مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 1، بهار 1393، صفحات 57-47

میکرواستخراج نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های سوسیس و کالباس موجود در بازار تهران و تعیین مقدار آن‌ها با استفاده از کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی

حورا رمضانی[1]، مرضیه کمانکش[2]، هدایت حسینی[3]، وحید قاسم زاده محمدی[4]، عبدالرضا محمدی[5]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

2- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه شیمی، دانشگاه الزهراء تهران، ایران

3- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

4- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

5- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: ab.mohammadi@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: 92/10/17 تاریخ پذیرش: 92/12/12

چکیده

سابقه و هدف: در فرآیند تولید فرآورده‌های گوشتی به سبب وجود نیتریت و ترکیبات آمینی موجود در بافت ماده غذایی، نیتروزآمین‌ها تولید می‌شوند که این ترکیبات دارای خاصیت جهش‌زایی و سرطان‌زایی می‌باشند. هدف از این پژوهش، معرفی و بهینه‌سازی روش استخراج به کمک ماکروویو به همراه میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به عنوان یک روش سریع، کم هزینه و دقیق جهت تعیین نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های سوسیس و کالباس عرضه شده در شهر تهران می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عوامل مؤثر بر استخراج نیتروزآمین‌ها به کمک روش سطح پاسخ بهینه گردید. جهت بهینه سازی از طرح مرکب مرکزی با 6 تکرار در نقطه مرکزی استفاده گردید. ارقام شایستگی روش پیشنهادی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. شناسایی و تعیین مقدار نیتروزآمین-های موجود در 18 نمونه‌ی تهیه شده از 3 کارخانه‌ی معتبر شهر تهران با استفاده از روش پیشنهادی انجام گرفت. روش آماری مورد استفاده در این پژوهش آنالیز واریانس یک طرفه می‌باشد.

یافته‌ها: مقادیر بهینه مربوط به حجم حلال استخراجی: 100µL، حجم حلال پخشی: 500µL، مقدار نمک: 1/1 گرم (11%) و pH= 7/5 تعیین گردید. ارقام شایستگی روش پیشنهادی در شرایط بهینه در گستره‌ی بسیار مطلوب قرار داشت. در پژوهش حاضر، کمترین و بیشترین مقدار نیتروزآمین در نمونه‌های سوسیس و کالباس عرضه شده در شهر تهران به ترتیب $0/465\ ng\ g^{-1}$ و $195\ ng\ g^{-1}$ تعیین گردید.

نتیجه‌گیری: کارایی و قابلیت اعتماد روش استخراج به کمک ماکروویو به همراه میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به عنوان یک روش ساده و سریع جهت تعیین مقادیر بسیار کم نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های سوسیس و کالباس در مقایسه با سایر روش‌های قبلی اثبات گردید.

واژگان کلیدی: سوسیس و کالباس، نیتروزآمین‌ها، استخراج به کمک ماکروویو، میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی

• مقدمه

گوشت و فرآورده‌های گوشتی به عنوان جزء اصلی رژیم غذایی و تامین‌کننده‌ی بخش وسیعی از نیازهای پروتئینی، ویتامینی و املاح مورد نیاز بدن انسان محسوب می‌شوند. بیشترین تولید فرآورده‌های گوشتی در ایران مربوط به انواع فرآورده‌های حرارت دیده می‌باشند، که تحت عنوان سوسیس و کالباس در بازار عرضه می‌گردند. یکی از اصلی‌ترین راه‌های فرآوری محصولات گوشتی استفاده از نیترات و نیتریت می‌باشد. این ترکیبات سبب افزایش مدت زمان ماندگاری و همچنین جلوگیری از فساد محصولات مذکور در طول زمان نگهداری می‌شوند (2، 1). واکنش بین

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

آمین‌های نوع دوم موجود در ماده‌ی غذایی و نیترات و نیتریت افزوده شده به آن منجر به تشکیل ترکیبات فرار نیتروزآمین می‌شود (3). تشکیل نیتروزآمین‌ها به روش پخت، دما، زمان، غلظت نیتریت افزوده شده و... بستگی دارد (4، 2). تاکنون از بین 300 نوع مختلف نیتروزآمین شناخته شده، سرطان‌زایی 91 درصد آن‌ها به اثبات رسیده است. نیتروزآمین‌ها قادرند از طریق خون به کبد راه یافته و سریعاً متابولیزه شوند و اثرات سرطان‌زایی خود را از طریق آسیب به DNA ظاهر سازند (7-5). نیتروزآمین‌ها به دو دسته فرار و غیر فرار تقسیم می‌گردند. از مهم‌ترین نیتروزآمین‌های فرار شناخته شده در سوسیس و کالباس که توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC) به عنوان ترکیبات سرطان‌زای احتمالی برای انسان طبقه‌بندی شده‌اند می‌توان به موارد زیر اشاره کرد (9، 8):

N-nitrosodimethylamine (NDMA)
N-nitrosodiethylamine (NDEA)
N-nitrosodibutylamine (NDBA)
N-nitrosopiperidine (NPIP)
N-nitrosopyrrolidine (NPYR)

حداکثر غلظت مجاز تعیین شده برای این ترکیبات در فرآورده‌های غذایی متغیر است و برای مثال در مورد ترکیب NPYR 10 میکروگرم در کیلوگرم وزن بدن هر انسان در روز گزارش شده است (10). تعیین میزان نیتروزآمین‌ها در فرآورده‌های گوشتی به سبب اثرات قابل توجه سمیت و سرطان‌زایی این ترکیبات و همچنین با توجه به مصرف بالا و روزافزون سوسیس وکالباس درکشور از اهمیت بالایی برخوردار است. اندازه‌گیری غلظت نیتروزآمین‌ها در فرآورده‌های گوشتی می‌تواند به عنوان یک معیار جهت ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای و نیز تعیین کیفیت فرآیندهای فرآوری و حرارتی مختلف مورد توجه قرار گیرد (11).

