Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

بررسی روشهای آنالیز باقیمانده‌ی آفت‌کش‌ها، مایکوتوکسین‌ها، آنتی‌اکسیدانها و فلزات سنگین در روغن‌های خوراکی

لیلا خوشمرام[1*]، الهام غفارزاده[2]

1- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران
2- کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: 98/05/09 تاریخ پذیرش: 98/10/28)

چکیده

با توجه به استفاده‌ی گسترده از روغن‌ها در تهیه غذاها، کنترل مقدار انواع ترکیبات موجود در روغن‌های خوراکی که می‌توانند برای سلامتی انسان مشکل-ساز باشند از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. با توجه به ماتریکس پیچیده روغن‌ها، آنالیز انواع ترکیبات موجود در آنها معمولا بدون جداسازی و حذف اثرات ماتریکس امکان‌پذیر نمی‌باشد. در این راستا، انواع روشهای استخراج و جداسازی توسط پژوهشگران ارائه شده است. لذا در این مقاله سعی شده است مهمترین روشهای استخراج به کار گرفته شده در آنالیز روغن‌های خوراکی به صورت جامع معرفی شده و به جزئیات روش اجرا و کاربرد آنها در آنالیز روغنها پرداخته شود.

کلید واژگان: مواد غذایی، روغن‌های خوراکی، استخراج، سلامت انسان

*مسئول مکاتبات: L.khoshmaram@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

1- مقدمه

روغن یکی از مواد غذایی است که به دلیل استفاده‌ی گسترده در تهیه غذا باید به سلامت آن توجه داشت. بنابراین کنترل مقدار انواع ترکیبات موجود در روغن‌ها که می‌توانند برای سلامتی انسان مشکل‌ساز باشند و یا برای سلامتی انسان ضروری‌اند از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. معمولا روش‌های بکار گرفته شده برای آنالیز روغن‌ها به دلیل پیچیدگی ذاتی ماتریکس که عمدتا دارای تری‌گلیسیرید (99%-98) می‌باشند کاری سخت و طاقت‌فرسا هست و نیاز به استراتژی خاصی دارد [1]. معمولا اولین کاری که در راستای کاهش اثر ماتریکس روغن‌ها صورت می‌گیرد رقیق‌سازی روغن مورد نظر با استفاده از یک حلال آلی غیرقطبی است که کاملا امتزاج‌پذیر با روغن می‌باشد. n-هگزان حلالی است که اکثرا بدین منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد. گام دوم جداسازی ترکیب موردنظر از ماتریکس روغنی می‌باشد که معمولا با اجرای یک مرحله استخراج صورت می‌گیرد. انواع روشهای استخراج در این مرحله می‌تواند استفاده شود که یکی از متداولترین آنها استخراج مایع- مایع می‌باشد. از آنجاییکه معمولا روشهای استخراج به کار برده شده برای جداسازی ترکیب موردنظر از ماتریکس روغنی از انتخابگری بالایی برخوردار نیستند بنابراین احتمال انتقال برخی از اجزای ماتریکس همراه با ترکیب موردنظر به داخل فاز استخراجی وجود دارد که می‌تواند در مرحله‌ی نهایی که هدف اندازه‌گیری غلظت ترکیب موردنظر است ایجاد مزاحمت کنند. برای جلوگیری از ایجاد مزاحمت، در گام سوم، معمولا یک مرحله استخراج جهت پاکسازی فاز استخراجی از اجزای ماتریکس روغنی، اجرا می‌گردد. متداولترین روش استخراج به کار گرفته شده در این مرحله، استخراج فاز جامد می‌باشد. بویژه زمانیکه دستگاه تجزیه‌ای به کار گرفته شده برای آنالیز ترکیبات موردنظر، از انتخابگری بالایی برخوردار نباشد، اجرای مرحله پاکسازی از اهمیت فراوانی برخوردار است. از آنجاییکه هر دستگاه تجزیه‌ای حدتشخیص خاصی دارد و به غلظت‌های پایین‌تر از آن پاسخ نمی‌دهد، معمولا برای اینکه بتوان غلظت‌های پایین‌تر ترکیبات مختلف را اندازه‌گیری کرد یک مرحله غلیظ‌سازی (گام چهارم) اجرا می‌گردد. یکی از متداولترین روش‌ها برای اجرای این مرحله، خشک کردن فاز استخراج نهایی و حل کردن باقیمانده آن در حجم کمی از یک حلال مناسب است.

با توجه به اهمیت اندازه‌گیری انواع ترکیبات موجود در روغن‌های خوراکی در این مقاله سعی شده است که روشهای آنالیز مختلفی که بدین منظور در سالهای اخیر مورد استفاده قرار گرفته‌اند، بررسی شوند. بنابراین ابتدا انواع روش‌های استخراج که می‌توانند در هر یک از مراحل مذکور (جداسازی، پاکسازی و تغلیظ) مورد استفاده قرار گیرند معرفی گردیده و سپس کاربرد آنها در اندازه‌گیری مقادیر کم ترکیبات مختلف در روغن‌های خوراکی، به صورت جامع توضیح داده شده است.

2- متداول‌ترین روشهای استخراج مورد استفاده در آنالیز روغن‌ها

2-1- استخراج مایع- مایع (LLE)[1]

استخراج مایع- مایع، یکی از متداول‌ترین روشهای استخراج است که بر اساس توزیع نابرابر یا محلولیت مختلف یک جسم بین دو حلال غیرقابل اختلاط استوار است. اگر انتقال مواد از یک فاز آبی به یک فاز آلی صورت گیرد به آن استخراج مایع- مایع گفته می‌شود ولی اگر انتقال مواد از فاز آلی به یک فاز آبی صورت گیرد به آن استخراج مایع- مایع معکوس اطلاق می‌گردد. از معایب این روش می‌توان به مصرف مقادیر زیاد حلال آلی اشاره کرد. در راستای رفع این مشکل، پژوهشگران به سمت استخراج با حجم‌های کم حلال آلی گرایش پیدا کرده‌اند که منجر به معرفی انواع روش‌های میکرواستخراج با فاز مایع[2] شده است. یکی از مهمترین روش‌های میکرواستخراج با فاز مایع[3] که تا به حال در آنالیز انواع ترکیبات در روغن‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند، میکرواستخراج مایع- مایع پخشی می‌باشد. این روش بر پایه‌ی سیستم سه حلالی شامل فاز آبی دارای آنالیت، حلال استخراج کننده و حلال پخش‌کننده استوار است. حلال پخش‌کننده بایستی هم با فاز آبی و هم با فاز آلی

1. Liquid- liquid extraction
2. Liquid phase microextraction
3. Dispersive Liquid- liquid microextraction

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

قابل‌امتزاج باشد که قابلیت پخش حلال استخراج‌کننده بصورت قطرات ریز را در فاز آبی داشته باشد. بر همین اساس حلال‌هایی نظیر اتانول، متانول، استونیتریل، دی‌متیل‌سولفوکسید، دی‌متیل‌فرمامید و است می‌توانند به عنوان حلال پخش‌کننده استفاده گردند. در این روش، مخلوط حلال‌های استخراج‌کننده و پخش‌کننده به سرعت توسط سرنگ به داخل فاز آبی حاوی آنالیت‌ها تزریق می‌شود. پخش شدن قطرات بسیار ریز حلال استخراج‌کننده در محلول آزمایشی سبب ایجاد سطح تماس بسیار بالایی بین حلال استخراج کننده و نمونه‌ی آبی می‌شود که تشکیل محلول ابری و کدر نشان‌دهنده‌ی این واقعیت می‌باشد. پس از سانتریفوژ، آنالیت‌های تغلیظ شده در فاز آلی با توجه به چگالی حلال آلی نسبت به آب در ته لوله سانتریفیوژ یا در سطح آن جمع شده و برای آنالیزهای بعدی مورد استفاده قرار می‌گیرد [2]. اگر این روش برای انتقال مواد از فاز آلی به فاز آبی استفاده شود در این صورت به آن، میکرواستخراج مایع- مایع پخشی معکوس گفته می‌شود. میکرواستخراج مایع- مایع کمک شده با امواج فراصوت، میکرواستخراج مایع- مایع کمک شده با ورتکس و میکرواستخراج مایع- مایع کمک شده با هوا مشابه میکرواستخراج مایع- مایع پخشی می‌باشند با این تفاوت که برای پخش کردن مقادیر میکرولیتری از حلال استخراج‌کننده در فاز آبی بجای استفاده از حلال پخش‌کننده، به ترتیب از امواج فراصوت [3]، ورتکس [4] و هوا [5] استفاده می‌شود.

