مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال شانزدهم، شماره ۱، بهار ۱۴۰۰، صفحات ۸۴-۷۵

به کارگیری میکرواستخراج‌های الکتروغشایی مسطح و حلال سبک در اندازه‌گیری میزان آمین‌های آروماتیک هتروسیکل قطبی و غیرقطبی در گوشت قرمز کبابی

مرضیه کمانکش[۱]، عبدالرضا محمدی[۳،۲]، فاطمه برزگر[۴]، افسانه ملاحسینی[۵]

۱- نویسنده مسئول: استادیار شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران. پست الکترونیکی: kamankeshm@medsab.ac.ir

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

۳- مرکز تحقیقات سلامت غذا، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

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

۵- استادیار گروه شیمی تجزیه، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۷/۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۵

چکیده

سابقه و هدف: فرآیند حرارت دادن، پختن و کباب کردن محصولات گوشتی سبب تشکیل آمین‌های آروماتیک حلقوی قطبی و غیر قطبی به عنوان ترکیبات آلاینده در مواد غذایی غنی از پروتئین می‌شود. این تحقیق با هدف اندازه‌گیری مقدار آمین‌های آروماتیک حلقوی قطبی و غیرقطبی با دو روش استخراج الکتروغشایی مسطح جدید برای اولین بار و میکرواستخراج حلال سبک و مقایسه دو روش، در گوشت کبابی انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش دو روش مؤثر استخراجی شامل استخراج حلال سبک و همچنین استخراج الکتروغشایی مسطح در مرحله آماده‌سازی نمونه به کار گرفته شدند. فاکتورهای اثرگذار در استخراج آمین‌های آروماتیک حلقوی برای هر روش به طور جداگانه بهینه شدند. همچنین ارقام شایستگی روش‌های آنالیزی پیشنهادی با یکدیگر مقایسه شدند.

یافته‌ها: مقدارهای بهینه برای هر فاکتور مؤثر در استخراج برای هر دو روش به دست آمد. آزمون‌های اعتبارسنجی هر دو روش آنالیزی انجام پذیرفت و یافته ها نشانده توانایی بالای هر دو روش در آنالیز نمونه‌های حقیقی بود. راندمان بیشتر از ۹۰ درصد برای هر دو روش، حد تشخیص بین ۰/۲ تا ۱/۷ نانوگرم بر گرم و انحراف استاندارد بین ۳/۵ تا ۸ درصد کارایی روش‌های پیشنهادی در نمونه‌های حقیقی را به خوبی اثبات می‌کند. مقادیر میزان آمین‌های آروماتیک حلقوی در گستره ND-۸ نانوگرم در گرم در نمونه‌های حقیقی یافت شد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این پژوهش ثابت کرد که روش‌های میکرواستخراجی به کار برده شده برای تعیین میزان آمین‌های آروماتیک حلقوی در محصولات گوشتی حساسیت، دقت، صحت و بازیابی بالایی دارند. همچنین حجم حلال‌های استخراجی به کار برده شده در هر دو روش بسیار کم می‌باشد که از نظر شیمی سبز نقطه قوت روش‌های پیشنهادی می‌باشند. روش‌های پیشنهادی قابلیت کاربرد برای انواع گوشت‌های کبابی را در تعیین آمین‌های آروماتیک حلقوی دارند.

واژگان کلیدی: آمین‌های آروماتیک حلقوی، گوشت قرمز کبابی، استخراج حلال سبک، استخراج الکتروغشایی مسطح، کروماتوگرافی مایع فاز معکوس

• مقدمه

شیمی تجزیه به عنوان شاخه‌ی مهمی از علم شیمی به معرفی و بررسی روش‌های جداسازی، شناسایی و تعیین مقدار ترکیبات مختلف در مواد گوناگون می‌پردازد. فرآیند تجزیه‌ای شامل مرحله‌ی آماده‌سازی نمونه، جداسازی، شناسایی، اندازه‌گیری و تحلیل داده‌ها می‌باشد. در طی سالیان اخیر مرحله آماده‌سازی به عنوان اساسی‌ترین و محوری‌ترین بخش یک فرآیند تجزیه‌ای شناخته شده‌اند (۲، ۱). سرعت، سادگی، حساسیت بالا، گزینش‌پذیری خوب، کارایی زیاد، تکرارپذیری مناسب و مصرف کم حلال‌های آلی آلاینده و قابلیت اتوماسیون پیوسته با دستگاه تجزیه‌ای از جمله فاکتورهای