به منظور تعیین و شناسایی نیتروزآمین‌ها در انواع مختلف مواد غذایی از روش‌های متعدد دستگاهی از جمله کروماتوگرافی گازی بهره گرفته می‌شود (13-11). به دلیل وجود انواع ناخالصی و مزاحمت در بافت نمونه به ویژه نمونه‌های جامد، شناسایی و تعیین نیتروزآمین‌ها نیازمند به کارگیری مراحل استخراج متعدد قبل از به کارگیری روش‌های دستگاهی می‌باشد. جهت ساده سازی و تسریع فرآیند استخراج اولیه، استخراج به کمک امواج ماکروویو بسیار مؤثر می‌باشد. در این روش به دلیل تابش هم زمان امواج ماکروویو از همه‌ی جهات به تمام قسمت‌های نمونه و افزایش سریع دمای آن، فرآیند استخراج مقادیر بسیارکم نیتروزآمین‌ها با سرعت زیاد و در زمان کوتاه محقق می‌گردد. از جمله روش‌های استخراجی که برای تعیین و شناسایی نیتروزآمین‌ها مورد استفاده قرار گرفته است استخراج مایع مایع (LLE) (4) و نیز استخراج فاز جامد (SPE) (14) می‌باشند.

امروزه روش‌های استخراجی فوق به دلیل مصرف زیاد حجم حلال آلی و نیاز به حلال پراکنی آن و در نتیجه امکان هدر رفت آنالیت و همچنین طولانی بودن مدت زمان انجام آزمایش، کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. تحقیقات در جهت حذف و یا تقلیل معایب فوق منجر به استفاده از روش‌های میکرواستخراجی از جمله تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به منظور استخراج و تعیین دقیق مقادیر بسیار کم انواع گونه‌ها در بافت‌های مختلف نمونه انجام پذیرفته است (17-15). تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (Dispersive Liquid Liquid Microextraction) اولین بار توسط اسدی و همکاران در سال 2006 و به منظور شناسایی ترکیبات آلی در آب مورد استفاده قرار گرفت (18). اساس این تکنیک بر مبنای سه فاز مایع شامل نمونه‌ی آبی، حلال استخراجی و حلال پخش‌کننده می‌باشد. در این روش آنالیت مورد نظر از فاز آبی به حلال استخراجی انتقال می‌یابد. نقش حلال پخش‌کننده که خود باید امتزاج پذیری مناسبی با دو محیط آبی و آلی داشته باشد، تسهیل خروج آنالیت از محیط آبی و راه‌یابی هرچه بیشتر گونه‌ی مورد نظر به فاز استخراجی می‌باشد. از جمله مزایای این تکنیک می‌توان به حساسیت و گزینش‌پذیری بالای روش، بازده بالای استخراج، سرعت زیاد و استفاده از حجم کم حلال آلی اشاره کرد.

هدف از این تحقیق، ابداع و معتبرسازی یک روش جدید (MAE-DLLME-GC-MS) به منظور شناسایی و تعیین مقادیر بسیار کم نیتروزآمین‌ها در سوسیس و کالباس می‌باشد. عوامل مؤثر بر استخراج نیتروزآمین‌ها به شیوه‌ی سطح پاسخ و با استفاده از طرح مرکب مرکزی بهینه شدند. همچنین کارایی این روش در استخراج و تعیین مقادیر بسیار کم نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های حقیقی سوسیس و کالباس عرضه شده در شهر تهران محقق گردید.

• مواد و روش‌ها

تهیه‌ی نمونه‌ها: ابتدا به کمک آمار موجود در اداره‌ی نظارت بر مواد غذایی 3 کارخانه‌ی دارای مجوز رسمی فرآورده‌های گوشتی حرارت دیده که بیشترین عرضه را در

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

شهر تهران دارند انتخاب شدند. محصولات انتخابی از هر کارخانه در دو نوع سوسیس و کالباس گوشت قرمز و گوشت مرغ با درصدهای مختلف گوشت متداول با مصرف زیاد (40، 55، 60، 70 و 90 درصد) می‌باشند. بلافاصله پس از تهیه، نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و تا زمان آنالیز در یخچال تحت دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. استخراج و آنالیز تمام نمونه‌ها در روز 14 پس از تولید انجام گرفت.

مواد شیمیایی و استانداردها: اتانول، کلروفرم، متانول، هیدروکسید پتاسیم، هیدروکلریک اسید، کلرید سدیم، پتاسیم هگزا فروسیانید و استات روی، همگی با بالاترین درجه‌ی خلوص از شرکت مرک (Merk, Darmstadt, Germany) خریداری شدند.

محلول استاندارد اولیه‌ی نیتروزآمین‌ها در غلظت 2000µg mL^{-1} تهیه گردید. دیگر محلول‌های استاندارد از حل کردن مقدار مناسبی از محلول استاندارد اولیه در متانول تهیه شدند. بی فنیل (خریداری شده از شرکت مرک آلمان) در غلظت 10µg mL^{-1} به عنوان استاندارد داخلی مورد استفاده قرار گرفت. جهت تهیه محلول کارز 1، 10/6 گرم پتاسیم هگزا فروسیانید در 100 میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. همچنین به منظور تهیه‌ی محلول کارز 2، 21/9 گرم استات روی به همراه 3 میلی‌لیتر اسید استیک در بالن 100 میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد. همه‌ی مواد شیمیایی و استانداردها در دمای یخچال نگهداری شدند.

طراحی آزمایش و بهینه سازی عوامل مؤثر بر استخراج به روش سطح پاسخ: بهینه‌سازی متغیرهای مورد نظر (حجم حلال استخراجی، حجم حلال پخشی، pH و مقدار نمک) با هدف کسب شرایط بهینه، به کمک روش سطح پاسخ (Response Surface Methodology) و با استفاده از طرح مرکب مرکزی (Central composite design) در 5 سطح مختلف برای هر متغیر انجام پذیرفت (جدول 1 این داده‌ها را نشان می‌دهد). پس از انتخاب سطوح مختلف برای هر یک از پارامترها به منظور طراحی تعداد آزمایش‌های مورد نیاز از نرم افزار Design expert v. 8.0.5 محصول شرکت استیت ایز (Minneapolis, USA) استفاده گردید که به طراحی 30 آزمایش انجامید. آزمایش‌ها با تعداد تکرار 3 بار انجام گرفت و در نهایت نیز نسبت سطح زیر منحنی مجموع نیتروزآمین‌ها به سطح زیر منحنی استاندارد داخلی (سطح زیر منحنی نسبی) به عنوان پاسخ نهایی گزارش شد. داده‌های مربوط به اندازه‌گیری نیتروزآمین‌ها با استفاده از نرم افزار Excell تجزیه و تحلیل شدند.