در اکثر موارد، از یک حلال آلی بعنوان حلال استخراج‌کننده استفاده می‌شود ولی با توجه به سمیت این حلالها، محققین در تلاش‌اند که حلال‌های سبز را جایگزین حلال‌های آلی نمایند. از جمله حلالهای سبز که توجه محققین را به خود جلب کرده‌اند می‌توان به مایعات یونی و حلال‌های اتکتیک عمیق اشاره نمود.

2-1-1- مایعات یونی[4]

حلال‌های آلی مهمترین منبع ایجاد آلودگی زیست محیطی در صنایع شیمیایی و دارویی می باشند. در چند دهه اخیر، مایعات یونی به عنوان حلال‌های سبز توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. این ترکیبات که به طور عمده شامل یک کاتیون آلی نامتقارن حجیم و یک آنیون آلی یا معدنی هستند اگرچه ماهیت نمکی دارند ولی به علت عدم تقارن در ساختار مولکولی‌شان اغلب دارای نقطه ذوب پائینی هستند. مهمترین مزیت آنها این است که فشار بخار قابل ملاحظه‌ای ندارند به همین دلیل غیر فرار بوده و مشکلی برای محیط زیست ایجاد نمی‌کنند. بنابراین مایعات یونی می‌توانند جایگزینی مناسب برای حلال‌های آلی فرار باشند. البته این بدین معنی نمی باشد که مایعات یونی تماما جزء حلال‌های سبز محسوب می‌شوند، حتی بعضی از آنها شدیدا سمی هستند. مایعات یونی مغناطیسی نسبت به مایعات یونی غیرمغناطیسی این مزیت را دارند که در حضور میدان مغناطیسی براحتی از محلول جدا می‌شوند[6 و 7].

2-2-2- حلال‌های اتکتیک عمیق[5]

حلال های اتکتیک عمیق که جزء حلال‌های سبز و دوستدار طبیعت معرفی شده‌اند از یک یا چند جزء بعنوان دهنده پیوند هیدروژنی (HBD)[6] و یک یا چند جزء بعنوان پذیرنده پیوند هیدروژنی (HBD)[7] تهیه می‌شوند. نقطه ذوب این حلالها از نقطه ذوب اجزای سازنده آنها پایین‌تر می‌باشد که دلیل آن تشکیل پیوند هیدروژنی درون مولکولی می‌باشد. معمولا نمکهای فسفونیم چهارتایی یا آمونیوم چهارتایی بعنوان جزء پذیرنده پیوند هیدروژنی به کار می‌روند. کولین کلراید یک نمک آمونیوم چهارتایی است که تا به حال، بیشترین کاربرد را در سنتز حلال-های اتکتیک عمیق داشته است. زیرا کولین کلراید، یک نمک هالید آلی غیرسمی، زیست تخریب‌پذیر و ارزان است و حلال اتکتیک عمیق حاصل از آن برای بیشتر کاربردها مناسب می‌باشد. اتیلن گلیکول، فنول و مشتقات آن، گلیسرول، اوره و اسیدهای آلی معمولترین مواد به کار برده شده بعنوان اجزای دهنده پیوند هیدروژنی در سنتز این حلالها می‌باشند. خواص بی‌نظیر حلال-های اتکتیک عمیق (مثل زیست تخریب پذیری، فشار بخار کم و تهیه آسان آنها) باعث گردیده است محققین از آنها بعنوان حلال استخراج کننده در انواع روشهای استخراجی استفاده نمایند [8 و 9].

4. Ionic liquids

5. Deep eutectic solvents
6. Hydrogen bond donor
7. Hydrogen bond donor

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

2-2- استخراج با فاز جامد (SPE)[8]

اساس استخراج با فاز جامد شبیه استخراج مایع- مایع می‌باشد با این تفاوت که در استخراج مایع- مایع، آنالیت‌ها بین دو فاز مایع غیرقابل اختلاط توزیع می‌شوند ولی در استخراج با فاز جامد، توزیع آنالیت‌ها بین یک فاز مایع و یک فاز جامد (جاذب) صورت می‌گیرد. استخراج با فاز جامد به یکی از 2 حالت دینامیکی یا استاتیکی انجام می‌شود:

(الف) در حالت دینامیکی، جاذب داخل یک ستون قرار می‌گیرد و مراحل زیر جهت استخراج آنالیت‌ها اجرا می‌گردند:

(1) آماده سازی ستون با حلال مناسب تا هوای موجود در ستون خارج شده و فضاهای خالی با حلال، پر گردند. همچنین عامل فعال جاذب حلال‌پوشی شده و فعال گردد. (2) واردسازی نمونه آزمایشی به ستون تا آنالیتها جذب جاذب شوند. (3) پاکسازی نمونه آزمایشی تا ناخالصی‌های موجود در ماتریکس نمونه که در مرحله قبل جذب جاذب شده‌اند تا حد امکان با شستشو توسط یک حلال مناسب از ستون خارج شوند. (4) شستشوی آنالیت جهت واجذب شدن و انتقال آنالیت از فاز جامد به حجم کوچکی از فاز مایعی که مناسب برای آنالیز می‌باشد. استخراج فاز جامد کلاسیک به این شیوه اجرا می‌گردد [10].

(ب) در حالت استاتیکی، جاذب داخل محلول نمونه پخش می‌شود. بعد از جذب شدن آنالیت بر روی جاذب، با استفاده از صافی یا سانتریفیوژ، جاذب از محلول جدا می‌گردد. سپس با استفاده از یک حلال مناسب آنالیت‌ها از روی جاذب شسته (واجذب) می‌شوند. از جمله این روشها می‌توان به استخراج فاز جامد پخشی (DSPE)[9] [11] اشاره کرد. اگر جاذبها خاصیت مغناطیسی داشته باشند جداسازی آنها از محلول نمونه براحتی و در حضور یک میدان مغناطیسی می‌تواند صورت پذیرد که در این صورت به روش مذکور، استخراج فاز جامد مغناطیسی (MSPE)[10] [12] گفته می‌شود.

همچنین لازم به ذکر است که در راستای کاهش میزان مصرف جاذبها، میکرواستخراج فاز جامد (SPME)[11] معرفی گردیده است. میکرواستخراج فاز جامد، یک روش کاملا عاری از حلال است. در این روش، یک فیبر سیلیکای گداخته پوشش داده شده با مقادیر کمی از یک جاذب مناسب بعنوان فاز استخراج کننده استفاده می‌شود. برای اینکه آنالیت‌ها بتوانند جذب جاذب شوند، این فیبر در تماس مستقیم با محلول نمونه و یا در فضای فوقانی محلول نمونه قرار داده می‌شود. در مرحله بعد، واجذب آنالیت‌ها از روی فیبر به کمک یک حلال مناسب و یا بصورت حرارتی (معمولا هنگام آنالیز با کروماتوگرافی گازی) صورت می‌گیرد [13 و 14].

