MSG-Pb}^{2+}]$  بالتشكل ويزداد مردود التفاعل مع ارتفاع قيمة الـ pH حتى يبلغ قيمته العظمى عند قيمة  $\text{pH} = 8$ ، لكن تناقص الامتصاصية عند قيم  $\text{pH} > 8$  يمكن أن يُعزى إلى بدء ترسب شوارد الرصاص الثنائي في الأوساط شديدة القلوية عوضاً عن ارتباطها مع MSG.

### Effect of Reagent Concentration

### 2.2.3. تأثير تركيز الكاشف

دُرُس تأثير تركيز الرصاص الثنائي في امتصاصية المعقد وذلك بتحضير عدة محاليل تحوي تركيز ثابت من 0.1M MSG وتراكيز مختلفة من الرصاص تراوحت بين 0-38 mM بعد ضبط pH الوسط عند القيمة 8 والانتظار لمدة 2min ومن ثم قراءة الامتصاصية للمعقد عند 256nm ويعرض الشكل (3) تغيرات الامتصاصية للمعقد بتغير تركيز الكاشف

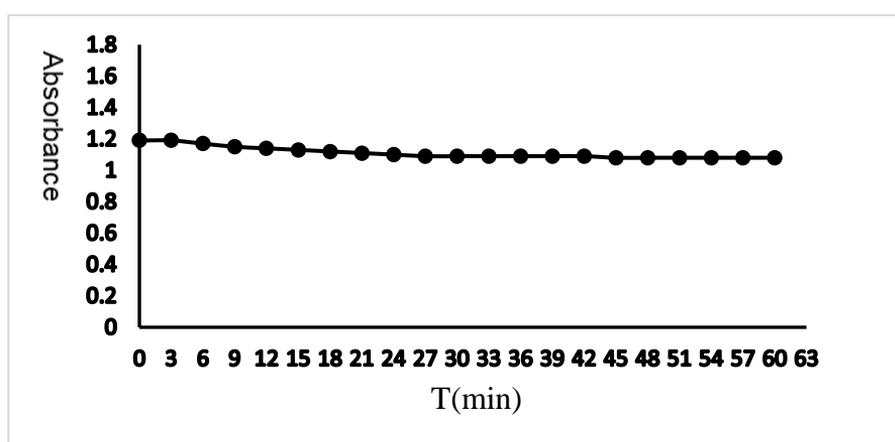


الشكل (3): تأثير تركيز شاردة الرصاص في امتصاصية معقد  $[\text{MSG-Pb}^{2+}]$

تبيّن النتائج أن امتصاصية المعقد تزداد بازدياد تركيز الرصاص الثنائي حيث يزداد تشكل المعقد وتكون الامتصاصية أكبر ما يمكن عندما يكون تركيز شاردة الرصاص الثنائي 14.4 mM من شاردة الرصاص الثنائي ثم تبدأ الامتصاصية بالتناقص عند تراكيز أكبر من الرصاص الثنائي.

### 3.2.3. تأثير الزمن في تشكل المعقد Effect of Time on Complex Formation

لدراسة الزمن الأمثل لتشكيل المعقد وقراءة الامتصاصية عنده، تمت قراءة امتصاصية المعقد خلال أزمنة تراوحت من لحظة إضافة الكاشف  $Pb^{2+}$  لمحلول MSG وحتى الزمن الذي بدأت عنده امتصاصية المعقد بالتناقص بشكل واضح، حيث أخذت قراءة امتصاصية كل ثلاثة دقائق ويوضح الشكل (4) تغيرات الامتصاصية بدلالة زمن القياس:



الشكل (4): تأثير زمن القياس في امتصاصية المعقد  $[MSG-Pb^{2+}]$

نلاحظ أن الامتصاصية للمعقد عند 256nm تكون عظمى فور إضافة الكاشف إلى MSG مما يدل على أن المعقد يتشكل بشكل لحظي، كما نلاحظ أن امتصاصية المعقد تبقى ثابتة تقريباً دون تغيرات تذكر لمدة 6min ثم تبدأ بعدها الامتصاصية بالتناقص بشكل طفيف وقد يُعزى هذا التناقص إلى بدء تفكك المعقد المتشكل مع مرور الوقت. بناءً على ذلك سوف يتم قياس الامتصاصية للمعقد بعد حوالي 2min من إضافة الكاشف وهذه النقطة تعتبر إيجابية حيث أنها تخفض الزمن اللازم لإنجاز التحليل.