آزمون‌های معتبرسازی روش اندازه‌گیری MAE-DLLME-GC-MS برای تعیین نیتروزآمین‌ها: به منظور رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین گستره‌ی خطی روش، محلول‌های آبی مخلوط هفت استاندارد نیتروزآمین (نیتروزودی‌متیل‌آمین، نیتروزومتیل‌اتیل‌آمین، نیتروزدی-اتیل‌آمین، نیتروزوپیرولیدین، نیتروزوپیپریدین، نیتروزو دی بوتیل آمین و نیتروزودی‌فنیل‌آمین) در غلظت‌های 5، 10، 20، 50، 100، 150 و 200 نانوگرم بر میلی‌لیتر مورد استفاده قرار گرفت. انحراف استاندارد نسبی روش، با انجام 5 آزمایش تکراری با استفاده از نمونه‌ی سوسیس که غلظت نیتروزآمین‌ها در آن 50 ng mL^{-1} بود، تحت شرایط بهینه انجام پذیرفت. محاسبه‌ی درصد بازیافت روش با استفاده از نمونه‌ی سوسیس تهیه شده‌ای که غلظت 50ng mL^{-1} از نیتروزآمین‌ها در آن به صورت دستی اضافه شده بود، محاسبه گردید. به منظور محاسبه فاکتور تغلیظ، محلول استاندارد مخلوط نیتروزآمین‌ها با غلظت‌های 2، 5، 10، 20، 40 میلی‌گرم در لیتر در متانول تهیه شد. از هر یک از محلول‌ها 3 میکرولیتر به طور مستقیم به دستگاه GC تزریق گردید و منحنی کالیبراسیون به دست آمد. حد تشخیص (LOD) براساس S/N 3 و حد اندازه‌گیری (LOQ) بر پایه‌ی S/N 10محاسبه شد.

جدول 1. فاکتورها و سطوح بهینه‌سازی آن‌ها

متغیر		سطوح				
		-α	-1	0	+1	+α
A	حجم حلال پخشی (میکرولیتر)	300	475	650	825	1000
B	حجم حلال استخراجی (میکرولیتر)	60	82/5	105	127/5	150
C	pH	3	4/5	6	7/5	9
D	نمک (گرم)	0	0/375	0/75	1/135	1/5

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

آنالیز نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های سوسیس و کالباس: استخراج نیتروزآمین‌ها از نمونه‌های سوسیس و کالباس در نقاط بهینه‌ی به دست آمده (مقدار کلروفرم 100میکرولیتر، مقدار اتانول500 میکرولیتر، مقدار کلرید سدیم 1/1 گرم و pH برابر 7/5) انجام پذیرفت. ابتدا 15 گرم از هر یک از نمونه‌های سوسیس و کالباس وزن گردید و توسط چرخ گوشت چرخ شد. سپس نمونه چرخ شده با 10 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و 1/5 گرم از آن در ظرف شیشه‌ای درب‌دار توزین شد. سپس مقدار 10 میلی‌لیتر حلال هیدرولیزی (متانول مخلوط شده با هیدروکسید پتاسیم 2 مولار به ترتیب با نسبت 20 و 80 درصد) به آن اضافه گردید. به منظور تخریب و خروج بهتر ترکیبات مورد نظر، ظرف حاوی نمونه به مدت 1/5 دقیقه در معرض امواج مایکروویو قرار گرفت. پس از خنک شدن ظرف، نمونه به فالکون پلاستیکی 50 میلی‌لیتری انتقال یافت و به مدت 5 دقیقه و با سرعت 4000 دور در دقیقه تحت عمل سانتریفیوژ قرار گرفت. پس از این مرحله، فاز شفاف رویی به فالکون دیگری منتقل شد و pH آن با استفاده از هیدروکلریک اسید (0/5 مولار) به عدد 7/5 رسانده شد. سپس 1 میلی‌لیتر محلول کارز 1 (پتاسیم هگزا فروسیانید) و 1 میلی‌لیتر محلول کارز 2 (استات روی) جهت ته‌نشینی پروتئین‌ها به آن اضافه شد. مخلوط حاصل مجدداً سانتریفیوژ گردید (به مدت 5 دقیقه و سرعت 4000 rpm). پس از جدا نمودن رسوبات ته‌نشین شده در ته فالکون از محلول شفاف رویی، این محلول جهت انجام فرآیند ریزاستخراج به فالکون 15 میلی‌لیتری انتقال داده شد. به منظور فرآیند ریزاستخراج مایع مایع پخشی، ابتدا 11 درصد نمک کلرید سدیم به آن اضافه گردید و با استفاده از هم‌زن به خوبی مخلوط شد. سپس 100 میکرولیتر کلروفرم (حلال استخراجی) به همراه $10\ \mu g\ mL^{-1}$ استاندارد داخلی بی فنیل و 500 میکرولیتر اتانول (حلال پخشی) به محلول اضافه گردید. محلول حاصل ابری شد و استخراج نیتروزآمین به درون فاز آلی انجام پذیرفت. جهت جداسازی فازها، نمونه به مدت 10 دقیقه و تحت سرعت 4000 rpm سانتریفوژ شد. ابتدا فاز مایع بالایی جدا گردید سپس با استفاده از سرنگ 10 میکرولیتری 3 میکرولیتر از فاز آلی ته‌نشین شده، شامل آنالیت مورد نظر به طور مستقیم به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد.

• یافته‌ها

از جمله پارامترهای مؤثر بر فرآیند میکرواستخراج نیتروزآمین در نمونه‌های سوسیس و کالباس، نوع و حجم حلال استخراجی، نوع و حجم حلال پخش کننده، pH محلول نمونه و مقدار نمک می‌باشند.