3- کاربرد روشهای مختلف استخراج در آنالیز ترکیبات گوناگون موجود در روغن‌های خوراکی

3-1- اندازه‌گیری باقیمانده آفت‌کش‌ها در روغن‌های خوراکی

امروزه کشاورزان انواع مختلف آفت‌کش‌ها را با هدف از بین بردن آفات، علف‌های هرز و عوامل آسیب رساننده به محصولات کشاورزی به صورت فزاینده‌ای مورد استفاده قرار می‌دهند. استفاده بی‌رویه از آفت‌کش‌ها، باعث انتقال آنها به آب‌های سطحی، محصولات کشاورزی و در نتیجه فرآورده‌های غذایی می‌شود. ورود این آفت‌کش‌ها به بدن انسان می‌تواند منجر به بروز سرطان، نارسایی‌های داخلی، مسمومیت‌های شدید و ... شود. از این رو کنترل و اندازه‌گیری باقی‌مانده‌ی آفت‌کش‌ها در فرآورده‌های غذایی ازجمله روغن‌های خوراکی از اهمیت بسیار زیادی برخوردار است. Amvrazi و Albanis، برای اندازه-گیری باقیمانده 35 آفت‌کش مختلف در روغن زیتون، ابتدا با استفاده از استخراج مایع- مایع، آفت‌کش‌ها را از روغن زیتون جداسازی نموده و سپس برای پاکسازی هر چه بیشتر عصاره استخراجی، از استخراج فاز جامد استفاده نموده‌اند [15]. روش انجام کار به این صورت است که ابتدا 5 گرم روغن زیتون با 5 میلی‌لیتر n-هگزان رقیق شده و سپس استخراج مایع- مایع با 10 میلی‌لیتر استونیتریل در 2 مرتبه انجام شده است. در مرحله پاکسازی، استونیتریل بدست آمده از مرحله قبل، از داخل یک ستون SPE (با جاذب کربن غیرمتخلخل گرافیتی) عبور داده شده

8. Solid phase extraction
9. Dispersive solid phase extraction
10. Magnetic solid phase extraction
11. Solid phase microextraction

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

است. برای واجذب آفت‌کش‌ها از روی جاذب، 12 میلی‌لیتر استونیتریل مورد استفاده قرار گرفته است. در مرحله آخر، استونیتریل تبخیر شده و باقیمانده در 0/5 میلی‌لیتر استون حاوی استاندارد داخلی حل شده و با کروماتوگرافی گازی (GC)[12] با دتکتور ربایش الکترونی (ECD)[13] و یا دتکتور نیتروژن- فسفر (NPD)[14] مورد آنالیز قرار گرفته است. گروه دیگری از محققین برای اندازه‌گیری باقیمانده‌ی 35 آفت‌کش (18 آفت‌کش اورگانوکلره، 12 آفت‌کش اورگانوفسفره و 5 حشره‌کش پایروتروئیدی) در روغن‌های خوراکی مختلف (روغن آفتابگردان، روغن سبوس برنج و روغن بادام زمینی)، ابتدا با استفاده از روش استخراج مایع- مایع باقیمانده‌ی آفت‌کش‌ها را از روغن استخراج و جداسازی نموده و در مرحله بعد برای پاکسازی هر چه بیشتر عصاره استخراجی از ماتریکس روغنی، از استخراج فاز جامد پخشی استفاده کرده‌اند [16]. روش انجام کار به این صورت است که ابتدا روی 5 گرم روغن، محلول پنتاکلروبنزن در استونیتریل (بعنوان استاندارد داخلی) اضافه شده و مخلوط حاصله به مدت 3 دقیقه ورتکس گردیده است. پس از قرار گرفتن مخلوط حاصله به مدت یک ساعت در دمای اتاق، استخراج مایع- مایع با 10 میلی‌لیتر استونیتریل اجرا شده است. جهت افزایش تکرارپذیری روش، استونیتریل حاصل از این مرحله تحت گاز نیتروژن تبخیر شده و باقی‌مانده مجددا در 3 میلی‌لیتر استونیتریل حل شده است. برای اجرای استخراج فاز جامد پخشی، محلول استونیتریلی حاصل از مرحله قبل بر روی مقدار مشخصی از 3 نوع جاذب (150 میلی‌گرم آمین نوع دوم و 300 میلی‌گرم سولفات منیزیم و 40 میلی‌گرم زغال فعال) افزوده شده و مخلوط حاصله به مدت 5 دقیقه ورتکس گردیده است تا دیگر اجزای روغن تا حد امکان جذب این جاذبها شده و از آفت‌کش‌ها جدا گردند. پس از سانتریفیوژ، جاذبها ته‌نشین شده و فاز استونیتریلی به راحتی جمع‌آوری و سپس تحت گاز نیتروژن تبخیر گردیده است. در نهایت باقی‌مانده در 400 میکرولیتر اتیل‌استات حل شده و با سیستم کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی-اسپکترومتری جرمی (GC-MS/MS)[15] مجهز به ستون کاپیلاری سیلیکا مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص روش در محدوده 1-0/01 نانوگرم بر گرم گزارش شده است. Hu و همکارانش جهت اندازه‌گیری 12 آفت‌کش مختلف (2 حشره‌کش کاربامات، 1 حشره‌کش پایروتروئید، 2 قارچ‌کش و 7 حشره‌کش اورگانوفسفره) و 2 آنتی‌اکسیدان (بوتیل‌هیدروکسی‌آنیزول و بوتیل‌هیدروکسی‌تولوئن) در انواع روغن‌های خوراکی، ابتدا با استفاده از روش استخراج مایع- مایع باقیمانده‌ی آفت‌کش‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها را از روغن جداسازی نموده و سپس از استخراج فاز جامد پخشی برای پاکسازی عصاره استخراجی استفاده نموده‌اند [17]. بدین منظور ابتدا جهت اجرای استخراج مایع-مایع، بر روی 5 گرم از نمونه روغن، 10 میلی‌لیتر استونیتریل اضافه کرده و به مدت 6 دقیقه ورتکس می‌شود. پس از سانتریفیوژ، لایه بالایی (استونیتریل) را برداشته و در دمای ^{o}C 20- به مدت 4 ساعت نگه‌داری کرده‌اند تا چربی انتقال یافته به فاز استونیتریل تا حد امکان رسوب کند. سپس 5 میلی‌لیتر از فاز رویی را برداشته و بعد از خشک کردن آن تحت گاز نیتروژن، باقی مانده را در 1 میلی‌لیتر استونیتریل حل کرده‌اند. در مرحله بعد جهت اجرای استخراج فاز جامد پخشی، به داخل استونیتریل بدست آمده از مرحله اول، مقدار معینی جاذب (80 میلی‌گرم آمین نوع دوم و 20 میلی‌گرم کربن سیاه گرافیته شده) ریخته و به مدت 2 دقیقه در ورتکس کردند. در این مرحله اجزای ماتریکس انتقال یافته به داخل استونیتریل، جذب جاذبها شده و از آنالیتها جدا می‌شوند. پس از سانتریفیوژ، فاز رویی جهت آنالیز با دستگاه GC-MS[16] مورد استفاده قرار گرفته است. محدوده حد تشخیص روش 0/04-0/002 میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است. Arino و همکارانش برای اندازه‌گیری 10 آفت‌کش اورگانوکلره، 7 آفت‌کش اورگانوفسفره و 6 ترکیب مختلف پلی‌کلره‌بی‌فنیل (PCB) [17] در روغن زیتون از استخراج فاز جامد چند ستونی استفاده کرده‌اند [18]. روش انجام کار به این صورت است که ابتدا 15 گرم روغن را با 25 میلی‌لیتر *n*-هگزان رقیق نموده و سپس 3 میلی‌لیتر از این محلول را از یک ستون EXtrelut (ستون‌های EXtrelut، ستون‌هایی هستند که از دیاتومیت‌ها که خاکهایی با جداره سیلیسی و دارای منافذ بزرگ هستند پر شده‌اند). به مدت 10 دقیقه عبور دادند تا آفت‌کش‌ها و

12. Gas chromatography
13. Electron capture detector
14. Nitrogen–phosphorus detector
15. Gas chromatography–tandem mass spectrometry
16. Gas chromatography– mass spectrometry
17. Polychlorinated biphenyl