### 4.2.3. تأثير تسلسل الإضافات Addition Sequence Effect

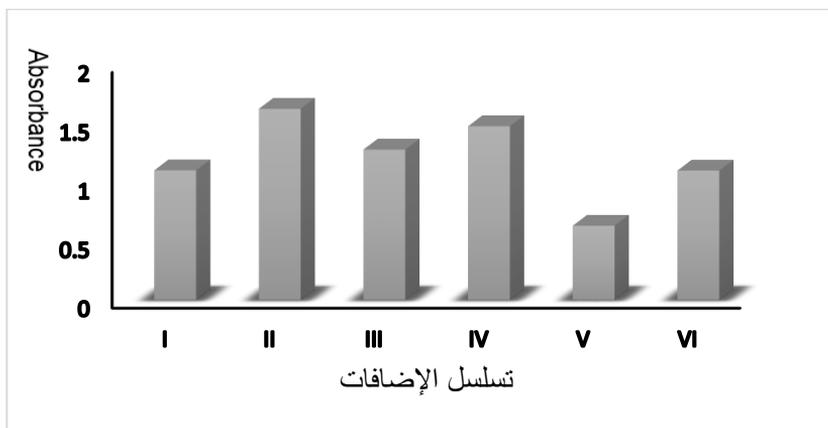
دُرِس تأثير تسلسل الإضافات للمواد المشكّلة للمعقد  $[MSG-Pb^{2+}]$  في قيمة الامتصاصية للمعقد وذلك باختيار عدة تسلسلات لإضافة كل من MSG تركيزها 0.01M وكاشف

الرصااص الثنائى تركيزه 14.4mM وهيدروكسيد الصوديوم تركيزه 0.1M عند pH=8، ويوضّح الجدول (1) أنماط التسلسلات المُختارة ويتم الانتظار لمدة 2min ثم قياس الامتصاصية للمعقد الناتج عند 256nm

الجدول (1): تسلسل ترتيب إضافات المواد المُشكلة للمعقد

الامتصاصية	الترتيب	التسلسل
1.100	Pb <sup>2+</sup> + PH+ MSG	I
1.622	Pb <sup>2+</sup> + MSG +PH	II
1.276	MSG + Pb <sup>2+</sup> + PH	III
1.474	MSG + PH + Pb <sup>2+</sup>	IV
0.630	PH + MSG + Pb <sup>2+</sup>	V
1.098	PH + Pb <sup>2+</sup> + MSG	VI

ويوضّح الشكل (5) تأثير تغيير تسلسل الإضافات في قيمة امتصاصية المعقد عند 256nm وبعد الانتظار لمدة 2min، نلاحظ أن الحالة II أعطت أعلى قيمة للامتصاصية وهو بحال وضع الكاشف أولاً في وعاء الاختبار ثم إضافة MSG ثم ضبط pH المحلول باستخدام هيدروكسيد الصوديوم 0.1 M.



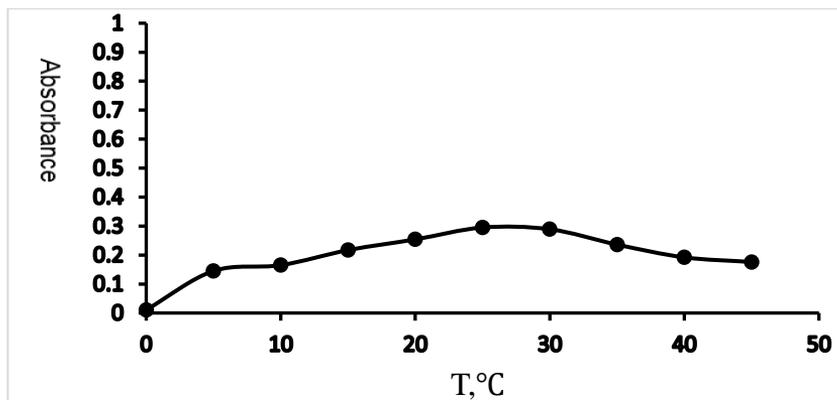
الشكل (5): تأثير تسلسل إضافة مواد التفاعل في امتصاصية معقد [MSG-Pb<sup>2+</sup>]

### Effect of Temperature

### 5.2.3. تأثير درجة الحرارة

دُرس تأثير تغيير درجة الحرارة في ثبات المعقد [MSG-Pb<sup>2+</sup>] ضمن المجال 0-45°C، حيث يتم ضبط درجة الحرارة المحلول عند الدرجة المدروسة لمدة 10min باستخدام حمام

مائي، ثم تُترك المحاليل بعدها لتأخذ درجة الحرارة العادية ومن ثم تقاس امتصاصية المعقد عند 256nm مقابل التصفير على محلول نترات الرصاص كشاهد.



