

## پیش تغلیظ و اندازه‌گیری فنیتروتیون در نمونه‌های آبی و سبزیجات به روش میکرو استخراج مایع پخشی با امواج فراصوت برپایه به‌کارگیری حلال‌های آلی با چگالی کمتر از آب

فائزه خلیلیان<sup>۱\*</sup> و محمد رضایی<sup>۲</sup>

۱. دانشیار شیمی تجزیه، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد یادگار امام خمینی (ره)، تهران، ایران.

۲. استادیار شیمی تجزیه، پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، تهران، ایران.

دریافت: دی ۹۸ بازنگری: خرداد ۹۹ پذیرش: خرداد ۹۹

### چکیده

حشره‌کش‌ها پس از استفاده می‌توانند در مواد غذایی باقی بمانند و در محیط، خاک سطحی و آب زیر زمینی گسترش یابند. حضور باقیمانده حشره‌کش‌ها در مواد غذایی یکی از نگرانی‌های مهم برای مصرف‌کنندگان است و آن‌ها در دراز مدت اثرات نامطلوبی بر سلامت انسان دارند. در این پژوهش، یک روش میکرو استخراج مایع پخشی با امواج فراصوت برپایه به‌کارگیری حلال‌های آلی با چگالی کمتر از آب برای استخراج و اندازه‌گیری حشره‌کش فنیتروتیون در نمونه‌های سبزی و آب توسعه داده شد. عامل‌های موثر بر استخراج شامل نوع و حجم حلال استخراج‌کننده، دما، قدرت یونی و زمان جداسازی با گریزانه بررسی و بهینه‌سازی شدند. در شرایط بهینه استخراج، منحنی واسنجی در گستره ۲/۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر در نمونه آبی و در گستره ۰/۰۲ تا ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در نمونه گیاه به‌دست آمد. قابلیت کاربرد روش در استخراج و اندازه‌گیری فنیتروتیون در نمونه سبزی و آب به‌طور موفقیت‌آمیزی مورد ارزیابی قرار گرفت.

**واژه‌های کلیدی:** فنیتروتیون، میکرواستخراج مایع پخشی با امواج فراصوت، دستگاه سوانگاری گازی

### مقدمه

دلایل پیامدهای بهداشتی و اقتصادی لازم است. از این رو، برنامه‌های پیش در مواد غذایی در راستای اطمینان از مقدار مجاز باقیمانده سم‌ها و مقدار دریافت از طریق رژیم غذایی در بسیاری از کشورها پیوسته انجام می‌شود [۳ تا ۵].

فنیتروتیون<sup>۱</sup> حشره‌کشی بی‌سامان از گروه ارگانو فسفره است که با چگونگی اثر تماسی و گوارشی طیف وسیعی از آفات مانند ملخ‌ها، شته‌ها و سن‌ها را واپایش می‌کند [۱ و ۲]. پیش باقیمانده این سم و دیگر سم‌ها در مواد غذایی به

1. Fenitrothion

کلروفرم هم که سمی و هزینه بر است برای استخراج فنیتروتیون در نمونه های آبی [۲۰] و برای استخراج سمهای ارگانوفسفره در نمونه های آب سیب استفاده شد [۲۱]. در سال ۲۰۱۷ نیز، همین روش برای استخراج سموم ارگانوفسفره در نمونه های آبی و عسل با کلروبنزن به عنوان حلال استخراج کننده و از سورفکتانت به عنوان امولسیفایر استفاده شد [۲۳]. در سال ۲۰۱۳ استخراج فراصوت تحت کنترل دما به همراه میکرواستخراج مایع-مایع با کمک گرداب<sup>۶</sup> برای استخراج سموم ارگانوفسفره در نمونه های نوشیدنی توسعه داده شد و از حلال استخراج کننده کلروبنزن استفاده شد [۲۲]. در سال ۲۰۱۶ روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی با کمک فراصوت برای استخراج سمهای ارگانوفسفره در نمونه های گیاهی با کلروفرم به عنوان حلال استخراج کننده و استون به عنوان حلال پخش کننده استفاده شد [۲۴].

در سال ۲۰۱۳ میکرواستخراج مایع-مایع با کمک گرداب و با امولسیفایر سورفکتانت و حلال استخراج کننده تولوئن برای استخراج فتالات استر توسعه داده شد [۲۵]. همچنین، با طراحی یک ظرف ویژه، میکرواستخراج مایع-مایع با کمک گرداب و با امولسیفایر سورفکتانت و حلال استخراج کننده تولوئن برای استخراج سمهای ارگانوفسفره در نمونه های آبی توسعه داده شد [۲۶]. در حالی که بسیاری از حلال های رایج در LLE چگالی کمتر از آب دارند. در سال ۲۰۰۹ صالح و همکارانش روش میکرواستخراج مایع پخشی به کمک فراصوت با حلال های سبکتر از آب را برای استخراج ترکیب های آروماتیک حلقوی استفاده کردند [۲۷]. در این پژوهش، کاربرد روش میکرواستخراج مایع پخشی به کمک فراصوت با حلال های سبکتر از آب برای پیش تغلیظ و اندازه گیری فنیتروتیون در نمونه های آبی و سبزیجات بررسی شد.