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

ترکیبات پلی‌کلره‌بی‌فنیل‌های موجود در روغن با جذب روی ستون از روغن جدا شوند. برای واجذب آنالیت‌ها از روی ستون، 20 میلی‌لیتر استونیتریل اشباع شده با *n*-هگزان به کار برده شده است. در مرحله بعد برای پاکسازی عصاره استخراجی، از یک ستون SPE با جاذب اکتادسیل (C_{18}) استفاده شده است. برای شستشوی آنالیتها از روی این ستون، مجددا 20 میلی‌لیتر استونیتریل اشباع شده با *n*-هگزان استفاده شده است. چون پاکسازی انجام یافته تا این مرحله برای اندازه‌گیری آفت‌کش‌های اورگانوفسفره کافی می‌باشد بنابراین بخشی از محلول حاصل از شویش، پس از خشک شدن تحت گاز نیتروژن و انحلال مجدد باقیمانده در 3 میلی‌لیتر *n*-هگزان، برای آنالیز با GC-NPD مورد استفاده قرار گرفته است. از آنجائیکه برای اندازه‌گیری آفت‌کش‌های اورگانوکلره و ترکیبات پلی‌کلره‌بی‌فنیل‌ها، پاکسازی بیشتری مورد نیاز است در نتیجه بخش دیگری از محلول حاصل از شویش، مجددا از یک ستون SPE با جاذب آلومینای خنثی، عبور داده شده است. برای واجذب آنالیتها از روی این ستون، 20 میلی‌لیتر محلول 20% حجمی- حجمی دی‌کلرومتان در *n*-هگزان مورد استفاده قرار گرفته است. پس از خشک کردن محلول شویش تحت گاز نیتروژن و انحلال مجدد باقیمانده در 3 میلی‌لیتر *n*-هگزان، برای آنالیز با GC-ECD مورد استفاده قرار گرفته است. Song و همکارانش برای استخراج باقیمانده علف‌کش‌های تریازین از انواع روغن‌های گیاهی (سویا، ذرت و تخم آفتابگردان) از روش میکرواستخراج مایع- مایع مغناطیسی کمک شده با امواج فراصوت بهره برده‌اند [19]. آنها در این کار، از یک مایع یونی مغناطیسی (MIL)[18] بنام 1- بوتیل-3- متیل ایمیدازولیوم تتراکلرو فرات استفاده کرده‌اند. بدین منظور بر روی یک میلی‌لیتر روغن رقیق شده با 7 میلی‌لیتر *n*-هگزان،90 میکرولیتر 1- بوتیل-3- متیل ایمیدازولیوم تتراکلرو فرات بعنوان حلال استخراج‌کننده ریخته و مخلوط حاصله را به مدت 7 دقیقه تحت امواج فراصوت قرار داده‌اند تا مایع یونی مغناطیسی به خوبی در محلول روغنی *n*-هگزان پخش شود. سپس به منظور افزایش قدرت مغناطیسی مایع یونی و در نتیجه کاهش زمان جداسازی فازها، 400 میلی‌گرم پودر آهن کربونیل (CIP)[19] به محلول اضافه کرده و مخلوط به مدت 30 ثانیه هم‌زده شده تا CIP-MIL تشکیل شود. سپس با استفاده از یک آهنربای قوی، CIP-MIL را از محلول روغنی جدا نموده‌اند. در مرحله بعد، برای جداکردن مایع یونی مغناطیسی از پودر آهن کربونیل، CIP- MILها سه مرتبه با 500 میکرولیتر *n*-هگزان شسته و برای حل کردن 1- بوتیل-3- متیل ایمیدازولیوم تترا کلرو فرات، 1/5 میلی‌لیترآب مقطر به آن اضافه نموده و به مدت 4 دقیقه هم‌زده‌اند. سپس برای استخراج آنالیت‌ها از آب، 1/5 میلی‌لیتر اتیل‌استات را به آن اضافه کرده و پس از هم‌زدن مخلوط حاصل، لایه بالایی (اتیل‌استات) به لوله‌ای دیگر منتقل شده و تحت گاز نیتروژن در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تبخیر گردیده است. نهایتا باقی‌مانده در 100 میکرولیتر استونیتریل حل شده و پس از عبور از یک غشا نایلونی با ضخامت 0/22 میکرومتر، توسط کروماتوگرافی مایع (LC)[20] آنالیز شده است. مراحل کار در شکل 1 نشان داده شده است. حد تشخیص روش 1/49-1/31 نانوگرم برمیلی‌لیتر گزارش شده است. فرجزاده و همکارانش برای اندازه-گیری باقیمانده حشره‌کش‌های پایروتروئیدی در انواع روغن‌های خوراکی از استخراج مایع- مایع (جهت جداسازی باقیمانده آفت-کش‌ها از روغن) به همراه میکرواستخراج مایع- مایع پخشی (جهت تغلیظ سازی) استفاده نموده‌اند [20]. بدین منظور، ابتدا 0/5 میلی‌لیتر روغن با 4/5 میلی‌لیتر *n*-هگزان رقیق-سازی شده و سپس برای اجرای استخراج مایع- مایع، 1 میلی‌لیتر دی‌متیل‌فرمامید (DMF)[21] بعنوان حلال استخراج‌کننده استفاده شده است. در مرحله بعدی برای اجرای میکرواستخراج مایع- مایع پخشی، 20 میکرولیتر از حلال 1، 1 و 2- تری‌کلرواتان به 0/6 میلی‌لیتر DMF حاصل از مرحله قبل اضافه شده و به 5 میلی‌لیتر محلول آبی سدیم کلرید 15% وزنی- حجمی تزریق گردیده است. از آنجائیکه DMF کاملا امتزاج‌پذیر با آب است بنابراین در این مرحله، DMF در آب حل شده و آفت‌کش‌های موجود در آن به داخل 1، 1 و 2- تری-کلرواتان انتقال یافته و تغلیظ می‌شوند. بعد از سانتریفیوژ، فاز زیری با کروماتوگرافی گازی با آشکارساز یونیزاسیون شعله‌ای (GC-FID)[22] مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص روش در محدوده‌ی 0/17-0/02 میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش شده است.

18. Magnetic ionic liquid
19. Carbonyl iron powder
20. Liquid chromatography
21. Dimethylformamide
22. Gas chromatography- flame ionization detector

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

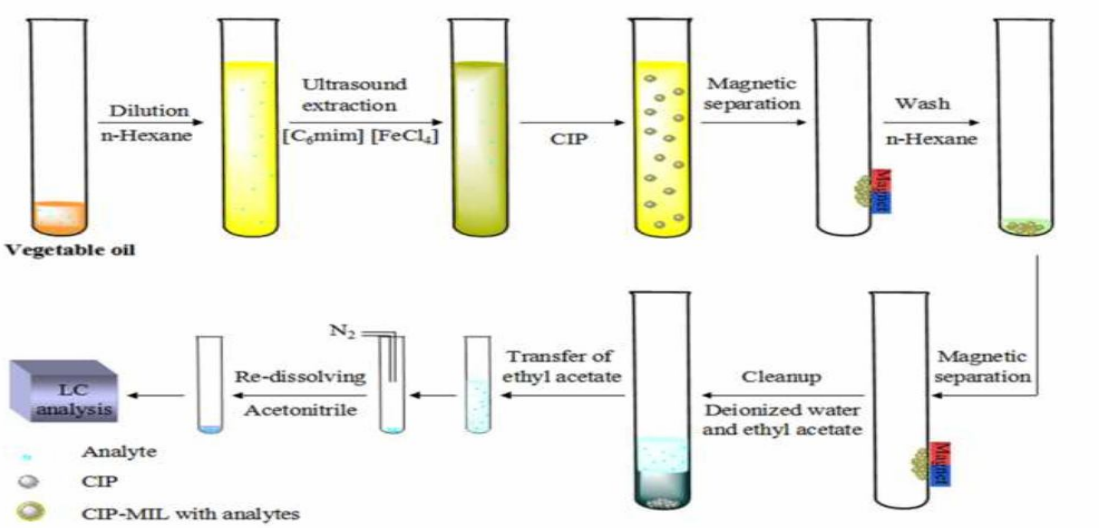

Fig 1 Schematic diagram of the magnetic ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction procedure for the determination of triazine herbicides in vegetable oils [19]

2-3- اندازه‌گیری آنتی‌اکسیدان‌ها در روغن‌های خوراکی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی یکی از ویژگی‌های مهم محصولات طبیعی است و نشان دهنده ارزش غذایی و کیفیت این محصولات می‌باشد. هر چه این محصولات غنی از آنتی‌اکسیدان باشند مصرف آنها برای سلامتی انسان مفید است. Nikokavoura و همکارانش فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات چرب‌دوست و آب‌دوست مختلف را در روغن‌های خوراکی با استفاده از یک روش فلوریمتری بررسی کرده‌اند [21]. اساس کار آنها، اندازه‌گیری شدت نشر فلورسانس N-متیل‌آکریدون حاصل از واکنش بین لوسیژنین با پراکسید هیدروژن مطابق با شکل 2 می‌باشد.