نوع حلال استخراجی و پخشی: در به کارگیری تکنیک میکرواستخراج مایع-مایع پخشی، نوع حلال استخراج کننده و نوع حلال پخشی در مقدار استخراج آنالیت تأثیرگذار می‌باشند. به منظور انتخاب نوع حلال استخراجی مناسب، سه نوع حلال استخراجی کلروفرم، تترا کلرواتیلن و تتراکلرید کربن تحت شرایط یکسان مورد آزمایش قرار گرفتند. مقایسه سطح زیر پیک نیتروزآمین برای سه حلال استخراجی مذکور نشان داد که کلروفرم بیشترین کارایی استخراج را داشته و رفتار کروماتوگرافی بهتری را در استخراج نیتروزآمین در مقایسه با حلال‌های دیگر نشان می‌دهد. با هدف انتخاب بهترین نوع حلال پخشی نیز سه نوع حلال استونیتریل، اتانول و استون مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج، بالا بودن درصد استخراج را با به کارگیری حلال اتانول نشان داد. بنابراین کلروفرم و اتانول به ترتیب به عنوان حلال استخراجی و حلال پخشی مناسب مورد استفاده قرار گرفتند.

نتایج بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر استخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM): عوامل مؤثر بر کارایی روش میکرواستخراج شامل حجم حلال پخشی، حجم حلال استخراجی، pH و مقدار نمک با استفاده از طرح مرکب مرکزی بهینه شدند. مطابق این طرح 30 آزمایش با 6 بار تکرار نقطه مرکزی انجام شد. آزمایش‌های مذکور انجام و پاسخ‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار Design Expert تحلیل شد. پس از رگرسیون درجه دوم، معادله زیر برای ارزیابی پاسخ کل مجموع سطح زیر منحنی نسبی تمام ترکیبات استخراجی بر حسب مقادیر کد شده به‌دست آمد :

$$Y= +1.68 - 0.045A + 0.22B + 0.18C + 0.11D + 0.019AB - 0.056AC - 0.016AD + 0.030BC + 0.063BD -0.048CD - 0.053A^2 - 0.11B^2 - 0.054C^2 - 0.088D^2$$

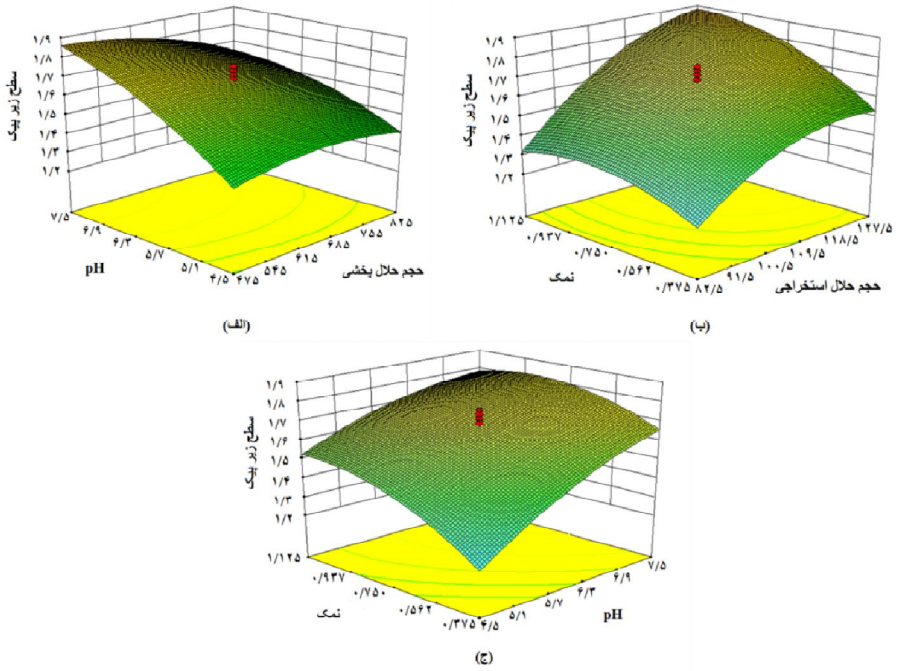
Y= مجموع سطح زیر منحنی نسبی تمام ترکیبات نیتروزآمین استخراجی، A: حجم حلال پخشی B: حجم حلال استخراجی C : pH و D : مقدار کلرید سدیم می‌باشد.

با در نظر گرفتن این معادله و نیز با توجه به علامت و ضرایب به دست آمده برای هر متغیر می‌توان چنین نتیجه گرفت که حجم حلال استخراجی و حجم حلال پخشی به

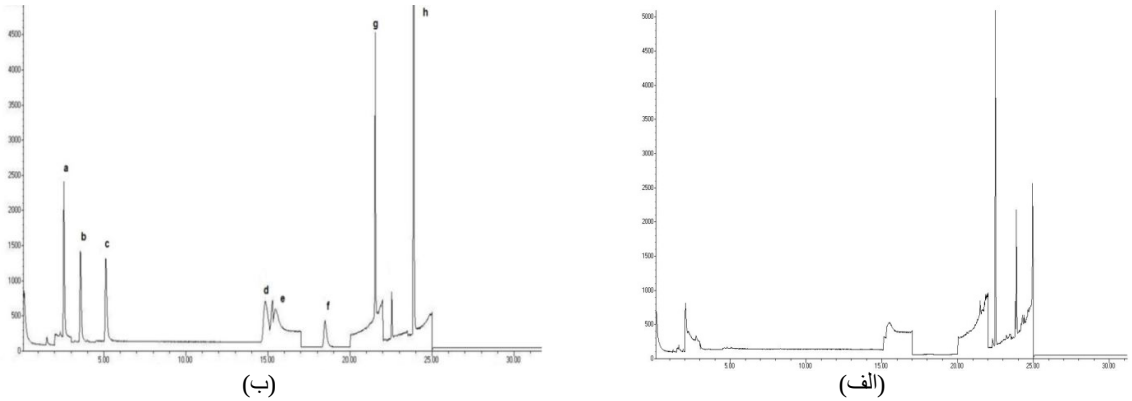
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

ترتیب اثر مثبت و منفی قابل توجهی در راندمان استخراج دارند.