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

مهم در انتخاب یک روش تجزیه‌ای می‌باشند (۴، ۳). در طول دهه‌های گذشته، تلاش پژوهشگران علم شیمی تجزیه در معرفی و توسعه‌ی روش‌های آنالیزی که شامل پارامترهای ذکر شده باشند سبب تولید روش‌های استخراجی جدید گردیده است (۸-۵).

در روش‌های میکرواستخراج حجم فاز استخراجی بسیار کمتر از حجم نمونه و در حد میکرو می‌باشد. براساس ماهیت فاز استخراجی می‌توان دو دسته‌ی مهم از روش‌های میکرواستخراجی از جمله میکرواستخراج فاز جامد و میکرواستخراج فاز مایع را نام برد (۱۱-۹). روش‌های میکرواستخراج حلال پخشی و روش‌های استخراج الکتروغشایی مسطح به عنوان دو روش پر کاربرد در انالیز و تعیین ترکیبات مختلف در نمونه‌های گوناگون مواد غذایی می‌باشند. در سال ۲۰۰۶ در دانشگاه علم و صنعت ایران روش میکرواستخراج حلال پخشی ابداع و معرفی شد (۱۲). از مزیت‌های این روش می‌توان به سادگی، سرعت زیاد، کارایی استخراج بالا، قابلیت کاربرد روش برای نمونه‌های با بافت پیچیده، توانایی بسیار خوب در حذف یا تقلیل مزاحمت بافت نمونه، تکرار پذیری بالای روش اشاره کرد (۱۶-۱۳).

در سال ۲۰۰۶، Pedersen-Bjergaard و Rasmussen برای اولین بار مهاجرت الکتروسینتیکی ترکیبات باردار را در یک سیستم سه فازی براساس استفاده از فیبرهای توخالی معرفی کردند (۱۷). این روش، استخراج الکتروغشائی نامیده شد. از جمله مزایای این روش می‌توان به حجم فوق العاده کم حلال-های دهنده و پذیرنده، کارایی‌های زیاد، حساسیت قابل توجه، فاکتور تغلیظ بسیار زیاد و قابلیت خودکارسازی با دستگاه تجزیه‌ای نام برد. در این شیوه نیز فاکتورهای مؤثر در فرآیند استخراج باید بهینه گردند. همانند روش EME معمولی، در روش میکروچیپ EME زمان استخراج، ولتاژ اعمالی، ماهیت فازهای دهنده و پذیرنده نیز می‌توانند به عنوان فاکتورهای مهم در روند فرآیند استخراج در نظر گرفته شوند.

به تازگی طراحی سیستم‌های میکروچیپ و به کارگیری غشاهای مسطح افق تازه‌ای را پیش روی آنالیز گونه‌های مختلف در طیف وسیعی از ماتریس‌های مختلف قرار داده است. تاکنون در صنعت غذا این نوآوری‌ها به ندرت به کار گرفته شده‌اند و توسعه‌ی روش‌های میکروچیپ در صنعت غذا از پتانسیل بالایی برخوردار است (۱۸). در بیست سال گذشته، شاخه‌ی میکروسیال به یکی از قابلیت‌های عمده‌ی تکنولوژی در فهم سیستم‌های آنالیزی مینیاتوری شیمی یا در اصطلاح ریزتراشه (Chip) تبدیل شده است. توسعه‌ی چیپ‌ها در زمینه‌ی حسگرها، آشکارسازها و روش‌های جداسازی از جمله پیشرفت‌های انجام شده در علم شیمی بوده است. با ورود و معرفی این سیستم‌ها مخصوصاً در روش‌های جداسازی کروماتوگرافی انقلابی عظیم به وقوع پیوسته است. با ورود و توسعه‌ی کروماتوگرافی مایع در این زمینه یک شاخه‌ی بسیار مهم در این روش به سرعت به جهانیان معرفی گردید (۲۳-۱۹)