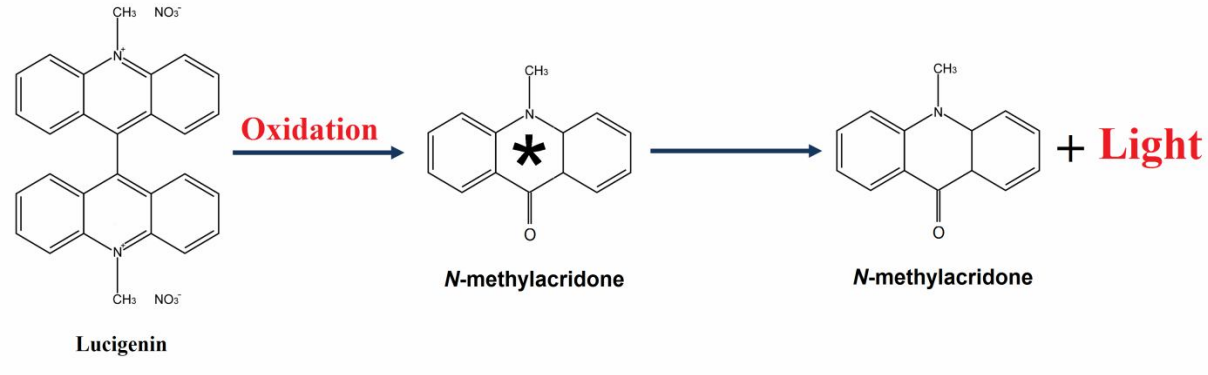

Fig 2 The reaction between lucigenin and hydrogen peroxide

حضور آنتی‌اکسیدانها در نمونه مانع از اکسایش لوسیژنین شده و در نتیجه منجر به کاهش غلظت N-متیل‌آکریدون تولیدی و شدت فلورسانس حاصله می‌شود. منتها قبل از اینکه از واکنش مذکور برای اندازه‌گیری غلظت آنتی‌اکسیدانهای موجود در روغن‌ها استفاده شود باید این ترکیبات از روغن مورد نظر استخراج گردند. بدین منظور، Nikokavoura و همکارانش از استخراج مایع- مایع استفاده نمودند. روش کار آنها به این صورت است که پس از رقیق‌سازی 10 میلی‌لیتر نمونه روغن با 50 میلی‌لیتر *n*-هگزان، 50 میلی‌لیتر محلول آب/متانول (با درصد حجمی 40 به 60) بعنوان حلال استخراج‌کننده مورد استفاده قرار

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

گرفته است. پس از تبخیر حلال استخراج‌کننده با استفاده از یک روتاری تحت خلا در دمای 50 درجه سانتی‌گراد، ترکیبات باقی‌مانده در 2-پروپانول حل شده و با استفاده از واکنش ذکر شده در بالا و دستگاه اسپکتروفلوریمتر، مورد آنالیز قرار گرفته‌اند. ترشیو بوتیل هیدروکینون (TBHQ)[23] یکی از معمولترین آنتی‌اکسیدان‌هایی است که به عنوان نگهدارنده به مواد غذایی از جمله روغن‌های خوراکی اضافه می‌شود. اما اگر بیش از حد مجاز به مواد غذایی اضافه شود می‌تواند مشکلاتی از جمله ایجاد تومور معده و آسیب رساندن به DNA را همراه داشته باشد. بهمین دلیل کنترل مقدار آن در روغن‌های خوراکی از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. Liu و همکارانش برای استخراج ترشیو بوتیل هیدروکینون از روغن‌های خوراکی مختلف (سویا، آفتابگردان و مخلوط آنها) از میکرواستخراج مایع-مایع کمک شده با امواج فراصوت بر پایه حلال‌های اتکتیک عمیق استفاده نموده‌اند [22]. آنها ابتدا حلال اتکتیک عمیق اتیلن گلیکول/کولین‌کلراید (با نسبت مولی2 به 1) را سنتز نموده و سپس400 میکرولیتر از آن را بر روی 0/15 گرم نمونه روغن رقیق شده با 3 میلی‌لیتر *n*- هگزان اضافه کرده و مخلوط حاصل به مدت 20 دقیقه در حمام اولتراسونیک قرار گرفته است. پس از سانتریفیوژ، 200 میکرولیتر از فاز زیری با کروماتوگرافی مایع دارای آشکارساز جذبی فرابنفش (HPLC-UV)[24] مجهز به ستون C_{18} مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص روش 0/02 میکروگرم بر میلی‌لیتر گزارش شده است.

رزوراترول (۳،۵،4′- تری‌هیدروکسی استیلبن)[25]، یک فیتوالکسین است که توسط گیاهان وسیعی از جمله انگور، زغال اخته، پسته و بادام زمینی تولید می‌شود. به علت مزایای آن در سلامت انسان، از جمله اثر آنتی اکسیدانی، ضد درد، اثر حفاظتی قلبی عروقی، پیشگیری از سرطان و ضد عفونی کننده، طی چند دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است. رزوراترول که نوعی پلی فنول است در دو فرم ایزومری سیس و ترانس وجود دارد ولی عمدتا ایزومر ترانس آن در گیاهان وجود دارد و فعالیت زیست شناختی آن نسبت به ایزومر سیس بیشتر است. گروهی از محققین برای اندازه‌گیری مقدار رزوراترول موجود در روغن بادام زمینی از استخراج فاز جامد استفاده نموده‌اند [23]. بدین منظور ابتدا 2 گرم روغن در 10 میلی‌لیتر *n*- هگزان حل شده و سپس 2 میلی‌لیتر از این محلول از ستون SPE که دارای 300 میلی‌گرم دانه گرده بعنوان جاذب است عبور داده شده است. با ایجاد پیوند هیدروژنی بین رزوراترول و دانه‌های گرده، رزوراترول جذب جاذب می‌شود در حالیکه دیگر اجزای ماتریکس روغن (همچون لیپیدهای غیرقطبی و خنثی) بدون جذب شدن، ستون را ترک می‌کنند. پس از شستن ستون با 3 میلی‌لیتر محلول *n*- هگزان/2-پروپانول (با نسبت حجمی80 به20) برای حذف سایر ترکیبات احتمالی جذب شده بر روی جاذب، 1/5 میلی‌لیتر اتانول برای واجذب رزوراترول از روی جاذب مورد استفاده قرار گرفته است. محلول بدست آمده، تحت گاز نیتروژن در در دمای 35 درجه سانتیگراد خشک شده و پس از حل کردن باقی‌مانده در200 میکرولیتر 2-پروپانول، با دستگاه HPLC-UV دارای ستون C_{18} مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص گزارش شده در این کار تحقیقاتی، 2/7 نانوگرم بر گرم می‌باشد. در کار دیگری Li و همکارانش برای اندازه‌گیری رزوراترول در انواع روغن‌های خوراکی (بادام زمینی، کاملیا، زیتون، هسته انگور، شلغم، ذرت و آفتابگردان) از روش استخراج فاز جامد مغناطیسی برای استخراج، تغلیظ و پاکسازی اجزای ماتریکس بهره برده‌اند [24]. بدین منظور، بر روی 1 گرم نمونه روغن رقیق‌سازی شده با 10 میلی‌لیتر *n*-هگزان، 5 میلی‌گرم جاذب مغناطیسی (نانوتیوب-کربنی چند جداره مغناطیسی) اضافه شده و مخلوط حاصله در یک ورتکس به مدت 3 دقیقه بشدت هم زده شده تا رزوراترول جذب جاذب شود. جاذب بعد از جداسازی از محلول روغنی به کمک یک آهنربا، توسط 1 میلی‌لیتر اترنفت شسته شده است تا دیگر اجزای ماتریکس تا حد امکان از روی جاذب واجذب گردند. در مرحله بعد، شستشوی آنالیتها از روی جاذب به کمک 1 میلی‌لیتر متانول صورت گرفته است. محلول نهایی بوسیله کروماتوگرافی مایع- اسپکترومتر جرمی/جرمی (LC-MS/MS) مجهز به ستون C_{18} مورد آنالیز قرارگرفته است.