در به کارگیری طراحی آزمایش علاوه بر امکان پیشگویی مقدار بهینه‌ی متغیرها و نیز بررسی جداگانه‌ی اثر هر کدام از آن‌ها در راندمان استخراج، می‌توان برهم‌کنش‌های موجود بین متغیرها را در قالب نمودار سه بعدی مشاهده کرد. شکل1- الف اثر ترکیبی حجم حلال پخشی و pH را بر روی پاسخ نشان می‌دهد. براساس این شکل بیشترین درصد استخراج را می‌توان در حجم حلال پخشی 500 میکرولیتر و pH 7/5 مشاهده کرد. شکل 1-ب برهم‌کنش بین حجم حلال استخراجی و مقدار نمک را نشان می‌دهد. با افزایش میزان نمک تا 11درصد و افزایش حجم حلال استخراجی تا 100 میکرولیتر، بیشترین مقدار پاسخ به دست خواهد آمد. شکل 1- ج سطح پاسخ را به عنوان تابع نمک و pH نشان می‌دهد و روند افزایشی پاسخ با افزایش غلظت نمک تا 11درصد و کاهش pH تا 7/5 مشهود است.



شکل 1. نمودار سه بعدی برهم کنش بین متغیرهای مؤثر بر فرآیند ریزاستخراج نیتروزآمین‌ها. الف: حجم حلال پخشی و PH. ب: حجم حلال استخراجی و مقدار نمک. ج: مقدار نمک و PH



شکل 2. کروماتوگرام حاصل از استخراج توسط روش MAE-DLLME-GC-MS در حالت SIM. الف (بدون تزریق استاندارد) و نمونه ب (با تزریق استاندارد) از غلظت $40\ ng\ g^{-1}$ نیتروزآمین‌ها

(a) (NDMA), (b) (NMEA), (c) (NDEA), (d) (NPYR), (e) (NPIP), (f) (NDBA), (g) biphenyl (IS), (h) N- (NDPheA)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

ارقام شایستگی روش MAE-DLLME-GC-MS جهت تعیین نیتروزآمین‌ها: نتایج حاصل از معتبرسازی روش MAE-DLLME-GC-MS در جدول 2 آورده شده است. بررسی منحنی‌های کالیبراسیون ترکیبات نیتروزآمین در آب نشان می‌دهد که این منحنی‌ها با ضریب همبستگی بالا (R^2=0/96-0/99) درمحدوده غلظتی 0/1-200ng ml^{-1} به صورت خطی می‌باشند. انحراف استاندارد نسبی روش در گستره 3/5-5/4% قرار دارد. حد تشخیص روش پیشنهادی برای نیتروزآمین‌ها 0/1-0/5 ng g^{-1} و حد اندازه‌گیری ng g^{-1} 0/4-1/4 می‌باشد. درصد بازیافت نسبی روش پیشنهادی برای نیتروزآمین‌های مختلف 83/9-109/4 به دست آمد. مقدار فاکتور تغلیظ بین 126 تا 152 می‌باشد. همچنین مقایسه ارقام شایستگی روش پیشنهادی با سایر روش‌ها در جدول 3 نشان داده شده است.

جدول 2. ارقام شایستگی روش پیشنهادی

نمونه	آنالیت	ضریب همبستگی	انحراف استاندارد نسبی(%)	درصد بازیابی	حد تشخیص (ng g^{-1})	حد تعیین (ng g^{-1})	فاکتور تغلیظ	گستره‌ی خطی (ng mL^{-1})
سوسیس و کالباس	NDMA	0/9803	3/5	108	0/5	1/4	131/8	0/1-200
	NMEA	0/9881	3/6	109	0/4	1/4	152/8	0/1-200
	NDEA	0/9909	5/4	109	0/3	1/0	144/0	0/1-200
	NPYR	0/9633	3/9	93	0/2	0/9	148/1	0/1-200
	NPIP	0/9954	4/3	92	0/2	0/8	140/1	0/1-200
	NDBA	0/9962	4/7	88	0/1	0/4	142/5	0/1-200
	NDPheA	0/9799	4/8	83	0/1	0/6	126/0	0/1-200

جدول 3. مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها

روش	نوع نمونه	آنالیت	گستره‌ی خطی (ng mL^{-1})	حد تعیین (ng g^{-1})	حد تشخیص (ng g^{-1})	درصد بازیابی	انحراف استاندارد نسبی(%)	ضریب همبستگی
روش پیشنهادی	سوسیس و کالباس	NDMA	0/1-200	4/59	1/38	108/69	3/5	0/9803
		NMEA	0/1-200	4/09	1/23	109/40	3/6	0/9881
		NDEA	0/1-200	3/56	1/07	109/10	5/4	0/9909
		NPYR	0/1-200	3/92	1/064	93/87	3/9	0/9633
		NPIP	0/1-200	11/54	3/46	72/13	4/3	0/9954
		NDBA	0/1-200	5/33	1/6	78/32	4/68	0/9962
		NDPheA	0/1-200	4/883	1/45	83/99	4/8	0/9799
میکرواستخراج فاز جامد پخشی (13)	فرآورده‌های گوشتی	NDMA	25-500	0/36	0/12	84	7	0/999
		NMEA	25-500	0/18	0/06	74	4	0/999
		NDEA	25-500	0/18	0/06	80	7	0/999
		NPYR	25-500	0/18	0/06	99	4	0/999
		NDPA	25-500	0/09	0/03	98	8	0/999
		NPIP	25-500	0/09	0/03	83	2	0/999
		NDBA	25-500	0/03	0/01	105	7	0/999
کروماتوگرافی گازی-آشکارسازی لومینسانس هیدروژنی (19)	فرآورده‌های گوشتی	NDMA	-	16/71	3/86	-	-	0/967
		NDEA	-	10/04	2/32	-	-	0/982
		NDPA	-	6/96	1/61	-	-	0/996
		NPYR	-	9/30	2/15	-	-	0/968
		NPIP	-	8/56	1/98	-	-	0/973
		NDBA	-	10/63	2/46	-	-	0/971
کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی (20)	ماهی	NDMA	-	0/37	0/11	79	9/4	-
		NDEA	-	0/33	0/10	82	8/4	-
		NPYR	-	0/35	0/11	87	8/4	-
		NPIP	-	0/34	0/10	86	8/1	-
		NDBA	-	0/33	0/10	88	7/7	-