الشكل (6): تأثير درجة الحرارة في امتصاصية معقد  $[MSG-Pb^{2+}]$

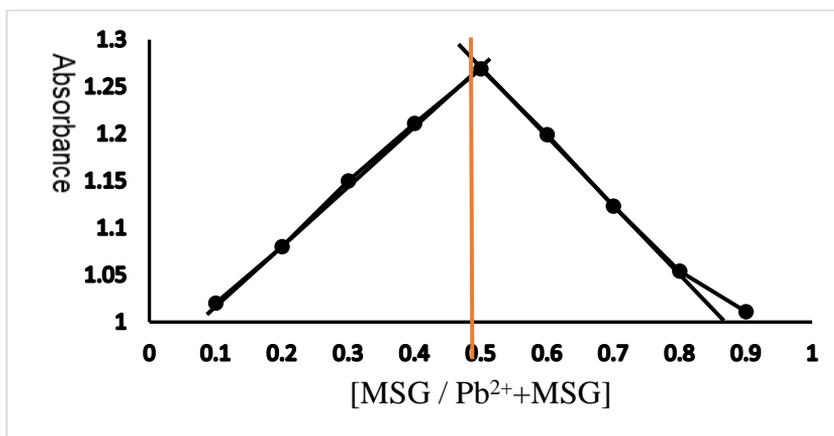
توضّح النتائج المبينة في الشكل (6) أن امتصاصية المعقد تكون شبه معدومة عند درجات حرارة أقل من 5°C ويعود ذلك إلى تناقص سرعة التفاعل (T. Hughbanks 2017)، ثم تبدأ الامتصاصية مع ارتفاع درجة الحرارة وتكون أكبر ما يمكن ضمن المجال من درجة الحرارة 25-30°C ثم تبدأ الامتصاصية بالتناقص عند ارتفاع درجة الحرارة فوق 30°C ويُعزى ذلك إلى بدء تفكك المعقد عند درجات الحرارة العالية نسبياً. (Cahyana et al. 2020).

### 6.2.3. تحديد نسبة الارتباط في معقد $[MSG-Pb^{2+}]$

#### Stoichiometric Relationship

دُرست نسبة ارتباط معقد غلوتامات أحادية الصوديوم و شوارد الرصاص الثنائي بأخذ حجوم متزايدة من MSG تركيزه 0.1 M وهي (0.5-1-1.5-2-2.5-3-3.5-4-4.2-4.5)ml وحجوم متناقصة من محلول الرصاص الثنائي الأم تركيزه 0.08 M وهي (4.5-4-3.5-3-2.5-2-1.5-1-0.8-0.5)ml بحيث يكون الحجم الإجمالي للغلوتامات والرصاص 5ml إلى دوارق حجمية سعة 25ml وضبط pH المحلول باستخدام هيدروكسيد الصوديوم 0.1 M ثم قيست امتصاصية المحاليل عند 256nm، ومن ثم

رُسمت العلاقة بين تغيرات الامتصاصية لمحاليل المعقدات المتشكلة بدلالة الكسر الجزيئي للكاشف [MSG/ Pb<sup>2+</sup>+MSG] فكانت نسبة الارتباط (1:1) (Ntoi and Eschwege 2017) كما هو موضّح في الشكل (7):



الشكل (7): الرسم البياني لطريقة Job في التغير المستمر

$$A = f [MSG / Pb^{2+}+MSG]$$

### 3.3. التحقق من مصداقية الطريقة

#### Validation of the Method

تم اختبار مصداقية الطريقة التحليلية المطوّرة بتحقيق متطلبات المؤتمر الدولي للمواءمة (ICH) منها (الخطية - المجال الخطي - الدقة - الاسترجاعية - المتانة) - (Stefanini-Oresic 2022)

#### Linearity

#### 1.3.3. الخطية

بعد دراسة الشروط التجريبية المثلى لتشكيل معقد [MSG-Pb<sup>2+</sup>] دُرست العلاقة الخطية بين امتصاصية المعقد عند 256nm وتركيز MSG مقدراً بـ mM ومن ثم تكرار العملية 5 مرات.