آمین‌های آروماتیک حلقوی به عنوان ترکیبات جهش‌زا و سرطان‌زا شناخته شده اند. این ترکیبات به علت اعمال حرارت با درجه بالا به غذاهای حاوی پروتئین تشکیل می‌شودن. این ترکیبات شامل ۲-آمینو-۱-متیل-۶-فنیل ایمیدازو[4,5,b]-پیریدین (PhIP)، ۲-آمینو-۳-متیل-ایمیدازو [4,5,f] کوییولون (IQ)، ۲-آمینو-۸،۳ دی متیل ایمیدازو [4,5,f] کوییولون (MeIQ)، ۲-آمینو-۴،۳ دی متیل ایمیدازو [4,5,f] کوییولوکسالین (MeIQx)، هستند. خطر ابتلا به سرطان سینه، معده، روده بزرگ، پانکراس، پروستات و... در اثر مصرف غذاهای کبابی و سرخ شده حاوی ترکیبات آمینهای آروماتیک هتروسیکل وجود دارد (۲۵، ۲۴). عواملی از قبیل مدت زمان پخت، روش پخت، نوع گوشت کبابی، میزان چربی موجود در گوشت، میزان آمینواسیدهای آزاد، کراتین، کراتینین و... بر میزان تشکیل و نوع آمین‌های آروماتیک در گوشت حرارت-دیده تاثیرگذار می‌باشند (۲۶).

در این مطالعه دو روش استخراج الکتروغشایی مسطح جدید برای اولین بار و میکرواستخراج حلال سبک به منظور اندازه‌گیری مقدار آمین‌های آروماتیک حلقوی قطبی و غیرقطبی در گوشت کبابی به کار برده می‌شوند و نتایج این دو مطالعه با یکدیگر مقایسه می‌گردد. دو روش انتخابی از دقت، صحت، سادگی و حساسیت بالایی جهت اندازه گیری آمین‌های آروماتیک حلقوی در نمونه های گوشت کبابی دارا می‌باشند.

• مواد و روش‌ها

استانداردها، مواد شیمیایی و نمونه‌ها: استانداردهای ۴ نوع از آمین‌های آروماتیک حلقوی شامل ۲-آمینو-۱-متیل-۶-فنیل ایمیدازو[4,5,b]-پیریدین (PhIP)، ۲-آمینو-۳-متیل-ایمیدازو [4,5,f] کوییولون (IQ)، ۲-آمینو-۸،۳ دی متیل ایمیدازو [4,5,f] کوییولون (MeIQ)، ۲-آمینو-۴،۳ دی متیل ایمیدازو [4,5,f] کوییولوکسالین (MeIQx)، از شرکت Santa Cruz Biotechnology(Dallas,TX,USA) تهیه شد. متانول و استونیتریل HPLC grade از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) خریداری شد. استون، ۱-اکتانول، استیک اسید،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

سدیم استات، هیدروکلریک اسید (۳۷٪w/w)، سدیم کلراید و پتاسیم هیدروکسید نیز از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) تهیه شد. محلول‌های کارز از قبیل پتاسیم هگزا فروسیانید (کارزI) و استات روی (کارزII) به ترتیب از Panreac (Spain) و Merck(Darmstadt, Germany) تهیه شدند. آب نیز با سیستم GFL2104(Burgwedel, Germany) تخلیص شد. ۲-نیتروفنیل اکتیل اتر، دی-۲-اتیل هگزیل فسفات و تریس-۲-اتیل هگزیل فسفات با درصد خلوص بیشتر از ۹۵ درصد از شرکت Fluka کشور سوئیس خریداری گردید. محلول استاندارد مرجع در غلظت ۲۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید. سپس محلول‌های کاری ۰/۵، ۱، ۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ نانوگرم بر میلی‌لیتر با رقت‌سازی توسط متانول بدست آمد. همه مواد شیمیایی و استانداردها در دمای یخچال نگهداری شدند. نمونه‌های کباب کوبیده از سوپر مارکت‌ها و رستوران‌های مختلف شهر تهران تهیه شدند.