برای تعیین فنیتروتیون از دستگاه سوانگاری گازی [۶] و سوانگاری مایع با آشکارساز آرایه دیودی (HPLC) [۷] و یا آشکارسازهای الکتروشیمیایی [۸] استفاده می شود. برای استخراج و تمیز کردن این سم از روش استخراج با فاز جامد (SPE<sup>۱</sup>) و استخراج مایع-مایع (LLE<sup>۲</sup>) [۹ و ۱۰] و میکرواستخراج با فاز جامد (SPME<sup>۳</sup>) [۱۱] می توان استفاده کرد. از روش SPME برای استخراج و تعیین فنیتروتیون با به کارگیری SPME-GC در آب [۱۲]، میوه های متفاوت [۱۳] و سبزیجات [۱۴] استفاده شده است. در سال ۲۰۰۸، Rgueiro و همکارانش از فرم کوچک شده روش استخراج مایع-مایع به کمک فراصوت برای بهره مندی از مزایای روش های استخراج مایع-مایع به کمک فراصوت و میکرواستخراج مایع-مایع پخش (DLLME<sup>۴</sup>) استفاده کردند [۱۵ و ۱۶]. آن ها روش جدیدشان را با عبارت میکرواستخراج مایع پخشی با امواج فراصوت (USAEME<sup>۵</sup>) نام گذاری و از آن برای استخراج و اندازه گیری برخی آلاینده های مهم در نمونه آب های محیطی استفاده کردند.

در سال ۲۰۱۰ از روش USAEME با حلال استخراج کننده کلروبنزن که سمی و هزینه بر است برای استخراج سمهای ارگانوفسفره در نمونه های آبی و آب پرتقال استفاده شد [۱۷]. همچنین، از روش in-syringe USAEME برای استخراج سمهای ارگانوفسفره در نمونه های آبی توسعه داده شد و از یک سرنگ شیشه ای ۵ میلی لیتری برای انجام استخراج استفاده شد [۱۷]. در پژوهش دیگری در سال ۲۰۱۰ از کلروبنزن به عنوان حلال استخراج کننده و از سورفکتانت به عنوان امولسیفایر استفاده شد [۱۹]. از روش USAEME با حلال استخراج کننده

1. Solid-phase extraction (SPE)  
3. Solid-phase microextraction (SPME)  
5. Ultrasound-assisted emulsification microextraction (USAEME)

2. Liquid-liquid extraction (LLE)  
4. Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)  
6. Vortex-assisted liquid-liquid microextraction

## بخش تجربی

## مواد و روش‌ها

استاندارد فنیتروتیون با درجه خلوص تجزیه‌ای از شرکت مرک تهیه شد. محلول استاندارد فنیتروتیون از راه افزودن مقادیر مناسب از استاندارد سم در متانول (1000 ppm) و محلول‌های رقیق‌تر در آب دوبار تقطیر تهیه شدند. تولوئن، ۱-اکتانول، ۱-دودکانول، n-هگزان و سیکلوهگزان از شرکت مرک خریداری شدند. بقیه مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه خلوص تجزیه‌ای و یا خالص‌ترین درجه قابل دسترس انتخاب شدند. ظروف پلاستیکی و شیشه‌ای مورد استفاده در این کار با استون و آب دوبار تقطیر شسته شدند.

## دستگاه‌ها

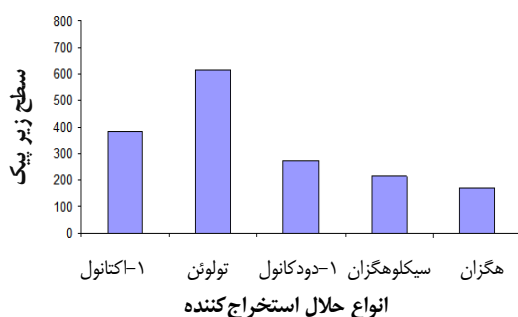
یک حمام آب فراصوت (Techno-Gas SPA) با توان ۰/۱۳۸ کیلووات و فرکانس ۴۰ کیلوهرتز مجهز به سامانه کنترل دما، ساخت کشور ایتالیا برای پخش حلال آلی به کار گرفته شد. سرنگ‌های هامیلتون ۱۰۰ و ۲۵ میکرولیتری Bonaduz (سوئیس) برای تزریق حلال آلی مورد استفاده قرار گرفتند. استخراج‌ها در ظروف‌های گریزانه ویژه‌ای که برای این منظور در آزمایشگاه طراحی و توسط کارگاه شیشه‌گری دانشکده شیمی دانشگاه صنعتی شریف (تهران) ساخته شد، انجام شدند. یک سرنگ هامیلتون گازی ۱۰ میکرولیتری برای جمع‌آوری حلال آلی شناور در سطح نمونه و تزریق آن به دستگاه GC-FID مورد استفاده قرار گرفت. جداسازی و اندازه‌گیری سم فنیتروتیون با یک دستگاه سوانگاری گازی مدل ۷۸۹۰ ساخت کمپانی Agilent مجهز به سامانه تزریق Split/Splitless و آشکارساز یونش شعله-ای انجام شد. یک ستون موئین HP-5 از جنس سیلیکای مذاب با طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم ساکن ۰/۲۵ میکرومتر برای جداسازی سم فنیتروتیون به کار گرفته شد. هلیوم با درجه خلوص ۹۹/۹۹۹٪ به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ثابت ۲ ml/min مورد استفاده قرار