الجدول (2): الخصائص الطيفية للمعدن MSG-Pb

MSG	المعامل (Parameter)
0.75-32.1	المجال الخطي (mM)
$Y=0.0188x+0.0426$	معادلة الخط البياني العياري
0.0188	ميل المستقيم (S) ( $mM^{-1}$ )
0.0426	نقطة التقاطع مع محور الامتصاصية
0.9997	معامل الارتباط (r)
0.075	حد الكشف (LOD, mM)
0.229	حد التحديد الكمي (LOQ, mM)

## Recovery

## 2.3.3. الاسترجاعية

للتأكد من صحة الطريقة التحليلية المطورة، دُرست الاسترجاعية لـ MSG في العينات المقاسة. تم تحضير ثلاثة محاليل للمعدن كل منها يحوي تركيزاً مختلفاً من MSG وبحيث تقع جميع التراكيز ضمن المجال الخطي، ثم قياس الامتصاصية للمحاليل السابقة عند 256nm ومن ثم تعويض قيم الامتصاصية في معادلة المستقيم وحساب تركيز MSG. تم تكرار التجربة ثلاث مرات (n=3) لكل عينة وأخذ متوسط الامتصاصية لكل محلول ويعرض الجدول (3) النتائج التحليلية التي تم التوصل إليها حيث تراوحت قيمة الاسترجاعية % 95.14-102.2 مما يؤكد صحة الطريقة وبالتالي صحة النتائج التحليلية :

الجدول (3): نتائج الاسترجاعية لـ MSG المحدد بالطريقة المطورة

النسبة المئوية للاسترجاعية %	RSD%	التركيز المحدد $\pm$ SD n=3 (mM)	التركيز المأخوذ من MSG (mM)
102.20	0.71	$13.60 \pm 0.003$	13
97.30	1.22	$18.19 \pm 0.006$	18
95.14	0.97	$28.00 \pm 0.006$	29

## 3.3.3. الدقة

## Precision

تم تقييم دقة الطريقة التحليلية المطورة من خلال اختبار الدقة خلال اليوم (Intra-day) والدقة لعدة أيام (Inter-day)، حيث تم تقييم الدقة خلال اليوم من خلال تحديد ثلاث مكررات لثلاثة تراكيز مختلفة لـMSG تقع ضمن المجال الخطي في نفس اليوم. تم تقييم الدقة لعدة أيام من خلال تحديد ثلاث مكررات لثلاثة تراكيز مختلفة تقع ضمن المجال الخطي وذلك خلال ثلاثة أيام متتالية. ويعرض الجدول (4) نتائج تحديد الدقة حيث لم تتجاوز قيم الانحراف المعياري النسبي المئوي RSD% لدى حساب الدقة خلال اليوم القيمة 0.89% وحساب الدقة بين اليوم القيمة 1.8% وهذا يؤكد دقة الطريقة التحليلية المطورة.

الجدول (4): نتائج التكرارية لـMSG المحدد بالطريقة المطورة

Inter-day precision n=3			Intra-day precision n=3			التركيز المأخوذ من MSG (mM)
RSD%	±SD (mM)	التركيز المحدد من MSG (mM)	RSD%	±SD (mM)	التركيز المحدد من MSG (mM)	
1.80	0.003	4.96	0.895	0.001	5.13	5
0.33	0.001	10.70	0.330	0.001	10.80	11
0.41	0.003	28.9	0.350	0.002	29.10	29

## The Robustness

## 4.3.3. متانة الطريقة

قُيِّمت متانة الطريقة التحليلية المطورة لتحديد MSG من خلال دراسة تأثير بعض التغيرات الصغيرة لبعض الشروط المثلى في قيمة امتصاصية المعقد ونسبة الاسترجاعية %R. تضمنت المتغيرات المدروسة ( $\text{pH} \pm 0.2$ ) وكذلك درجة الحرارة  $(27 \pm 3)^\circ\text{C}$  وطول الموجة  $(256 \pm 2)\text{nm}$  ويعرض الجدول (5) نتائج تقييم متانة الطريقة حيث تشير قيم RSD% الصغيرة وقيم الاسترجاعية العالية إلى متانة الطريقة التحليلية المطورة وإمكانية تحديد MSG في العينات الغذائية المختلفة رغم تغيرات شروط القياس بشكل نسبي.