اطلاعات دستگاهی: دستگاه هضم ماکروویو مدل MDS-10 ساخت شرکت Sineo، شانگهای چین دارای ۲ مگنترون با قدرت ۱۸۰۰ وات و کنترل فشار ۰ تا ۱۰ مگاپاسکال (psi ۱۵۰۰) و ماکزیمم دمای ۳۰۰ درجه به کار گرفته شد. دستگاه اعمال ولتاژ 8760T3 با گستره‌ی ولتاژ ۰ تا ۶۰۰ ولت و با خروجی جریان ۰ تا ۵۰۰ میلی‌آمپر از شرکت پویا پژوهش، تهران ایران خریداری شد. الکترود پلاتین کاتد و آند به ترتیب با قطر ۰/۲ و ۰/۵ میلی‌متر از شرکت پارس پلاتین، تهران، ایران تهیه شدند. غشاء مسطح از جنس پلی پروپیلن Accurel 2E HF (R/P) با قطر ۱۰۰ میکرومتر و و اندازه‌ی ذره‌ی ۰/۲ میکرومتر از شرکت Membrana آلمان خریداری شد. طراحی-های کانال با استفاده از دستگاه aSMG-302 CNC micromilling ساخت شرکت Sadrafan Gostar Indus-tries تهران، ایران ایجاد شدند. آنالیز دستگاهی توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا مدل Agilent 1260 series USA که با پمپ چهارگانه G1311C ، واحدهای چند گانه انتقال حلال، محفظه اختلاط‌سازی، گاززدای تحت خلا و دریچه شش گانه(Rheodyne model 7125, USA) ، آشکارساز G1314B UV-Vis و ستون ODS(250 mm × 4 mm I.D., 5 µm) تجهیز شده است. نرم‌افزار Agilent Chemstation G2170AA برای پردازش اطلاعات حاصل مورد استفاده قرار گرفت. جداسازی ۴ نوع از آنالیت‌های ذکر شده توسط بافر استات سدیم (pH=۳) و استونیتریل با نسبت V/V ۹۲:۸ به عنوان فاز متحرک با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و طول موج ۲۶۴ نانومتر انجام گرفت. محفظه تزریق ۲۰ میکرولیتر بوده و دمای ستون ۲۵ درجه سانتی‌گراد بوده است. دستگاه هضم مایکروویو Delonghi 7 days (Treviso, Italy) برای استخراج اولیه آنالیت‌های مذکور مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه کباب کوبیده طبق استاندارد ایران: کباب کوبیده طبق استاندارد ملی ایران شماره ۴۶۲۲ فرآورده‌ای است با حداقل ۷۰ درصد گوشت چرخ شده از دام‌های حلال گوشت (مطابق با استاندارد ملی ایران شماره۹۷۱۷ و شماره ۴۸۵۰: سال۱۳۷۸ و شماره۴۸۴۶: سال۱۳۷۸ و شماره۳۲۲۸)، به همراه سایر مواد اولیه از قبیل پیاز (مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۸۷)، نمک خوراکی (مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۶) و ادویه (مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۳۶۷۷) که در شرایط خوب و بهداشتی تولید، بسته‌بندی و نشانه‌گذاری شده باشد.

روش تهیه کباب کوبیده در آزمایشگاه: به منظور تهیه نمونه‌های کباب کوبیده طبق استاندارد ملی ایران، ابتدا گوشت حاوی چربی مشخص با چرخ گوشت دو بار چرخ می‌شود. سپس تعداد مشخصی پیاز (به ازای هر یک کیلو گوشت ۲۰۰ گرم پیاز) رنده شده و از صافی عبور داده می‌شود تا آب آن‌ها گرفته شود و به گوشت اضافه می‌شود. گوشت چرخ کرده به همراه ۱ درصد نمک، ۰/۱ درصد فلفل و ۰/۲ درصد زردچوبه که مقدار آن در همه‌ی نمونه‌ها یکسان است، به پیاز رنده شده اضافه شده و مخلوط کاملاً ورز داده می‌شود تا زمانی که گوشت حالت چسبندگی پیدا کند. حال برای جلوگیری از خراب شدن گوشت، نمونه در یخچال با دمای ۴°C نگهداری می‌شود. حدود ۵-۴ ساعت نمونه در یخچال نگه داشته می-شود تا چسبندگی گوشت به سیخ مناسب شود. حال مقدار های مشخص از گوشت با وزن‌های یکسان و با طول یکسان به سیخ کشیده می‌شود و در معرض حرارت قرار داده می‌شوند تا کباب شوند.