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

غلظت نیتروزآمین‌ها در انواع نمونه‌های سوسیس و کالباس: به منظور ارزیابی کارایی روش پیشنهادی، 18 نمونه‌ی مختلف از 3 کارخانه‌ی مهم عرضه کننده فرآورده‌های گوشتی در تهران تهیه گردیدند و تحت فرآیند MAE-DLLME-GC-MS با 3 تکرار قرار گرفتند و مقادیر میانگین یافت شده از نیتروزآمین‌های موجود در نمونه‌ها گزارش گردید. نتایج حاصل از این بررسی در جدول 4 آورده شده است. همچنین صحت روش با استفاده از مقدار مشخص اضافه شده به نمونه‌های انتخابی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. شکل 2 کروماتوگرام به دست آمده از تکنیک MAE-DLLME-GC-MS تحت شرایط الف (بدون تزریق استاندارد) و نمونه ب (با تزریق استاندارد) از غلظت 40 $ng\ g^{-1}$ نیتروزآمین‌ها می‌باشد.

جدول 4. نتایج حاصل از استخراج نیتروزآمین‌ها در سوسیس و کالباس تولید 3 کارخانه در تهران با استفاده از روش پیشنهادی میانگین غلظت (SD ± بر حسب نانوگرم بر گرم)

کارخانه	نوع محصول	NDMA	NMEA	NDEA	NPYR	NPIP	NBBA	NDpA
A	کالباس گوشت 60%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	14/7±1/14
	کالباس گوشت 90%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13/4±0/98
	کالباس مرغ 90%	ND	ND	ND	ND	ND	149/8±12/39	17/2±1/27
	کوکتل گوشت 55%	ND	ND	ND	ND	10/1±0/98	19/1±1/29	63/0±4/24
	کوکتل مرغ 55%	ND	ND	ND	2/15±58/2	ND	17/7±1/09	106/4±8/66
	کوکتل گوشت 70%	ND	ND	ND	0/74±9/6	38/2±4/21	24/8±1/97	99/1±6/93
B	کالباس گوشت 60%	ND	ND	ND	7/5±0/64	15/1±1/94	10/3±0/83	7/5±0/65
	کالباس گوشت 90%	ND	ND	ND	ND	10/4±0/74	44/6±4/29	6/4±0/42
	کالباس مرغ 90%	ND	ND	ND	22/3±1/18	12/9±1/08	12/8±1/07	3/3±0/29
	کوکتل گوشت 55%	ND	ND	ND	ND	5/1±0/39	54/0±3/56	8/3±0/41
	کوکتل مرغ 55%	ND	ND	ND	ND	7/3±0/45	ND	2/4±0/17
	کوکتل گوشت 70%	ND	ND	ND	17/7±1/42	17/8±0/88	87/6±5/51	2/4±0/16
C	کالباس گوشت60%	ND	ND	ND	ND	12/3±0/83	ND	128/4±9/34
	کالباس گوشت 90%	ND	ND	ND	ND	139/3±8/64	27/5±2/59	9/0±0/76
	کالباس مرغ 90%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	کوکتل گوشت 55%	ND	ND	ND	ND	132/4±14/47	ND	6/8±0/43
	کوکتل مرغ 55%	ND	ND	ND	139/9±8/78	106/0±7/94	ND	2/4±0/19
	کوکتل گوشت 70%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND:یافت نشد

• بحث

بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر میکرواستخراج با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) : رویه سطح پاسخ معمولاً برای بررسی اثر ترکیبی چندین متغیر به منظور یافتن شرایط بهینه برای یک سامانه چند متغیره به‌کار می رود. از آنجایی‌که موقعیت نقطه بهینه قبل از انجام آزمایش‌های مربوط به روش سطح پاسخ معلوم نیست، برتری با طرحی است که دقت برآورد مشابهی را در تمام جهات تأمین کند. در این روش علاوه بر مشاهده‌ی اثر خطی متغیرها روی پاسخ، اثر متقابل و درجه دوم آن‌ها نیز نشان داده می‌شود. همان‌طور که در بخش یافته‌ها مشخص شد، مدل درجه دوم روی داده‌ها منطبق گردید. میزان انطباق مدل روی داده‌های واقعی توسط ضریب تعیین R^2 و Adjusted-R^2 نشان داده می‌شود. R^2 بالاتر از 0/96 و Adjusted-R^2=0/96 گویای رابطه‌ای قوی بین داده‌های

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

واقعی و مدل پیشنهادی می‌باشد. در این مدل p-value کمتر از 0/0001 و F-value= 50/97 است. نمودارهای سه بعدی اثرات متقابل متغیرها را بر پاسخ به خوبی نشان می-دهند. بیشترین بازده استخراج در حجم 500 میکرولیتر از اتانول و pH مساوی 7/5 به دست آمد. مطابق پژوهش‌های پیشین (16، 15) استفاده از حجم‌های بالاتر از 500 میکرولیتر اتانول سبب افزایش حلالیت نیتروزآمین‌ها درنمونه‌ی آبی و کاهش کارایی استخراج می‌گردد. احتمالاً pH برابر با 7/5 باعث ایجاد یک ساختار غیر یونی در نیتروزآمین‌ها می‌شود. در نتیجه انتقال نیتروزآمین‌ها به حلال استخراجی آسان‌تر صورت می‌پذیرد. افزایش غلظت نمک تا 11 درصد ، سطح زیر منحنی برای هر یک از نیتروزآمین‌ها را افزایش می‌دهد. این امر به دلیل اثر salting out و در نتیجه افزایش تمایل نیتروزآمین‌ها به استخراج در حلال آلی در اثر افزایش قدرت یونی محلول آبی می‌باشد (17). اثر تداخلی معنی‌دار بین غلظت نمک و مقادیر pH نیز در این مدل مشاهده گردید. در اینجا نیز بیشترین مقدار استخراج از نیتروزآمین‌ها در 11درصد نمک و pH برابر با 7/5 به دست آمد.