الجدول (5): متانة الطريقة المطورة

RSD%	±SD (mM)	متوسط R%	Recovery	التركيز المحدد (mM)	المتغير Variable	
0.62	0.004	99.23	99.23	0.528	7.8	PH
			100	0.532	8	
			98.46	0.524	8.2	
0.38	0.002	95.05	94.1	0.325	254	$\lambda$ (nm)
			99.31	0.328	256	
			94.75	0.327	258	
0.56	0.002	98.10	98.1	0.291	24	T , °C
			98.9	0.293	27	
			97.32	0.289	30	

### Method Application

### 5.3.3. تطبيق الطريقة:

طُبِّقَت الطريقة المطورة لتحديد MSG في عينات غذائية جُمعت من السوق المحلية وهي مرق الدجاج-الإندومي-الشيبس، وقد تم قياس ثلاثة مكررات لكل عينة ومن ثم حساب متوسط التركيز الموجود في كل عينة. حيث تبين النتائج الموضحة في الجدول (6) وجود كميات كبيرة من MSG في العينات الغذائية وهي أكبر من الكميات المسموح بها وفق الهيئات الغذائية، وتم مقارنة النتائج التي تم التوصل إليها مع تلك التي حصلنا عليها باستخدام طريقة مرجعية تعتمد على تحديد MSG بتعقيده مع كاشف النحاس (Marlina et al. 2018) وذلك بتطبيق الاختبار (F-test) و الاختبار (t-test) عند سوية ثقة (95%) وعدد درجات حرية يساوي 2 كما هو موضح بالجدول (6)

الجدول (6): تحديد كمية MSG في عينات الغذاء باستخدام الطريقة المطورة والطريقة المرجعية

الطريقة المرجعية n=3	الطريقة المطورة n=3		
56.8±0.0015	57.5±0.002	كمية <sup>*(a)</sup> SD±MSG (g/kg)	الاندومي
1.835		t-test <sup>** (b)</sup>	
1.78		F-test <sup>*** (c)</sup>	
343±0.002	342.6±0.002	كمية SD±MSG (g/kg)	الشيبس
-0.316		t-test	
2.33		F-test	
406±0.002	406±0.002	كمية SD±MSG (g/kg)	مرق الدجاج
0.623		t-test	
2.33		F-test	
<p>a. تم حساب كمية MSG لثلاثة مكررات على أساس (g/kg) .</p> <p>b. قيمة F-test المجدولة عند درجة حرية 2 وسوية ثقة 95% تساوي 19</p> <p>c. قيمة t-test المجدولة عند درجة حرية 2 وسوية ثقة 95% تساوي 4.303</p>			

تُظهر النتائج أن قيمة F المحسوبة لجميع العينات كانت أصغر من قيم F المجدولة والتي تساوي 19 عند سوية ثقة 95% وبالتالي لا يوجد فروق معنوية بين نتائج الطريقتين لتحديد MSG في العينات الغذائية كما تُظهر النتائج أن قيمة t المحسوبة لجميع العينات كانت أصغر من قيم t المجدولة والتي تساوي 4.303 عند سوية ثقة 95% وبالتالي لا يوجد فروق معنوية بين نتائج الطريقتين لتحديد MSG في العينات الغذائية وهذا يؤكد صحة ودقة الطريقة المطورة لتحديد MSG في العينات الغذائية.

## Green Chemistry

## 4.3. تقييم الخضرة للطريقة المطورة

زاد الاهتمام في السنوات الأخيرة بتطوير طرق تحليلية صديقة للبيئة ويستخدم لهذا الغرض عدة أساليب تحليلية منها المقياس البيئي التحليلي (PPS) والذي يعتمد على تعيين نقاط جزئية لكل معلمة تحليلية مثل نوع الكاشف، كميته، الأدوات والأجهزة (Gałuszka et al. 2012). تم تطبيق هذا المقياس لتحديد اخضرار الطريقة الطيفية المطورة من خلال تحديد مجموع النقاط الجزئية لجميع المعلمات المستخدمة في هذا البحث كما هو موضح في الجدول (7)، حيث أثبتت الدرجة التحليلية للمقياس البيئي البالغة (87%) درجة الخضرة الممتازة للطريقة المطورة.