آماده‌سازی نمونه برای میکرواستخراج حلال سبک: ابتدا نمونه‌ی گوشت کبابی تکه تکه شدند و با استفاده از چرخ گوشت دو بار چرخ شده و به صورت یکنواخت درآمد. سپس نمونه در غلظت ۵۰ نانوگرم در گرم اسپایک شد و به خوبی به صورت دستی هم زده شد تا تمام نقاط نمونه از استاندارد اضافه شده به صورت یکنواخت برخوردار گردد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هیدرولیزی پتاسیم هیدروکسید (در غلظت ۱ مولار)، استونیتریل و اتانول به ترتیب با نسبت‌های ۷۰:۲۰:۱۰ به ۱ گرم از نمونه اضافه شد و به مدت ۶۰ ثانیه تحت امواج ۵۰ مگاهرتز مایکروویو قرار گرفت. سپس نمونه در ۹۰۰۰rpm

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]
[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. در مرحله بعد فاز رویی به جدا شد و pH آن در مقدار ۳ تنظیم گردید. سپس ۱ میلی-لیتر از هرکدام از محلول‌های استات روی (در غلظت ۰/۴ مولار) و هگزافروسیانید پتاسیم (در غلظت ۰/۲۵ مولار) اضافه شدند. پس از سانتریفیوژ مجدد در شرایط قبلی، فاز رویی جدا شده و pH نهایی توسط پتاسیم هیدروکسید غلیظ تا عدد ۱۲ تنظیم شد. سپس آخرین مرحله سانتریفوژ انجام گرفت و رسوبات احتمالی گرفته شد و یک گرم نمک کلرید سدیم به محلول اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر ۱-اکتانول به عنوان حلال استخراجی سبک و ۶۰۰ میکرولیتر متانول به عنوان حلال کمکی در پخش کردن حلال استخراجی در سراسر محلول به محلول اضافه شد و سپس حلال استخراجی جدا شد و به دستگاه HPLC تزریق شد

آماده‌سازی نمونه برای الکترواستخراج غشاء مسطح: در مرحله استخراج ابتدا مقداری معینی گوشت کباب شده آسیاب و غلظت ۵۰ نانوگرم در گرم استاندارد مخلوط HAAها به آن اسپایک شد. به منظور اطمینان از پخش یکنواخت استاندارد اضافه شده در همه‌ی نقاط نمونه، محلول حاصل کاملاً مخلوط و همگن شد. سپس ۰/۱ گرم نمونه به همراه یک میلی‌لیتر پتاسیم هیدروکسید (۱ مولار)، متانول و استون (به ترتیب نسبت ۷۰، ۲۰، ۱۰ درصد) در ظرف ماکروویو ریخته و به مدت ۳۰ ثانیه تحت امواج با فرکانس ۵۰۰ مگاهرتز قرار داده شد. بعد از سرد شدن، محلول به میکرولوله ۲ میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۵ دقیقه با دور g ۲۶۸۳ سانتریفوژ شد. pH فاز رویی با استفاده از هیدروکلریک اسید به ۳ رسانده شد. سپس برای ته‌نشین شدن پروتئین‌های موجود در محلول حاصل به آن ۰/۱ میلی لیتر محلول کارز I و ۰/۱ میلی لیتر محلول کارز II اضافه و محلول به خوبی هم زده شد. محلول به دست آمده به مدت ۵ دقیقه و با سرعت g ۲۶۸۳ تحت سانتریفوژ قرار داده شد. در نهایت فاز رویی با استفاده از سرنگ جدا و صاف شد و جهت انجام فرآیند الکترواستخراج نگهداری شد