23. Tert-butylhydroquinone
24. High-performance liquid chromatography-ultraviolet detector
25. 3,5,4'-trihydroxystilbene

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

3-3- اندازه‌گیری مایکوتوکسین‌ها[26] در روغن‌های خوراکی

مایکوتوکسین‌ها ترکیبات آلی سمی هستند که به وسیله چندین گونه قارچ تولید می‌شوند. این ترکیبات سرطان‌زا وجهش‌زا بوده و باعث مرگ و بیماری‌های مزمن می‌شوند. مایکوتوکسین‌ها همچون تریکوتسین‌ها[27]، آفلاتوکسین‌ها[28]، دی اکسی نیوالنول[29] و زئیرالنون[30] در روغن‌های گیاهی انباشته می‌شوند [25]. Majerus و همکارانش برای اندازه‌گیری زئیرالنون در روغن‌های خوراکی، از استخراج مایع-مایع استفاده نموده‌اند [26]. روش کار به این صورت است که ابتدا 2 گرم نمونه روغن در 2 میلی‌لیتر *n*-هگزان حل شده و سپس 20 میلی‌لیتر محلول قلیایی متانول/آب (متانول و محلول 10 گرم بر لیتر آمونیوم‌کاربامات با pH=9، با نسبت حجمی 9 به 1) بعنوان حلال استخراج‌کننده به آن اضافه گردیده و به مدت 15 دقیقه هم‌زده شده است. پس از جداسازی فاز استخراجی و تنظیم pH آن بوسیله هیدروکلریک اسید روی 7/5، 5 میلی‌لیتر از این محلول در دمای 40 درجه سانتیگراد خشک شد و باقی‌مانده در 1 میلی‌لیتر فاز متحرک HPLC (آب/استونیتریل 48%) حل گردیده و برای آنالیز به دستگاه کروماتوگرافی مایع با آشکارساز فلورسانس (HPLC-FLD) تزریق شده است. افضلی وهمکارانش برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین‌ها (B1، B2، G1 وG2) در روغن‌های خوراکی مختلف (بادام، کنجد، سویا، نارگیل، گردو و پسته) از سه روش استخراج مایع-مایع، استخراج با فاز جامد و میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به ترتیب برای جداسازی آفلاتوکسین‌ها را از روغن‌های خوراکی، پاکسازی اثرات ماتریکس و تغلیظ هر چه بیشتر آنالیتها استفاده نموده‌اند [27]. روش کار به این صورت است که ابتدا 5 گرم نمونه روغن، در یک لوله سانتریفیوژ 50 میلی‌لیتری قرار داده شده و استخراج مایع-مایع توسط 25 میلی‌لیتر محلول متانول/آب (با نسبت حجمی 6 به 4) حاوی 1 گرم نمک سدیم کلرید اجرا شده است. در مرحله پاکسازی، فاز استخراجی بدست آمده از این مرحله، پس از چندین مرتبه عبور دادن از کاغذ صافی از یک ستون ایمونوفیلی عبور داده شده تا آفلاتوکسین‌ها جذب این ستون شوند. پس از شستن اجزای ماتریکس از روی جاذب با عبور حلالهای مناسب، واجذب آفلاتوکسین‌ها از روی ستون با استفاده از 5 میلی‌لیتر محلول بافر فسفات با pH=7/4 که شامل 500 میکرولیتر استونیتریل (بعنوان حلال پخش‌کننده در مرحله بعد) و 0/5 میلی‌لیتر سدیم نیترات ($NaNO_3$) 10% می‌باشد صورت گرفته است. در مرحله سوم از روش میکرواستخراج مایع-مایع پخشی جهت تغلیظ هر چه بیشتر آفلاتوکسین‌ها استفاده شده است. بدین منظور بر روی محلول بدست آمده از مرحله دوم، 120 میکرولیتر کلروفرم (به عنوان حلال استخراج‌کننده) به سرعت تزریق شده تا کلروفرم به صورت قطرات ریز در این محلول پخش شده و بتواند آفلاتوکسین‌ها را به داخل خود استخراج نماید. پس از تبخیر کلروفرم حاصل از این مرحله در حمام آب‌جوش، باقی‌مانده در 100 میکرولیتر محلول متانول/آب (با نسبت حجمی 6 به 4) حل شده و برای آنالیز با دستگاه HPLC-FLD مورد استفاده قرار گرفته است.

3-4- اندازه‌گیری فلزات سنگین در روغن‌های خوراکی

فلزات سنگین باعث افزایش میزان اکسیداسیون در روغن‌ها می‌شوند، همچنین سمیتشان و نقش متابولیتی آن‌ها مهم است. بنابراین ارائه روش‌های تجزیه‌ای سریع و دقیق برای اندازه‌گیری مقادیر فلزات سنگین در روغن‌های خوراکی از نیازهای ضروری برای کنترل سالم بودن غذاها می‌باشد [25]. Baran و Bagdat برای اینکه بتوانند غلظت مس (II) را در روغن‌های خوراکی زیتون، آفتابگردان، ذرت، کلزا و فندق مشخص نمایند از روش استخراج مایع-مایع استفاده کرده‌اند [28]. به این صورت که هر یک از نمونه‌های روغن را با محلول N و N- بیس- (5 – متوکسی- سالیسیلیدین) - 2- هیدروکسی - 1 و3 – پروپان‌دی‌آمین در اتانول/ آب (18% حجمی- حجمی) مخلوط کرده و در دمای 26/7 درجه سانتیگراد به مدت تقریبا 6 دقیقه هم‌زده‌اند. در این مرحله N و N- بیس- (5 – متوکسی- سالیسیلیدین) - 2- هیدروکسی - 1 و3 – پروپان‌دی‌آمین بعنوان لیگاند عمل کرده و با مس (II) مطابق با واکنش نشان داده شده

26. Mycotoxine
27. Thrichothecenes
28. Aflatoxins
29. Deoxynivalenol
30. Zearalenone

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

در شکل 3 ایجاد کمپلکس می‌کند. کمپلکس حاصله به فاز اتانول/آب انتقال یافته و به این ترتیب مس (II) از روغن استخراج می‌گردد. در مرحله بعد، فاز استخراجی برای آنالیز با دستگاه اسپکترومتر جذب اتمی شعله‌ای مورد استفاده قرار گرفته است.

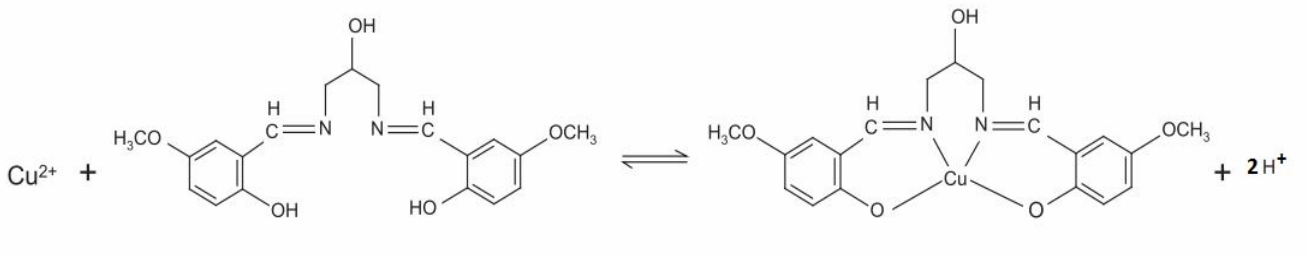

Fig 3 The complexation reaction between Cu(II) and N,N'-bis(5-methoxy-salicylidene)-2-hydroxy-1,3-propanediamine [28]