الجدول (7): تقييم تحليلي للمقياس البيئي (PPS) لخضرة الطريقة المطورة

PPS			
1	<10g	نترات الرصاص	الكواشف
4	<10ml	حمض الأزوت	
1	<10g	هيدروكسيد الصوديوم	
6			مجموع النقاط
0	0	UV-VIS Spectrometry	التقنية
5	$\geq 10\text{ml}$		النفائيات
0	<0.1KWh	UV-VIS Spectrometry	الطاقة الكهربائية
2			تسخين
<b>13</b>			المجموع النهائي

## Conclusion

## 4. الخلاصة

طُوِّرت طريقة طيفية في المجال فوق البنفسجي لتحديد نسبة MSG في المواد الغذائية تتمتع بصحة ودقة كافية، حيث اعتمدت الطريقة على التفاعل بين MSG وكاشف

الرصاص الثنائي Pb(II) الذي أُستخدم في هذا البحث لأول مرة لتشكيل معقد غير ملون يمكن قياس امتصاصيته . وإن ما يميز هذا التفاعل كونه يحدث بشكل فوري ولا يتطلب شروطاً تجريبية معقدة بالإضافة لأن المركب الناتج عن التفاعل ثابت لفترة طويلة دون أن يتفكك على عكس الكثير مما تم ذكره في الأبحاث السابقة من أن أزمدة ثبات المعقدات الناتجة من ارتباط MSG مع الكواشف الكيميائية كانت قصيرة. يمكن تطبيق الطريقة المطورة في مختبرات الرقابة الغذائية من أجل التحاليل الروتينية للمركب. إن أهم ما تميزت به الطريقة المطورة سهولة الإجراء والبساطة وقلّة التكلفة بالإضافة لكونها طريقة ذات خضرة ممتازة إذا ما قُورنت بالطرائق المرجعية وهذا ما يجعلها طريقة صديقة للبيئة. من المتوقع أن تزداد حساسية الطريقة بإجراء معالجات إضافية للعينات باستخدام تقنيات التحضير الحديثة.

## References

## 5. المراجع

- Ali, Heba M., Sherin F. Hammad, and Samah F. El-Malla. 2021. "Green Spectrophotometric Methods for Determination of a Monosodium Glutamate in Different Matrices." *Microchemical Journal* 169(December 2020):106622. doi: 10.1016/j.microc.2021.106622.
- Alnokkari, Afraa, Mounir Ataie, and Zaid Alasaf. 2013. "Colorimetric Determination of Monosodium Glutamate in Food Samples Using L-Glutamate Oxidase." *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* 19(6):1069–72. doi: 10.3724/SP.J.1145.2013.01069.
- Baciu, Dora Domnica, Ruxandra Bîrjega, Valentina Mărăscu, Rodica Zăvoianu, Andreea Matei, Angela Vlad, Anca Cojocaru, and Teodor Visan. 2021. "Enhanced Voltammetric Response of Monosodium Glutamate on Screen-Printed Electrodes Modified with NiAl Layered Double Hydroxide Films." *Surfaces and Interfaces* 24(February). doi: 10.1016/j.surfin.2021.101055.
- Baciu, Dora Domnica, Andreea Matei, and Teodor Visan. 2020. "Extraction Procedure and Cyclic Voltammetry Assay for Detection of Monosodium Glutamate from Different Processed Food Sources." *Revista de Chimie* 71(8):63–71. doi: 10.37358/RC.20.8.8279.
- Cahyana, A. H., T. Andika, and A. R. Liandi. 2020. "Utilization of Monosodium Glutamate (MSG) for the Synthesis of 1,8-