به منظور ساخت میکروچیپ، چهار قطعه از جنس پلی متیل متاآکریلات در ابعاد مربعی با طول و عرض ۲ سانتی‌متر بریده شد. دو قطعه از این ۴ قطعه عمق ۵ میلی‌متری و دو قطعه بعدی عمق ۲ میلی‌متری داشتند. به عنوان جایگاه فاز دهنده و فاز پذیرنده یک میکروکانال به عمق ۲ میلی‌متر و شعاع ۰/۲ میلی‌متر روی هر یک از قطعاتی که عمق ۲ میلی متر داشتند تراش داده شد. به منظور قرار دادن الکترودهای کاتد و آند، دو سوراخ روی هر کدام از قطعات دارای عمق ۵ میلی متر، با فاصله‌ی ۲ میلی‌متر از یکدیگر ایجاد شد. همچنین به منظور تزریق و یا خارج کردن فاز پذیرنده، دو سوراخ به قطر یک میلی‌متر برای قرار دادن میکروشلنگ در یکی از قطعات به عمق ۵ میلی متر ایجاد شد. در یکی از سوراخ‌ها میکروشلنگ برای ورود فاز پذیرنده قرار داده شد. برای سوراخ بعدی ایجاد شده، دوباره یک میکروشلنگ داخل سوراخ گذاشته و چسبانده شد. در سر دیگر میکروشلنگ جهت تزریق فاز استخراج شده یک سوزن سرنگ HPLC تعبیه شد. در این مرحله هر کدام از قطعات ۲ و ۵ میلی متری توسط کلروفرم به یکدیگر چسبانده شدند و سپس به مدت نیم ساعت در آون با درجه حرارت ^{O}C ۱۰۰ قرار داده شدند. در این مرحله دو قطعه ریزتراشه ایجاد شد که پایه آن، قطعات با عمق ۵ میلی متری بود و قطعات با عمق ۲ میلی متری روی آنها قرار گرفته شدند. در نهایت دو سوراخ جهت پیچ و مهره کردن قطعات به یکدیگر در دو ریز تراشه ایجاد گردید. در مرحله استخراج قطعه‌ی کوچکی از غشاء مسطح از جنس پلی پروپیلن به اندازه‌ای که روی میکروکانال‌های فاز دهنده و پذیرنده را بپوشاند بریده شد و به حلال آلی NPOE حاوی ۵ درصد DEHP به مدت ۱۰ ثانیه آغشته شد و بین دو ریز تراشه قرار داده و پیچ و مهره شد. سپس ۶۰ میکرولیتر محلول نمونه به عنوان فاز دهنده و ۳۰ میکرولیتر HCl ۰/۱ مولار به عنوان فاز پذیرنده توسط میکروسرنگ در کانال‌ها تزریق شد. سپس به این سیستم، پتانسیل ۱۰۰ ولت به مدت ۱۵ دقیقه اعمال شد و فاز پذیرنده به صورت مستقیم به محفظه تزریق HPLC تزریق گردید. برای هر آزمایش از غشاء جدید استفاده شد.

بهینه‌سازی روش: در این مطالعه پارامترهای مؤثر بر استخراج ترکیبات آمین‌های آروماتیک هتروسیکل از گوشت کبابی با استفاده از دو روش میکرواستخراج حلال سبک و الکترواستخراج غشاء مسطح مورد بررسی قرار گرفتند. نوع و حجم حلال پخشی، نوع و حجم حلال استخراجی، pH محلول نمونه و اثر قطبیت محلول نمونه (اثر نمک) در روش میکرواستخراج حلال سبک و فاکتورهای ولتاژ اعمالی، زمان استخراج و فاکتور موازنه بار (ماهیت فاز پذیرنده و دهنده از نظر غلظت H^+ محیط) انتخاب و با استفاده از روش یک فاکتور در زمان بررسی شدند. آزمایش‌های مرحله‌ی بهینه-سازی ۳ بار تکرار شدند و میانگین جواب‌های به دست آمده از سه آزمایش به عنوان پاسخ نهایی در نظر گرفته شد. همچنین تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS مدل V.20.0 با حداکثر خطای قابل قبول ۵ درصد ($P<۰/۰۵$) استفاده شد.