Hernández-Córdoba و همکارانش برای اندازگیری کادمیم و سرب موجود در انواع روغن‌های خوراکی، از میکرواستخراج مایع-مایع پخشی معکوس استفاده نموده‌اند [29]. روش انجام کار به این صورت است که 75 میکرولیتر محلول آبی اسید نیتریک (3% حجمی-حجمی) بعنوان حلال استخراج‌کننده انتخاب گردیده و به کمک 300 میکرولیتر ایزوپروپیل الکل (بعنوان حلال پخش‌کننده) در داخل 10 گرم نمونه روغن حرارت داده شده تا دمای 80 درجه سانتی‌گراد، پخش شده است. بعد از سانتریفیوژ، فاز آبی توسط یک اسپکترومتر جذب اتمی الکتروترمال مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص روش برای کادمیم 0/6 نانوگرم بر کیلوگرم و برای سرب 10 نانوگرم بر کیلوگرم گزارش شده است. Tang و همکارانش برای استخراج آرسنیک و سرب از انواع روغن‌های گیاهی (آفتابگردان، ذرت، شلغم، هسته کاملیا، بادام زمینی، سویا، گردو و روغن‌های ترکیبی) از استخراج مایع- مایع کمک شده با ورتکس استفاده نموده و سپس برای آنالیز همزمان آرسنیک و سرب موجود در عصاره استخراجی، از تکنیک تولید هیدرید همراه با اسپکترومتری فلورسانس اتمی[31] بهره برده‌اند [30]. برای اجرای مرحله استخراج، بر روی 5 گرم نمونه روغن، 10 میلی‌لیتر اسیدنیتریک رقیق (1% وزنی- وزنی) بعنوان حلال استخراج‌کننده اضافه کرده و بوسیله ورتکس به مدت 15 دقیقه هم‌زده‌اند. پس از سانتریفیوژ مخلوط حاصله در دمای 20 درجه سانتیگراد، فاز آبی (فاز پایینی) برای آنالیز مورد استفاده قرار گرفته است. حدتشخیص روش برای آرسنیک و سرب به ترتیب 0/6 و 0/4 میکروگرم بر کیلوگرم گزارش شده است.

3-5- اندازه‌گیری سایر ترکیبات در روغن‌های خوراکی

Cert و همکارانش برای اندازه‌گیری فنول‌ها، فلاون‌ها[32] و لیگنان‌ها[33] در روغن زیتون از استخراج فاز جامد همراه با HPLC دارای آشکارساز فرابنفش آرایه‌دیودی استفاده کرده‌اند [31]. آنها ابتدا محلول پاراهیدروکسی فنیل استیک و ارتوکوماریک اسید[34] در متانول را به عنوان استاندارد داخلی تهیه نموده‌اند. سپس به 2/5 گرم از روغن زیتون عبور داده شده از کاغذ صافی، 0/5 میلی‌لیتر از این محلول استاندارد را اضافه کرده و محلول حاصله را در یک تبخیرکننده روتاری در دمای 40 درجه سانتیگراد تحت خلا تبخیر نموده و باقی‌مانده روغنی را در 6 میلی‌لیتر *n*-هگزان حل کرده‌اند. برای استخراج آنالیت‌های قطبی، محلول روغنی *n*-هگزان از ستون SPE با فاز جاذب دی‌ال پیوند داده شده عبور داده شد و شستشوی آنالیت‌ها از روی جاذب توسط 10 میلی‌لیتر متانول صورت گرفت. پس از خشک کردن محلول بدست آمده از این مرحله در یک تبخیرکننده روتاری در دمای اتاق، باقی‌مانده در 500 میکرولیتر محلول آب/متانول (با درصد حجمی1 به 1) در دمای 40 درجه سانتیگراد حل شده و 20 میکرولیتر از آن به HPLC مجهز به ستون

31. Hydride generation atomic fluorescence spectrometry

32. Flavones
33. Lignans
34. o-Coumaric acids

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

سیلیکاژل تزریق گردیده است. برای استخراج فنول‌ها، ستون SPE با فاز جاذب آمینو استفاده شده است و شویش آنالیت‌ها از روی این ستون با استفاده از محلول متانول/هیدروکلریک اسید غلیظ (با نسبت حجمی 98 به 2) صورت گرفته است. حسینی و همکارانش برای اندازه‌گیری آمیگدالین در نمونه روغن، از میکرواستخراج مایع-مایع معکوس کمک شده با ورتکس استفاده نموده‌اند [32]. بدین منظور ابتدا 0/5 میلی‌لیتر روغن با 0/5 میلی‌لیتر سیکلوهگزان رقیق شده و سپس 75 میکرولیتر آب دیونیزه به عنوان حلال استخراج کننده به آن اضافه گردیده است. مخلوط حاصله به مدت 2 دقیقه در ورتکس قرار داده شد تا آمیگدالین موجود در روغن به داخل آب انتقال یابد. پس از سانتریفیوژ، 10 میکرولیتر از فاز آبی برداشته شده و به HPLC-UV/Vis با ستون C_{18} تزریق گردیده است. حدتشخیص گزارش شده 0/02 میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. در یک کار تحقیقاتی دیگر، برای اندازه‌گیری استرهای فتالات در روغن‌های مختلف از استخراج مایع- مایع کمک شده با هوا (جهت جداسازی استرهای فتالات از روغن‌ها) و میکرو استخراج مایع- مایع پخشی (جهت غلیظ‌سازی) استفاده شده است [33]. روش انجام کار به این صورت است که ابتدا 0/5 میلی‌لیتر روغن با 4/5 میلی‌لیتر محلول n-هگزان/کلروفرم رقیق‌سازی شده و سپس 1 میلی‌لیتر دی‌متیل‌سولفوکسید (DMSO) بعنوان حلال استخراج‌کننده برای اجرای استخراج مایع- مایع کمک شده با هوا استفاده شده است. فاز زیری حاصل از این مرحله به 10 میلی‌لیتر محلول آبی حاوی سدیم‌کلرید 15% وزنی- حجمی تزریق گردیده تا حلال DMSO در آب حل شده و استرهای فتالات در کلروفرم تجمع یابند. پس از خشک کردن فاز زیری حاصل از این مرحله، باقیمانده در 10 میکرولیتر متانول حل شده و با GC-FID مورد آنالیز قرار گرفته است. حد تشخیص روش در محدوده‌ی 0/023-0/007 میکروگرم بر لیتر گزارش شده است.

4- نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت کنترل کیفیت روغن‌های خوراکی، روشهای مختلفی توسط محققین در این راستا ارائه شده‌اند. آنالیز انواع ترکیبات موجود در روغن‌ها به دلیل ماتریکس پیچیده آنها به راحتی امکان‌پذیر نیست و نیازمند استفاده از روشهای جداسازی و حذف اثرات ماتریکس می‌باشد. در این مقاله، تعدادی از معمولترین روشهای به کار گرفته شده در این راستا مورد بررسی و جمع‌بندی قرار گرفت تا زمینه فعالیت برای محققین علاقمند به پژوهش در این حوزه هموار گردد تا با ارائه روشهای استخراج جدید ساده، کم هزینه و سریع بتوانند تحولات موثر در آنالیز روغن‌ها ایجاد نمایند.

5- منابع

[1] Homma, R., Suzuki, K., Cui, L., McClements, D. J., and Decker, E. A. (2015). Impact of association colloids on lipid oxidation in triacylglycerols and fatty acid ethyl esters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(46), 10161-10169.

[2] Rezaee, M., Yamini, Y., and Faraji, M. (2010). Evolution of dispersive liquid–liquid microextraction method. *Journal of Chromatography A*, *1217*(16), 2342-2357.

[3] Regueiro, J., Llompart, M., Garcia-Jares, C., Garcia-Monteagudo, J. C., and Cela, R. (2008). Ultrasound-assisted emulsification–microextraction of emergent contaminants and pesticides in environmental waters. *Journal of Chromatography A*, *1190*(1-2), 27-38.

[4] Jia, C., Zhu, X., Wang, J., Zhao, E., He, M., Chen, L., and Yu, P. (2010). Extraction of pesticides in water samples using vortex-assisted liquid–liquid microextraction. *Journal of Chromatography A*, *1217*(37), 5868-5871.

[5] Farajzadeh, M. A., and Khoshmaram, L. (2013). Air-assisted liquid–liquid microextraction-gas chromatography-flame ionisation detection: A fast and simple method for the assessment of triazole pesticides residues in surface water, cucumber, tomato and grape juices samples. *Food Chemistry*, *141*(3), 1881-1887.

[6] Berthod, A., Ruiz-Ángel, M. J., and Carda-Broch, S. (2018). Recent advances on ionic liquid uses in separation techniques. *Journal of Chromatography A*, *1559*, 2-16.