گرفت. دمای محل تزریق و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ °C تنظیم شد و تزریق‌ها در مد Split less انجام شدند. برنامه دمایی ستون سوانگار برای جداسازی نمونه‌ها به این ترتیب بود که از ۷۰ °C آغاز و پس از ۱ دقیقه دمای ستون با سرعت ۱۰ °C/min به ۲۸۰ °C رسانده شد و ۱ دقیقه در این دما باقی‌ماند.

## میکرواستخراج مایع پخشی با امواج فراصوت

ظروف به کار گرفته شد در این کار به گونه‌ای طراحی و ساخته شدند که امکان جمع‌آوری مقادیر میکرولیتری از حلال آلی شناور در سطح نمونه را فراهم می‌آوردند. طرحواره ظرف طراحی شده برای انجام میکرواستخراج در شکل ۱ نشان داده شده است. این ظروف مجهز به دهانه مخروطی متصل به یک لوله موئین بودند. در کنار دهانه مخروطی، یک لوله جانبی با قطر داخلی ۳ میلی‌متر قرار دارد که برای افزودن آب مقطر پس از جداسازی با گریزانه برای بالابردن حلال آلی به درون لوله موئین و نیز برای شویس آسانتر ظرف به کار گرفته شد. برای استخراج ابتدا ۱۳ میلی‌لیتر از نمونه مورد آزمایش از طریق لوله جانبی به درون ظروف ویژه استخراج ریخته شد به طوری که سطح مایع در میانه دهانه مخروطی ظرف قرار گرفت. با یک سرنگ ۲۵ میکرولیتری، مقدار مناسبی از استاندارد فنیتروتیون از راه لوله موئین به درون نمونه افزوده شد. ظرف حاوی نمونه در داخل حمام فراصوت قرار گرفت و با روشن کردن حمام، ۱۴ میکرولیتر از حلال آلی (تولوئن) به آرامی با یک سرنگ هامیلتون ۲۵ میکرولیتری از راه لوله موئین مرکزی به درون نمونه تزریق شد. حلال آلی در حین خروج از انتهای سوزن سرنگ هامیلتون تحت تاثیر امواج فراصوت به داخل نمونه پخش می‌شد و امولسیون از حلال آلی در فاز آبی پدید می‌آورد که سطح تماس دو فاز را به شدت افزایش می‌داد. پس از پایان تزریق حلال آلی، نمونه به مدت ۳۰ ثانیه در حمام آبی فراصوت در دمای محیط نگهداشته شد. سپس، فازهای آبی و

صورت گرفته با حلال تولوئن به مقدار قابل توجهی بیشتر از مقادیر استخراج شده با حلال های دیگر بود (شکل ۲). از طرفی، گران روی کمتر تولوئن در مقایسه با دیگر حلال ها، فرایند تزریق و پخش حلال آلی را با زمان کمتر و کارایی بیشتر امکان پذیر کرد. برپایه نتیجه های به دست آمده، حلال تولوئن به عنوان حلال استخراجی انتخاب و به کار گرفته شد.



شکل ۲ تاثیر حلال های متفاوت استخراجی بر استخراج آنالیت

#### بهینه سازی حجم حلال استخراجی مورد نظر

تاثیر حجم حلال استخراجی بر کارایی استخراج ترکیب مورد نظر در چهار سطح و در گستره ۱۲ تا ۳۵ میکرولیتر مورد مطالعه قرار گرفت. فرایند استخراج برپایه آنچه پیش از این توضیح داده شد، انجام گرفت و تنها عاملی که در این آزمایش تغییر یافت، حجم حلال استخراجی بود. حجم های کمتر از ۱۰ میکرولیتر به طور کامل در محلول آبی حل شدند. از طرفی دیگر با توجه به قطر دهانه لوله موئین و قطر خارجی سوزن سرنگ های هاملتون، کمترین حجم حلال آلی قابل جمع کردن ۲ میکرولیتر بود. با در نظر گرفتن حالیت تولوئن در نمونه آبی و کارایی جمع آوری آن، مقدار ۱۲ میکرولیتر از این حلال لازم بود تا حجم نهایی ۲ میکرولیتر به دست آید. شکل ۳ سطوح زیر پیک سم فنیتروتیون را بر حسب حجم های متفاوت در گستره ۱۲ تا ۳۵ میکرولیتر را نشان می دهد. همان طور که از شکل

آلی با دستگاه گریزانه با سرعت ۳۵۰۰ دور بر دقیقه در مدت ۵ دقیقه از هم جدا شدند. پس از جداسازی دو فاز، چندین میکرولیتر آب دوبار تقطیر از طریق لوله جانبی وارد محلول نمونه شد تا حلال آلی معلق در سطح نمونه به داخل لوله موئین با یک سرنگ هاملتون گازی ۱۰ میکرولیتری جمع آوری و ۲ میکرولیتر از آن برای تجزیه به دستگاه GC-FID تزریق شود.