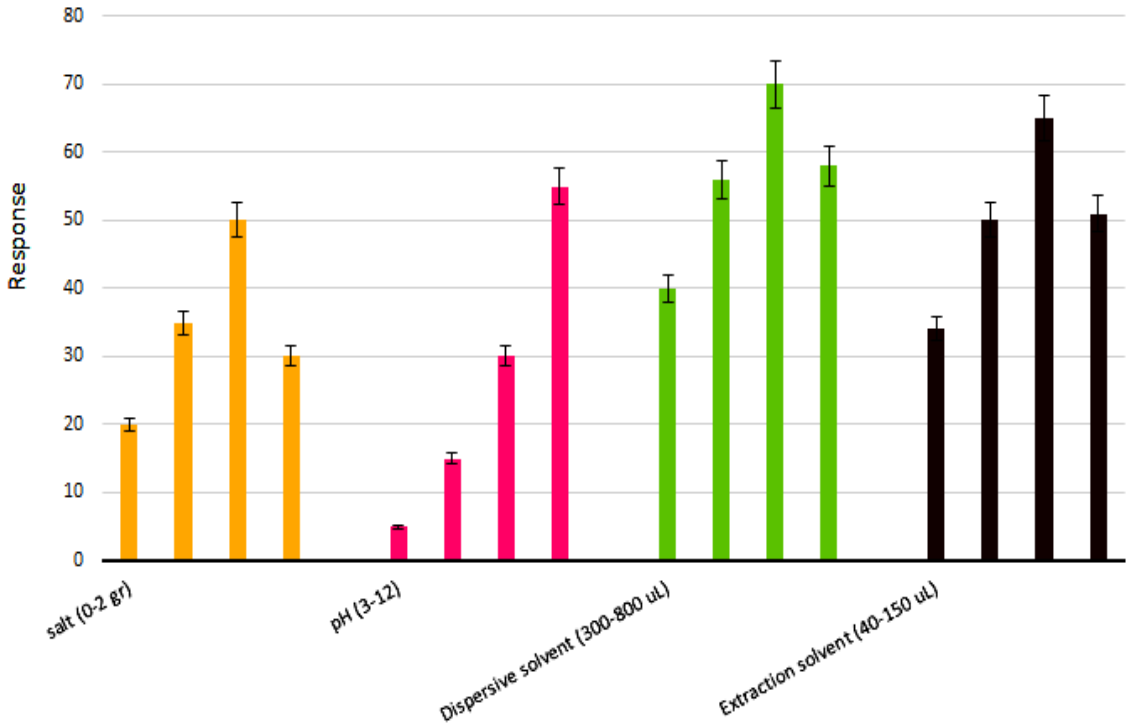
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

• یافته‌ها

پارامترهای مؤثر در استخراج میکرواستخراج حلال سبک: به منظور انتخاب حلال استخراجی و پخشی مناسب، با آزمون و سعی و خطاهای اولیه که در آزمایشگاه صورت پذیرفت، ۴ حلال پرکاربرد در میکرواستخراج شامل کلروفرم، هگزانول، ۱-اوکتانول و دی ایزوبوتیل کتون انتخاب شدند. همچنین حلال‌های استونیتریل، متانول، اتانول و استون استون به عنوان حلال پخشی مورد آزمون قرار گرفتند. به منظور بهینه سازی حجم حلال استخراجی گستره‌ی ۴۰ تا ۱۵۰ میکرولیتر در نظر گرفته شد. همچنین گستره‌ی ۳۰۰ تا ۸۰۰ میکرولیتر از حلال پخشی برای کسب بهترین حجم حلال پخشی مورد بررسی قرار گرفت. نمک و pH به عنوان فاکتورهای مهم بعدی به ترتیب در گستره ی pH از ۳ تا ۱۲ و مقادیر ۰، ۰/۵، ۱، ۵/ و ۲ گرم نمک انتخاب شدند.