[7] Yu, H., Merib, J., and Anderson, J. L. (2016). Faster dispersive liquid-liquid microextraction methods using magnetic ionic

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

chromatography with nitrogen phosphorus detection and electron capture detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(26), 9642-9651.

[16] Deme, P., Azmeera, T., Devi, B. P., Jonnalagadda, P. R., Prasad, R. B. N., and Sarathi, U. V. (2014). An improved dispersive solid-phase extraction clean-up method for the gas chromatography–negative chemical ionisation tandem mass spectrometric determination of multiclass pesticide residues in edible oils. *Food Chemistry*, *142*, 144-151.

[17] Fang, Y., Tian, W., Pei, F., Li, P., Shao, X., Fan, Y., and Hu, Q. (2017). Simultaneous determination of pesticide residues and antioxidants in blended oil using a liquid-liquid extraction combined with dispersive solid phase extraction method. *Food Chemistry*, *229*, 347-353.

[18] Yagüe, C., Bayarri, S., Conchello, P., Lázaro, R., Pérez-Arquillué, C., Herrera, A., and Ariño, A. (2005). Determination of pesticides and PCBs in virgin olive oil by multicolumn solid-phase extraction cleanup followed by GC-NPD/ECD and confirmation by ion-trap GC− MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(13), 5105-5109.

[19] Wang, Y., Sun, Y., Xu, B., Li, X., Jin, R., Zhang, H., and Song, D. (2014). Magnetic ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of triazine herbicides in vegetable oils by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, *1373*, 9-16.

[20] Farajzadeh, M. A., Khoshmaram, L., and Nabil, A. A. A. (2014). Determination of pyrethroid pesticides residues in vegetable oils using liquid–liquid extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–flame ionization detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, *34*(2), 128-135.

[21] Nikokavoura, A., Christodouleas, D., Yannakopoulou, E., Papadopoulos, K., and Calokerinos, A. C. (2011). Evaluation of antioxidant activity of hydrophilic and lipophilic compounds in edible oils by a novel fluorimetric method. *Talanta*, *84*(3), 874-880.

[22] Liu, W., Zhang, K., Yu, J., and Bi, Y. (2017). A green ultrasonic-assisted liquid-liquid microextraction based on deep eutectic liquids as solvents. *Journal of Chromatography A*, *1463*, 11-19.

[8] Shishov, A., Bulatov, A., Locatelli, M., Carradori, S., and Andruch, V. (2017). Application of deep eutectic solvents in analytical chemistry. A review. *Microchemical Journal*, *135*, 33-38.

[9] *Cunha, S. C., and Fernandes, J. O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 105, 225-239.*

[10] Andrade-Eiroa, A., Canle, M., Leroy-Cancellieri, V., and Cerdà, V. (2016). Solid-phase extraction of organic compounds: a critical review (Part I). TrAC Trends in Analytical Chemistry, 80, 641-654.

[11] Cabrera, L. D. C., Caldas, S. S., Prestes, O. D., Primel, E. G., and Zanella, R. (2016). Evaluation of alternative sorbents for dispersive solid□phase extraction clean□up in the QuEChERS method for the determination of pesticide residues in rice by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. Journal of Separation Science, 39(10), 1945-1954.

[12] Yavuz, E., Tokalıoğlu, Ş., and Patat, Ş. (2018). Magnetic dispersive solid phase extraction with graphene/ZnFe2O4 nanocomposite adsorbent for the sensitive determination of mercury in water and fish samples by cold vapor atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, 142, 85-93.

[13] Dominguez, I., Arrebola, F. J., Gavara, R., Vidal, J. L. M., and Frenich, A. G. (2018). Automated and simultaneous determination of priority substances and polychlorinated biphenyls in wastewater using headspace solid phase microextraction and high resolution mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 1002, 39-49.

[14] Llompart, M., Celeiro, M., García-Jares, C., and Dagnac, T. (2019). Environmental applications of solid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 112, 1-12.

[15] Amvrazi, E. G., and Albanis, T. A. (2006). Multiresidue method for determination of 35 pesticides in virgin olive oil by using liquid− liquid extraction techniques coupled with solid-phase extraction clean up and gas

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]
Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

propanediamine. *Food Science and Technology Research*, *19*(4), 647-653.

[29] López-García, I., Vicente-Martínez, Y., and Hernández-Córdoba, M. (2014). Determination of cadmium and lead in edible oils by electrothermal atomic absorption spectrometry after reverse dispersive liquid–liquid microextraction. *Talanta*, *124*, 106-110.

[30] Ni, Z., Chen, Z., Cheng, J., and Tang, F. (2017). Simultaneous determination of arsenic and lead in vegetable oil by atomic fluorescence spectrometry after vortex-assisted extraction. Analytical Letters, 50(13), 2129-2138.

[31] Mateos, R., Espartero, J. L., Trujillo, M., Rios, J. J., León-Camacho, M., Alcudia, F., and Cert, A. (2001). Determination of phenols, flavones, and lignans in virgin olive oils by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(5), 2185-2192.

[32] Hosseini, M., Heydari, R., and Alimoradi, M. (2015). Reversed□phase vortex□assisted liquid–liquid Microextraction: A New Sample Preparation Method for the Determination of Amygdalin in oil and Kernel samples. Journal of Separation Science, 38(4), 663-669.

[33] Khoshmaram, L., Abdolmohammad Zadeh, H., and Ghaffarzadeh, E. (2019). Air□assisted liquid–liquid extraction coupled with dispersive liquid–liquid microextraction and a drying step for extraction and preconcentration of some phthalate esters from edible oils prior to their determination by GC. Journal of Separation Science, *42*(3), 736-743.

solvent for the HPLC-UV determination of TBHQ in edible oils. *Food Analytical Methods*, *10*(9), 3209-3215.

[23] Lu, Q., Zhao, Q., Yu, Q. W., and Feng, Y. Q. (2015). Use of pollen solid-phase extraction for the determination of trans-resveratrol in peanut oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(19), 4771-4776.

[24] Ma, F., Li, P., Zhang, Q., Yu, L., and Zhang, L. (2015). Rapid determination of trans-resveratrol in vegetable oils using magnetic hydrophilic multi-walled carbon nanotubes as adsorbents followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, *178*, 259-266.

[25] Ma, F., Wu, R., Li, P., and Yu, L. (2016). Analytical approaches for measuring pesticides, mycotoxins and heavy metals in vegetable oils: A review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *118*(3), 339-352.

[26] Majerus, P., Graf, N., and Krämer, M. (2009). Rapid determination of zearalenone in edible oils by HPLC with fluorescence detection. *Mycotoxin Research*, *25*(3), 117.

[27] Afzali, D., Ghanbarian, M., Mostafavi, A., Shamspur, T., and Ghaseminezhad, S. (2012). A novel method for high preconcentration of ultra trace amounts of B1, B2, G1 and G2 aflatoxins in edible oils by dispersive liquid–liquid microextraction after immunoaffinity column clean-up. *Journal of Chromatography A*, *1247*, 35-41.

[28] BARAN, E. K., and BAĞDAT, S. (2013). Spectrometric Determination of Copper in Edible Oil Based on the Extraction with N, N′-bis (5-methoxy-salicylidene)-2-hydroxy-1, 3-

www.SID.ir

Archive of SID

[DOI: 10.29252/fsct.17.01.03]

Downloaded from fsct.modares.ac.ir at 9:22 IRDT on Monday May 18th 2020

Investigation of analysis methods of pesticide residues, mycotoxins, antioxidants and heavy metals in edible oils

Khoshmaram, L. [1*], Ghaffarzadeh, E.[2]

1. PhD, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran
2. MSc, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

(Received: 2019/07/31 Accepted:2020/01/18)

Considering the widespread use of oils in the preparation of foods, controlling the amount of ingredients in edible oils that can be problematic for human health is extremely important. Due to the complex matrix of oils, analysis of the different compounds in them is usually not possible without isolating and removing the matrix effects. In this regard, a variety of extraction and isolation methods are presented by researchers. Therefore, in this paper it has been tried to introduce in detail the most important extraction methods used in the analysis of edible oils and how they are applied.

Keywords: Foods; Edible oils; Extraction; Human health

* Corresponding Author E-Mail Address: L.khoshmaram@gmail.com

www.SID.ir