شکل ۱ طرحواره ظرف طراحی شده برای انجام میکرواستخراج

#### نتیجه ها و بحث

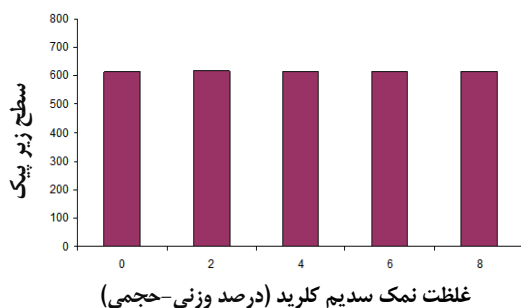
##### انتخاب حلال استخراجی مناسب

مراحل استخراج برای بهینه سازی نوع حلال استخراج کننده مانند بخش پیشین است. حلال های استفاده شده شامل تولوئن (۱۴ میکرولیتر) - اکتانول (۲۰ میکرولیتر)، ۱-دودکانول (۱۲ میکرولیتر)، هگزان (۱۷ میکرولیتر) و سیکلوهگزان (۱۸ میکرولیتر) هستند. نتیجه های به دست آمده از تجزیه ها نشان داد که مقدار استخراج های

جذب بیشتر امواج فراصوت، کاهش توان پدیده حفره‌سازی و در نتیجه کاهش کارایی پدیده پخش حلال آلی و استخراج آنالیت‌های موردنظر داشت. نتیجه‌های تجزیه (شکل ۴) نشان داد که بازیابی استخراج سم فنیتروتیون با افزایش غلظت نمک تغییر چندانی نکرد. بنابراین، آزمایش‌های بعدی در نبود حضور نمک انجام شد.

جدول ۱ گرانروی حرکتی حلال پس از افزودن نمک

گرانروی حلال (میلی‌متر مربع بر ثانیه)	غلظت نمک سدیم کلرید (درصد وزنی-حجمی)
۰.۶۵	۰
۰.۶۷	۲
۰.۶۹	۴
۰.۷۱	۶
۰.۷۳	۸



شکل ۴ اثر افزایش نمک بر روی کارایی استخراج

#### بررسی اثر دمای حمام فراصوت

دما می‌تواند بر کارایی پخش مکانیکی حلال آلی در فاز آبی، مقدار ضریب توزیع گونه‌ها بین دو فاز و سرعت انتقال جرم گونه‌های موردنظر از فاز آبی به فاز آلی تاثیر بگذارد. برای بررسی چگونگی این تاثیر بر استخراج، دماهای متفاوت در گستره ۲۰ تا ۵۰ °C مورد آزمون قرار گرفتند. شکل ۵ نتیجه‌های به‌دست آمده از بررسی دما بر کارایی استخراج را نشان می‌دهد. در روش پیشنهادی به‌دلیل سطح تماس بسیار

مشخص است، سطوح زیر پیک مربوط به سم فنیتروتیون در فاز آلی یا به عبارتی دیگر غلظت آن‌ها در فاز آلی با افزایش حجم این فاز به دلیل رقیق شدن، کاهش یافت. نتیجه‌ها نشان داد که بیشترین تغلیظ و بنابراین، بهترین حساسیت با ۱۲ میکرولیتر حلال آلی در فرایند استخراج به‌دست آمد. با توجه به اینکه جمع‌آوری ۲ میکرولیتر حلال آلی شناور در سطح نمونه از نظر عملی مشکل بود و همچنین، تکرارپذیری غیر مطلوبتری را هم از نظر حجم جمع‌شده و هم سطوح زیر پیک ایجاد می‌کرد، ۱۴ میکرولیتر به‌عنوان حجم بهینه برای ادامه کار انتخاب شد.



شکل ۳ تاثیر حجم حلال استخراج کننده

#### بررسی اثر قدرت یونی

اثر غلظت نمک سدیم کلرید در نمونه بر استخراج در گستره غلظتی صفر تا ۸ درصد وزنی-حجمی بررسی شد. فرایند استخراج برپایه آنچه در بخش پیشین توضیح داده شد، انجام گرفت. روش افزایش قدرت یونی برای بهبود استخراج ترکیب‌های آلی از نمونه‌های آبی به‌طور گسترده‌ای در روش‌های استخراج مایع-مایع، میکرو استخراج با حلال و میکرواستخراج با فاز جامد به‌کارگرفته می‌شود. افزایش نمک در این روش‌ها بیشتر موجب کاهش حلالیت آنالیت‌های آلی در محلول آبی شده و در نتیجه کارایی استخراج این ترکیبات به فاز آلی را افزایش می‌دهد. از طرفی دیگر، با افزایش نمک به نمونه، گرانروی آن افزایش یافت (جدول ۱) که منجر به