- Dioxoacridine and Polyhydro-Quinoline Derivates with SiO<sub>2</sub>-AA-Glutamate Catalyst and Antioxidant Ability Test.” *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 902(1):2–9. doi: 10.1088/1757-899X/902/1/012071.
- Chakraborty, Subhankari Prasad. 2019. “Patho-Physiological and Toxicological Aspects of Monosodium Glutamate.” *Toxicology Mechanisms and Methods* 29(6):389–96. doi: 10.1080/15376516.2018.1528649.
- Gałuszka, Agnieszka, Zdzisław M. Migaszewski, Piotr Konieczka, and Jacek Namieśnik. 2012. “Analytical Eco-Scale for Assessing the Greenness of Analytical Procedures.” *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* 37:61–72. doi: 10.1016/j.trac.2012.03.013.
- Husarova, Veronika, and Daniela Ostatnikova. 2013. “Monosodium Glutamate Toxic Effects and Their Implications for Human Intake: A Review.” *JMED Research* (December):1–12. doi: 10.5171/2013.608765.
- Lateef, Mehreen, Kauser Siddiqui, Muhammad Saleem, and Lubna Iqbal. 2012. “Estimation of Monosodium Glutamate by Modified HPLC Method in Various Pakistani Spices Formula.” *Journal of the Chemical Society of Pakistan* 34(1):39–42.
- LI, Qing zhu, Li yuan CHAI, Jing ZHAO, Zhi hui YANG, and Qing wei WANG. 2009. “Lead Desorption from Modified Spent Grain.” *Transactions of Nonferrous Metals Society of China (English Edition)* 19(5):1371–76. doi: 10.1016/S1003-6326(08)60452-5.
- Marlina, D., A. Amran, and A. Ulianas. 2018. “Monosodium Glutamate Analysis in Meatballs Soup.” *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 335(1). doi: 10.1088/1757-899X/335/1/012033.
- Nimse, Purnima, and Huntsman Corporation. 2015. “Monosodium Glutamate in Food.” (August).
- Ntoi, Lumanyano L. A., and Karel G. Von Eschwege. 2017. “Spectrophotometry Mole Ratio and Continuous Variation Experiments with Dithizone.” *African Journal of Chemical Education* 7(2):59-92–92.

- Prasetyo, E. 2018. "Monosodium Glutamate for Simple Photometric Iron Analysis." *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 285(1). doi: 10.1088/1757-899X/285/1/012009.
- Qu, Xianggui, and C. F. Jef. Wu. 2005. "One-Factor-at-a-Time Designs of Resolution V." *Journal of Statistical Planning and Inference* 131(2):407–16. doi: 10.1016/j.jspi.2004.03.002.
- Shah, Heeshma, Ankitkumar Jain, Geetanjali Laghate, and Divya Prabhudesai. 2020. "Pharmaceutical Excipients." *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* 633–43. doi: 10.1016/B978-0-12-820007-0.00032-5.
- Soyseven, Murat, and Göksel Arli. 2021. "Method Validation and Rapid Determination of Monosodium Glutamate in Various Food Products by HPLC--Fluorescence Detection and Method Optimization of HPLC--Evaporative Light Scattering Detection Approach without Derivatization." *Journal of Chromatographic Science*.
- Stefanini-Oresic, L. 2022. "Validation of Analytical Procedures: ICH Guidelines Q2(R2)." *Farmaceutski Glasnik* 2(0):1–34.
- Svoboda, Ondřej, Lucie Kubelová, and Petr Slavíček. 2013. "Enabling Forbidden Processes: Quantum and Solvation Enhancement of Nitrate Anion UV Absorption." *Journal of Physical Chemistry A* 117(48):12868–77. doi: 10.1021/jp4098777.
- T. Hughbanks. 2017. "Reaction Rates and Temperature; Arrhenius Theory ." *Chem 102*.
- Thati, Shivakumar. n.d. "Food Analysis Estimation of Monosodium Glutamate ( MSG ) in Noodles Using On-Line Pre-Column Derivatization on the Agilent 1290 Infinity UHPLC System . Solutions for Your Analytical Business."
- THUY, Linh NGUYEN, Liana C. SALANȚĂ, Maria TOFANĂ, Sonia A. SOCACI, Anca C. Fărcaș, and Carmen R. POP. 2020. "Mini Review About Monosodium Glutamate." *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Food Science and Technology* 77(1):1. doi: 10.15835/buasvmcnfst:2019.0029.
- Wijayasekara, Kaushalya, and Jagath Wansapala. 2017. "Uses , Effects and Properties of Monosodium Glutamate (MSG) on Food &

Nutrition.” *International Journal of Food Science and Nutrition* 2(3):132–43.

Yu, Hangyu, Rui Wang, Yunfeng Zhao, Yan Song, Haixia Sui, Yongning Wu, Hongjian Miao, and Bing Lyu. 2023. “Monosodium Glutamate Intake and Risk Assessment in China Nationwide, and a Comparative Analysis Worldwide.” *Nutrients* 15(11):1–15. doi: 10.3390/nu15112444.