معتبرسازی روش MAE-DLLME-GC-MS جهت تعیین نیتروزآمین در سوسیس و کالباس: جهت معتبرسازی یک روش جدید، ارقام شایستگی روش پیشنهادی، شامل تکرارپذیری، گستره‌ی خطی، فاکتور تغلیظ، حد تشخیص و حد تعیین مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت. ضریب همبستگی بالا در گستره غلظت‌های ناچیز نیتروزآمین‌ها مؤید قابلیت کاربرد و اعتماد روش جهت تعیین غلظت‌های کم این ترکیبات در نمونه می‌باشد. دقت و تکرارپذیری مناسب روش نیز به سبب مقادیر کم درصد انحراف استاندارد نسبی به اثبات رسید. با توجه به توافق و نزدیکی بین مقدار اضافه شده نیتروزآمین‌ها با مقدار یافت شده آن‌ها در اکثر نمونه‌ها می‌توان نتیجه گرفت که صحت روش اندازه‌گیری قابل قبول می‌باشد. حدود تشخیص و تعیین روش پیشنهادی قابلیت کاربرد روش را جهت تعیین مقادیر بسیار ناچیز نیتروزآمین‌ها در فراورده‌های گوشتی به اثبات رساند. مقادیر قابل قبول درصد بازیافت نسبی روش MAE-DLLME-GC-MS گویای عدم تأثیرپذیری تکنیک پیشنهادی از بافت نمونه در استخراج نیتروزآمین می‌باشد. مقایسه ارقام شایستگی روش پیشنهادی با روش‌های دیگر نشان می‌دهد که روش پیشنهادی قابلیت بالایی جهت استخراج نیتروزآمین‌ها از انواع نمونه‌های سوسیس و کالباس را دارا می‌باشد.

کارایی روش در نمونه‌های حقیقی: جهت بررسی مناسب بودن روش ارائه شده برای شناسایی نیتروزآمین‌ها در نمونه‌های حقیقی، 18 نوع از محصولات گوشتی 3 کارخانه، شامل سوسیس و کالباس دارای درصدهای مختلفی از گوشت قرمز یا مرغ، در شرایط بهینه مورد ارزیابی قرار گرفتند. غلظت برخی از نیتروزآمین‌ها در نمونه‌ها ناچیز بوده و نتایج تجزیه‌ای آن‌ها با روش افزایش استاندارد مورد تأیید قرار گرفت. بررسی میزان تغییرات نیتروزآمین‌ها نشان می‌دهد که روند تغییر این ترکیبات در طول مدت نگهداری محصول در دمای 4 درجه افزایشی است. بررسی‌های انجام شده نشان داد که مقدار نیتروزآمین تشکیل شده در فرآورده‌های گوشتی به میزان نیتریت افزوده شده و همچنین نیتریت باقیمانده در محصول بستگی دارد (21). نتایج به دست آمده با بکارگیری تست آنالیز واریانس یک طرفه جهت بررسی محصولات با درصد گوشت متفاوت نشان داد که میزان تشکیل نیتروزآمین در سوسیس‌ها (با قطر کمتر) بیشتر از نمونه‌های کالباس (با قطر بیشتر) است. از آنجایی که طول مدت زمان پخت در کارخانه برای کالباس به طور متوسط 6-5 ساعت بوده و از مدت زمان 1-2 ساعته لازم برای پخت سوسیس بیشتر است و با توجه به اینکه فرایند پخت می‌تواند اثر قابل توجهی بر کاهش نیتریت افزوده شده داشته باشد، می‌توان این امر را دلیل اختلاف در مقدار نیتروزآمین تشکیل شده بین این دو محصول دانست. یعقوبی‌فر و همکاران نیز در سال 2009 در مطالعه‌ای بر روی سوسیس و کالباس‌های عرضه شده در سبزوار نشان دادند که میزان کاهش نیتریت سدیم در فرآورده‌های گوشتی امولسیونه با قطر کمتر (سوسیس)، کمتر از فرآورده‌های با قطر بیشتر (کالباس) است (22). در بررسی سوسیس و کالباس‌های مورد مطالعه مشخص شد که مقدار نیتریت افزوده شده در برخی از این نمونه‌ها بیش از حد مجاز استاندارد بود که این امر یافته‌های میرزایی و همکاران را تایید می‌نماید (23).

در تحقیق حاضر، استخراج سریع و ساده‌ی مقادیر بسیار کم نیتروزآمین‌ها با به کارگیری روش ریزاستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) حاصل شد. به کارگیری این روش سبب افزایش دقت و حساسیت و نیز آسانی عمل، کاهش مصرف حلال‌های آلی سمی و کاهش زمان استخراج آنالیت مورد نظر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

گردید. همچنین همراه شدن این تکنیک با دستگاه کروماتوگرافی گازی با عملکرد بالا به همراه آشکارساز اسپکترومتری جرمی جهت آنالیز نمونه‌ها، منجر به کسب حد تشخیص‌های بسیار خوب در استخراج ترکیبات مذکور شد. در این مطالعه، بهینه‌سازی پارامترهای تاثیرگذار بر فرآیند ریزاستخراج با استفاده از شیوه‌ی سطح پاسخ (RSM) بر پایه-ی مدل مختلط مرکزی (CCD) به کار گرفته شد. روش پیشنهادی قابلیت کاربرد جهت شناسایی و تعیین غلظت‌های کم نیتروزآمین‌ها را در نمونه‌های حقیقی دارا می‌باشد. مقایسه ارقام شایستگی روش پیشنهادی با روش‌های دیگر نشان می‌دهد که روش پیشنهادی قابلیت بالایی جهت استخراج نیتروزآمین‌ها از انواع نمونه‌های سوسیس و کالباس را دارا است.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، به خاطر حمایت‌های مالی تشکر و قدردانی می‌شود.