### کارایی تجزیه‌ای روش (نمونه آبی)

ارقام شایستگی روش پیشنهادی شامل گستره خطی، حد تشخیص و دقت برای استخراج ترکیب مورد نظر از نمونه در شرایط بهینه ارزیابی شدند. نتیجه‌های به دست آمده از این ارزیابی در جدول ۲ نشان داده شده است. منحنی واسنجی در گستره غلظتی ۲/۰ تا ۱۰۰ میکروگرم بر لیتر در نمونه آبی برای سم فنیتروتیون به دست آمد. حد تشخیص روش در نمونه آبی بر پایه نسبت نشانک به نوفه برابر با ۳، برابر ۰/۱ میکروگرم بر لیتر برای آنالیت به دست آمد. دقت روش پیشنهادی (USAEME-GC-FID) در نمونه آبی به صورت تکرارپذیر در یک روز و به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی مورد مطالعه قرار گرفت که برابر ۸/۲٪ است.

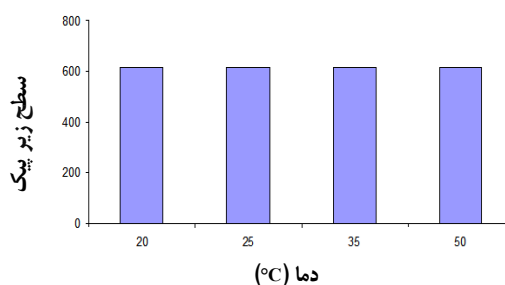
جدول ۲ ارقام شایستگی روش پیشنهادی برای تعیین آنالیت در نمونه آبی

نمونه	گستره خطی (میکروگرم بر لیتر)	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	انحراف استاندارد نسبی (پنج بار تکرار) (%)	ضریب تعیین
آبی	۲۰-۱۰۰	۰/۱	۸/۲	۰/۸۹۶۷

### بررسی نمونه (آب) حقیقی

نمونه حقیقی مورد مطالعه در این کار شامل آب دریای خزر (منطقه‌ای از آمل) بود. نمونه‌های مذکور آب، در ظرف‌های شیشه‌ای کهربایی رنگ جمع‌آوری (بدون فضای فوقانی) و در دمای ۴ °C و به دور از نور نگهداری شدند. نتیجه‌های به دست آمده از این بررسی در جدول ۳ ارائه شده است که نشان می‌دهد سم فنیتروتیون در نمونه‌های مورد مطالعه دیده نشدند. برای بررسی اثر بافت نمونه مورد مطالعه بر کارایی روش پیشنهادی، استاندارد سم فنیتروتیون در سطح غلظتی ۵ میکروگرم بر لیتر به نمونه افزوده شد. مقادیر به دست آمده برای بازیافت نسبی نشان می‌دهد که بافت نمونه مورد مطالعه تاثیر کمی بر کارایی استخراج دارد.

بالای فازهای آلی و آبی، عامل محدودکننده سرعت انتقال جرم وجود نداشته و بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که کارایی استخراج آنالیت نیز تحت تاثیر تغییرات دمایی در گستره مورد مطالعه قرار نمی‌گیرد. نتیجه‌ها نشان می‌دهد که دما تأثیری بر تغییر بازده استخراج آنالیت ندارد. بنابر نتیجه‌های به دست آمده از این بخش، آزمایش‌های بعدی در دمای محیط انجام شدند.

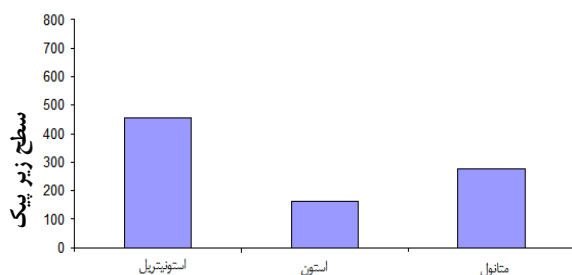


شکل ۵ اثر دما بر کارایی استخراج

### اثر زمان جداسازی با گریزانه

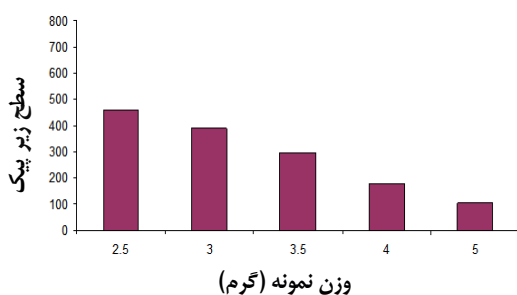
منظور از زمان استخراج مدتی است که نمونه در فاصله زمانی بین تزریق فاز استخراج‌کننده و قرار گرفتن در دستگاه گریزانه، کدر بماند. عمل جداسازی با گریزانه برای شکستن امولسیون به دست آمده از پخش حلال آلی در فاز آبی و تسریع جداسازی دو فاز انجام شد. مدت‌های گریزانه در گستره ۲ تا ۱۰ دقیقه با سرعت چرخش ۳۵۰۰ rpm مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتیجه‌های به دست آمده نشان داد که حجم حلال آلی جمع شده با افزایش زمان، افزایش یافت. در زمان‌های طولانی‌تر (بیشتر از ۱۰ دقیقه)، حجم تولوئن جمع شده به دلیل تبخیر این حلال از سطح نمونه، کاهش یافت. با توجه به نتیجه‌های به دست آمده از این بخش، مدت ۱۰ دقیقه به عنوان مقدار بهینه انتخاب و در ادامه مورد استفاده قرار گرفت.



حلال استخراج کننده

شکل ۶ اثر حلال‌های متفاوت استخراجی برای استخراج آنالیت از گیاه



شکل ۷ اثر وزن نمونه گیاه برای استخراج آنالیت از گیاه

کارایی استخراج با افزودن مقداری آب به حلال استونیتریل زیاد شد. بنابراین، نسبت‌های حجمی متفاوت استونیتریل با آب برای استخراج آنالیت از گیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتیجه‌های به دست آمده در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در نسبت حجمی ۲ به ۳ از استونیتریل و آب بیشترین کارایی استخراج به دست می‌آید. بنابراین، در دنباله کار این نسبت حجمی مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۳ نتیجه‌های به دست آمده از تجزیه نمونه آبی دریای خزر منطقه آمل برای تعیین آنالیت

نمونه	غلظت فنیتروتیون به دست آمده (میکروگرم در لیتر) $\pm$ انحراف استاندارد (۳ بار تکرار)	بازیافت نسبی (%)
پیش از افزایش سم	یافت نشد.	-
پس از افزودن سم (۵ میکروگرم در لیتر)	$4.65 \pm 0.40$	۹۳.۰

کارایی تجزیه‌ای روش (نمونه گیاه)

نمونه گیاه ریحان، پس از شستن، تکه تکه شده و سپس خرد و همگن شد. برای استخراج آنالیت از نمونه گیاه، ابتدا از حلال‌های مثل متانول، استون و استونیتریل استفاده شد. بدین ترتیب که وزن معینی از نمونه گیاه با حجم معینی از این حلال‌ها مخلوط و برای مدتی در داخل دستگاه فراصوت گذاشته شد. سپس، محلول به دست آمده صاف و به عنوان نمونه برای استخراج شبیه بخش پیشین به کار گرفته شد. وزن‌های متفاوتی از گیاه در گستره ۲/۵ تا ۵ گرم و با حلال‌های متفاوت (استون، استونیتریل و متانول) برای استخراج آنالیت از نمونه گیاه مورد استفاده قرار گرفت. نتیجه‌های به دست آمده از استخراج با کمک حلال‌های استون، استونیتریل و متانول در شکل ۶ آورده شده است. همان‌طور که در شکل نشان داده شده است، استونیتریل دارای کارایی بیشتری برای استخراج آنالیت است. بنابراین، در دنباله کار از استونیتریل استفاده شد.

اثر وزن نمونه گیاه بر روی کارایی استخراج در گستره ۲/۵ تا ۵ گرم مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۷ سطح زیر پیک فنیتروتیون بر حسب وزن نمونه‌های گیاه ریحان را نشان می‌دهد همان‌طور که مشاهده می‌شود با ۲/۵ گرم نمونه بیشترین کارایی به دست آمده است. بنابراین، در دنباله کار ۲/۵ گرم از نمونه گیاه برای استخراج استفاده شد.

غلظتی ۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم به نمونه افزوده شد. مقادیر محاسبه شده برای بازیافت نسبی نشان می دهد که بافت نمونه مورد مطالعه تاثیر کمی بر روی کارایی استخراج دارد.

جدول ۶ نتیجه های به دست آمده از تجزیه نمونه ریحان گیاه سبز منطقه امل برای تعیین آنالیت

نمونه	غلظت فنیتروتیون به دست آمده (میلی گرم بر کیلوگرم) ± انحراف استاندارد (۳ بار تکرار)	بازیافت نسبی (%)
پیش از افزایش سم	یافت نشد.	-
پس از افزودن سم (۰/۰۵ میلی گرم بر کیلوگرم)	۰/۰۰۴ ± ۰/۰۴۲	۸۴٫۰