• References

1. Noel P, Briand E, Dumont J. Role of nitrite in flavour development in uncooked cured meat products: sensory assessment. Meat Sci 1990;28(1):1-8.
2. Honikel K-O. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meatproducts. Meat Sci 2008;78(1):68-76.
3. Masuda M, Mower HF, Pignatelli B, Celan I, Friesen MD, Nishino H, et al. Formation of N-nitrosamines and N-nitramines by the reaction of secondary amines with peroxynitrite and other reactive nitrogen species: comparison with nitrotyrosine formation. Chem Res Toxic 2000;13(4):3018.
4. Drabik-Markiewicz G, Dejaegher B, De Mey E, Impens S, Kowalska T, Paelinck H, et al. Evaluation of the influence of proline, hydroxyproline or pyrrolidine in the presence of sodium nitrite on< i> N-nitrosamine formation when heating curedMeat. Anal Chim Acta 2010;657(2):123-30.
5. Jakszyn P, González CA. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. World J. Gastroenterol 2006;12 (27): 4296-303.
6. Radomski J, Greenwald D, Hearn W, Block N, Woods F. Nitrosamine formation in bladder infections and its role in the etiology of bladder cancer. The J.urology, 1978;120(1):48-50
7. Byun MW, Ahn HJ, Kim JH, Lee JW, Yook HS, Han SB. Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermal energy analyzer. J. Chromatogr. A, 2004;1054(1):403-7.
8. Tricker A, Perkins M, Massey R, Bishop C, Key P, McWeeny D. Incidence of some non-volatile N-nitroso compounds in cured meats. Food Addit Contam1984;1(3):245-52
9. Carter R. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicalsto Humans. J. Clin. Pathol, 1980;33 (1):98.
10. USDA. US Code of Federal Regulations, Food Safety and Inspection Service, USDA 2004, Certain other permitted uses, 9 CFR Ch. III (1-1-03 ed).
11. Andrade R, Reyes FG, Rath S. A method for the determination of volatile< i>N-nitrosamines in food by HS-SPME-GC-TEA. Food chem 2005;91(1):173-9
12. Campillo N, Viñas P, Martínez-Castillo N, Hernández-Córdoba M. Determination of volatile nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. J. Chromatogr. A, 2011;1218(14):1815-21.
13. Huang M-C, Chen H-C, Fu S-C, Ding W-H. Determination of volatile N-nitrosamines in meat products by microwave-assisted extraction coupled with dispersive micro solid-phase extraction and gas chromatography – Chemical ionisation mass spectrometry. Food Chem 2013;138(1):227-33.
14. Yurchenko S, Mölder U. The occurrence of volatile< i> N-nitrosamines in Estonian meat products. Food chem 2007;100(4):1713-21.
15. Ghasemzadeh-Mohammadi V, Mohammadi A, Hashemi M, Khaksar R, Haratian P.Microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. J. Chromatogr. A, 2012;1237(0):30-6.
16. Kamankesh M, Mohammadi A, Modarres Tehrani Z, Ferdowsi R, Hosseini H. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography for determination of benzoate and sorbate in yogurt drinks and method optimization by central composite design. Talanta, 2013;109:46-51.
17. Mohammadi A, Tavakoli R, Kamankesh M, Rashedi H, Attaran A, Delavar M. Enzyme-

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

assisted extraction and ionic liquid-based dispersive liquid–liquid microextraction followed by high- performance liquid chromatography for determination of patulin in apple juice and method optimization using central composite design. Analytica chimica acta. 2013;804:104- 110.

18. Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini M-R, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. J. Chromatogr. A, 2006;1116(1):1-9.

19. Ozel MZ, Gogus F, Yagci S, Hamilton JF, Lewis AC. Determination of volatile nitrosamines in various meat products using comprehensive gas chromatography–nitrogen chemiluminescence detection. Food Chem Toxicol 2010;48(11):3268-73.

20. Yurchenko S, Mölder U. Volatile N-Nitrosamines in various fish products. Food chem 2006;96(2):325-33.

21. Sebranek JG, Bacus JN. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? Meat science. 2007;77(1):136-47

22. Yaghoubifar MA, Shakernejad A, Akaberi, A. Comparison of the Quality and safety of Sausage and Salami with Standards in Sabzevar Iran. Journal of Sabzevar University of Medical Sciences 2009; 16(2): 114-120 [in Persian].

23. Mirzaii H, Hoseiny H, Rokny N. Curve of the reduction of nitrite in meat sausages containing 90, 60, 40% meat during storage. Journal of Iran Food and Sciences 2007; 4(3): 41-46 [in Persian].

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]

Microextraction and determination of nitrosamines in sausage and salami in Tehran market using gas chromatography-mass spectrometry

Ramezani H[1], Kamankesh M[2], Hoseiny H[3], Ghasemzadeh V[4], Mohammadi A[5]*

1- M.Sc Student in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran, Iran

2- M.Sc in Chemistry, Faculty of Science, Alzahra University, Tehran, Iran

3- Associate prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran, Iran

4. Ph.D Student in Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran, Iran

*5- *Corresponding author: Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran, Iran. Email: ab.mohammadi@sbmu.ac.ir*

Received 7 Jun, 2014 **Accepted 3 Mar, 2014**

Background and Objective: Nitrosamines are produced during processing of meat products from the presence of nitrite and amine compounds; these compounds are mutagenic and carcinogenic. The present study optimized and determined the level of nitrosamines in sausage and salami samples in Tehran markets using microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry (MAE-DLLME-GC-MS), which is a fast, low-cost and precise method.

Materials and Methods: The nitrosamine extraction was optimized using response surface methodology and a central composite design with 6 replications at the center point. The figures of merit of the proposed method were then evaluated. The proposed method was used to determine the nitrosamine levels in 18 samples at 3 factories of major producers of meat products in Tehran. One-way ANOVA was the statistical method used in this study.

Results: The optimum volume of extraction solvent (100 µl), disperser solvent (500 µl), salt (11%), and the pH (7.5) were obtained. The figures of merit for the proposed method under optimum conditions were in the appropriate range. The lowest and highest concentrations of nitrosamines in real samples were 0.46 and 195 ng g^{-1}, respectively.

Conclusion: The capability and reliability of MAE-DLLME-GC-MS as a simple and fast method for trace determination of nitrosamines in sausage and salami samples was confirmed over the results of other methods.

Keywords: Sausage and salami, Nitrosamines, Microwave-assisted extraction, Dispersive liquid-liquid microextraction, Gas chromatography-mass spectrometry

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-10-12]