روش پیشنهادی با سایر روش ها در جدول ۷ مقایسه شده است. این جدول نشان می دهد که زمان استخراج در روش پیشنهادی در مقایسه با روش های SPME [۲۹] و SDME [۲۸] خیلی کوتاه و مصرف حلال های آلی سمی و گران قیمت نیز در مقایسه با روش SDME [۲۸] کمتر است. گستره خطی و حد تشخیص روش پیشنهادی بدون استفاده از آشکارسازهای بسیار حساس و گران طیف سنجی جرمی (MS) و آشکارساز فتومتر شعله ای (FPD) قابل مقایسه با سایر روش ها است. همچنین، در مقایسه با روش مرجع [۱۷]، در روش پیشنهادی با طراحی ظرف ویژه استخراج، امکان استفاده از حلال های آلی با چگالی کمتر از آب که سمیت و هزینه کمتری دارند، فراهم می شود. در روش مرجع [۱۷] کلروبنزن که حلال سمی تر و با هزینه بیشتر است به عنوان حلال استخراج کننده به کار گرفته شده و فقط در نمونه های آبی کاربرد روش، توسعه داده شده است. همچنین، در مقایسه با روش کار مرجع [۲۶]، روش پیشنهادی نیازی به ماده سطح فعال برای کارایی بیشتر استخراج ندارد و طراحی ظرف استخراج کار پیشنهادی ساده تر و آسان تر است. کاربرد روش مرجع [۲۶] فقط در نمونه های آبی توسعه یافته است. در

سال پانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰

جدول ۴ اثر نسبت های متفاوت حجمی

استونیتریل و آب بر استخراج آنالیت

نسبت حلال (آب : استونیتریل)	سطح زیر پیک
۲:۳	۴۵۸
۱:۴	۱۳۱
۳:۲	۳۴۰
۴:۱	۲۳۵

ارقام شایستگی روش پیشنهادی USAEME شامل گستره خطی، حد تشخیص و دقت برای استخراج ترکیب مورد نظر از نمونه گیاه در شرایط بهینه ارزیابی شدند. نتیجه های به دست آمده از این ارزیابی در جدول ۵ نشان داده شده است. منحنی واسنجی در گستره غلظتی ۰/۰۲ تا ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم در نمونه گیاه برای آنالیت به دست آمد. حد تشخیص روش در نمونه گیاه بر پایه نسبت نشانک به نوفه برابر با ۳، ۰/۰۰۴ میلی گرم بر کیلوگرم برای آنالیت به دست آمد. دقت روش پیشنهادی (USAEME- GC-FID) در نمونه گیاه به صورت تکرارپذیر در یک روز و به صورت درصد انحراف استاندارد نسبی مورد مطالعه قرار گرفت که برابر ۱۰/۳ درصد برای آنالیت است.

جدول ۵ ارقام شایستگی روش پیشنهادی برای تعیین آنالیت در نمونه گیاهی

نمونه	گستره خطی (میکروگرم بر لیتر)	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	انحراف استاندارد نسبی (پنج بار تکرار) (%)	ضریب تعیین
گیاه	۰/۰۲-۰/۲۰	۰/۰۰۴	۱۰/۳	۰/۹۹۱۰

بررسی تجزیه نمونه های حقیقی (نمونه گیاه)

نتیجه های به دست آمده از تجزیه نمونه گیاه در جدول ۶ ارایه شده است، که نشان می دهد فنیتروتیون در نمونه مورد مطالعه دیده نشد. برای بررسی اثر بافت نمونه مورد مطالعه بر روی کارایی روش پیشنهادی، استاندارد فنیتروتیون در سطح

نشریه پژوهش های کاربردی در شیمی (JARC)



نهایت، کار حاضر برای نخستین بار در نمونه‌های سبزیجات و آبی توسعه داده شد و گزارشی از توسعه روش USAEME و آبی توسعه داده شد و گزارشی از توسعه روش USAEME وجود ندارد.

جدول ۷ مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها برای استخراج فنیتروتیون

روش‌ها	زمان استخراج (دقیقه)	گستره خطی (میکروگرم بر لیتر)	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	انحراف استاندارد نسبی (%)	مرجع
USAEME-GC-FPD*	حدود ثانیه	۰٫۵-۲٫۵	۹٫۳ (نانوگرم بر لیتر)	۱۱٫۷	[۱۷]
SDME**-GC-MS	۱۵	۰٫۵-۱۰۰	۰٫۰۶۸	۸٫۶	[۲۸]
DA-VSLLME***-GC-FPD	۱	۰٫۱-۵۰	۰٫۰۱۰	۴٫۸	[۲۶]
SPME-GC-FPD	۳۰	۰٫۵-۱۰۰	۰٫۲۱۸	۱٫۸	[۲۹]
USAEME-GC-FID	حدود ثانیه	۲-۱۰۰	۰٫۱۰۰	۸٫۲	کار پیشنهادی

\* Flame photometric detector (FPD)

\*\* Single-drop microextraction (SDME)

\*\*\* Home-made extraction device assisted vortex-assisted surfactant-enhanced-emulsification liquid-liquid microextraction (DA-VSLLME)

ایجاد نتایج دقیق‌تر و روشی مقاوم‌تر شد. کارایی روش پیشنهادی بر استخراج حشره‌کش فنیتروتیون در نمونه‌های آب و گیاه ریحان (منطقه‌ای از آمل) مورد ارزیابی قرار گرفت. در نهایت می‌توان نتیجه گرفت که روش ارائه شده در این مطالعه، روشی کارا، سریع، ساده و ارزان است که می‌تواند مکملی برای روش‌های ارائه شده مشابه با به‌کارگیری حلال‌های سنگین‌تر از آب برای تجزیه آلاینده‌های آلی در نمونه آب‌های محیطی و سبزیجات باشد.

## نتیجه‌گیری

در این پژوهش، از حلال‌هایی با چگالی کمتر از ۱/۰ g/ml در روش میکرواستخراج مایع پخشی با امواج فراصوت برای استخراج حشره‌کش فنیتروتیون استفاده شد. ظروف استخراج ویژه‌ای برای انجام مراحل نامیزه‌سازی، جداسازی با گریزانه و جمع‌آوری حلال آلی شناور در سطح نمونه به‌کار گرفته شد. نتیجه‌های بهینه‌سازی نشان داد که قدرت یونی و دمای استخراج تاثیری بر کارایی استخراج نداشتند. وابسته‌نبودن کارایی استخراج به عامل‌های مذکور منجر به

## مراجع

- [1] Krol, W.J.; Arsenault, T.L.; Pylypiw, H.M.; Mattina, M.J.I.; J. Agric. Food Chem. 48, 4666-4670, 2000.
- [2] Torres, C.M.; Pico, Y.; Manes, J.; J. Chromatogr. A 754, 301-331, 1996.
- [3] Helderich, W.; "Food Toxicology", CRC, USA, 2001.
- [4] List of permitted pesticides in the country, Plant protection organization, 1378.
- [5] Hotchkiss, J.H.; Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 31, 191-203, 1992.
- [6] Li, J.; Sander son, R.D.; Jacobs, E.P.; J. Membrane. Sci. 205, 247-257, 2002.
- [7] Farmer, A.D.; Collings, A.F.; Jameson, G.J.; Intern. J. Mineral. Proc. 60, 101-113, 2000.
- [8] Fernandez-Perez, V.; Tapiador, J.; Martin, A.; Luque de Castro, M.D.; Innov. Food Sci. Emerging Technol. 5, 361-368, 2004.

- [9] Priego-Capote, F.; Luque de Castro, M.D.; Trends Anal. Chem. 23, 644-653, 2004.
- [10] Luque-Garcia, J.L.; Luque de Castro, M.D.; Trends Anal. Chem. 22, 41-47, 2003.
- [11] Solich, P.; Polydorou, C.K.; Koupparis, M.A.; Efstathiou, C.E.; J. Pharm. Biomed. Anal. 22, 781-789, 2000.
- [12] Bermejo-Barrera, P.; Muniz-Naveiro, O.; Moreda-Pineiro, A.; Bermejo-Barrera, A.; Anal. Chim. Acta 439, 211-227, 2001.
- [13] Luque de Castro, M.D.; Luque-Garcia, J.L.; "Acceleration and Automation of Solid Treatment sample", Elsevier, Netherlands, 2002.
- [14] Vieira, M.A.; Ribeiro, A.S.; Dias, L.F.; Curtius, A.J.; Spectrochim. Acta B 60, 643-652, 2005.
- [15] Caldeira, I.; Pereira, R.; Climaco, M.C.; Belchior, A.P.; De Sousa, R.B.R.B.; Anal. Chim. Acta 513, 125-134, 2004.
- [16] Regueiro, J.; Llompart, M.; Garcia-Jares, C.; Garcia-Monteagudo, J.C.; Cela, R.; J. Chromatogr. A 1190, 27-38, 2008.
- [17] Rezaee, M.; Assadi, Y.; Milani Hosseini, M.R.; Aghaee, E.; Ahmadi, F.; Berijani, S.; J. Chromatogr. A 1116, 1-9, 2006.
- [18] Saleh, A.; Yamini, Y.; Faraji, M.; Rezaee, M.; Ghambarian, M.; J. Chromatogr. A 1216, 6673-6679, 2009.

## Preconcentration and measurement of fenitrothion in water and vegetable samples using ultrasound-assisted emulsification microextraction based on applying low-density organic solvent

Faezeh Khalilian<sup>1,\*</sup>, Mohammad Rezaee<sup>2</sup>

1. Associate Prof. of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, College of Basic Science, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Assistant Prof. of Analytical Chemistry, Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Tehran, Iran.

**Abstract:** Insecticides can remain in the food products after using, and spread in the environment, surface soil and underground water. The existence of insecticides remainder in the food products is one of the most important concerns for consumers. They have undesirable effects to human health after a long time. In this research, simple and efficient ultrasound-assisted emulsification microextraction (USAEME) method was successfully developed based on applying low density organic solvents for the extraction and determination of fenitrothion insecticide in vegetable and water samples. Several factors influencing the extraction such as type and volume of extraction solvent, temperature, ionic strength, and centrifugation time were investigated and optimized. Under the optimum conditions, the calibration range was from 2.0 to 100  $\mu\text{g L}^{-1}$  in water sample and from 0.02 to 20  $\text{mg kg}^{-1}$  in plant. The applicability of the proposed method was successfully evaluated by the extraction and determination of fenitrothion from some natural vegetable and water samples.

**Keywords:** Fenitrothion, Ultrasound-assisted emulsification microextraction, Gas chromatography instrument