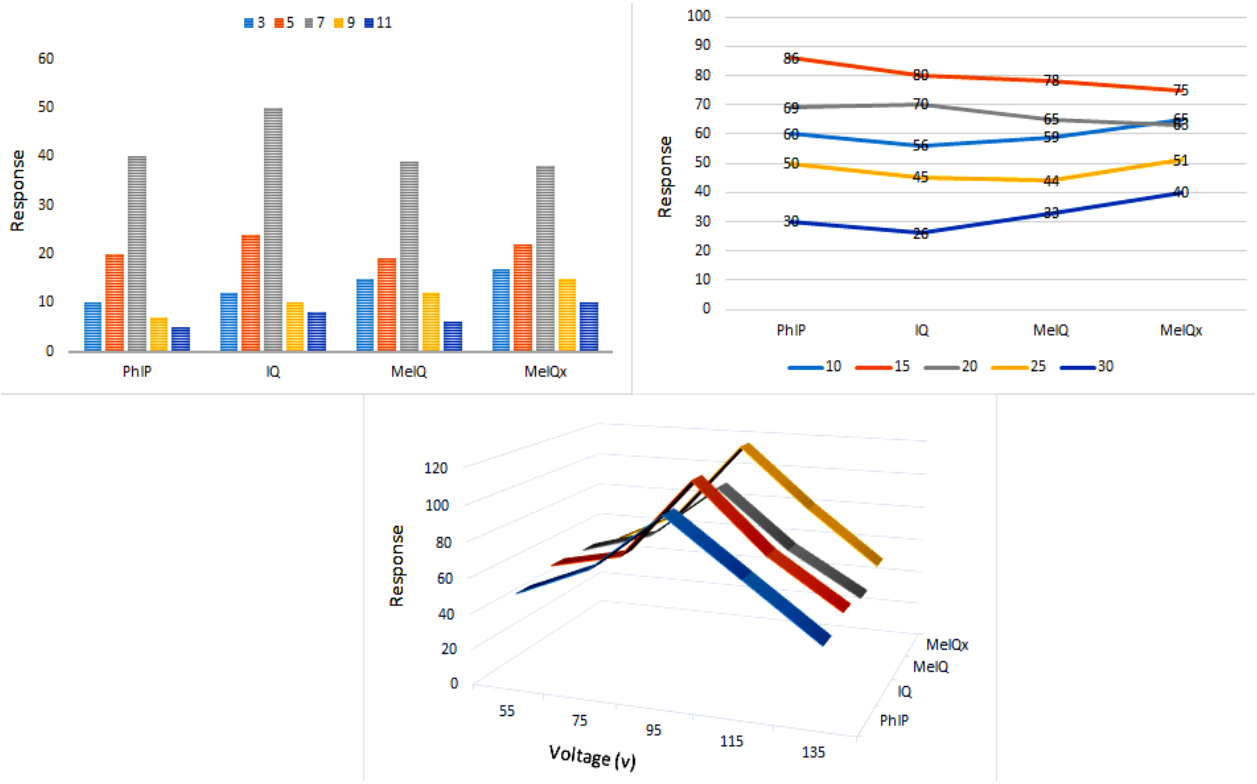
پارامترهای مؤثر در استخراج الکتروغشایی مسطح: در روش استخراج الکتروغشائی نیرو محرکه‌ی اصلی که سبب مهاجرت گونه‌ی مورد نظر از میان غشاء می‌شود توسط میدان الکتریکی تأمین می‌گردد. قدرت میدان الکتریکی به ولتاژ اعمال شده بستگی دارد. بنابراین به منظور بهینه‌سازی این فاکتور مهم، گستره‌ی ولتاژ ۵۰ تا ۱۵۰ ولت انتخاب شد و مورد بررسی قرار گرفت. یکی از فاکتورهای تأثیرگذار بر فرآیند استخراج الکتروغشائی زمان اعمال ولتاژ می‌باشد. گستره‌ی زمانی ۱۰ تا ۳۰ دقیقه به عنوان بازه‌ی مناسب به منظور دستیابی به بهترین زمان استخراج مورد بررسی قرار گرفت. همچنین دو فاکتور pH فاز دهنده و pH فاز پذیرنده بر روند استخراج HAAها بررسی شد. براساس تجربیات و مطالعات پیشین غلظت H^+ برای فاز پذیرنده ۱۰۰ میلی مولار و گستره‌ی غلظتی ۰ تا ۱۰۰ میلی‌مولار H^+ برای فاز دهنده انتخاب شد و مورد بررسی قرار گرفت.



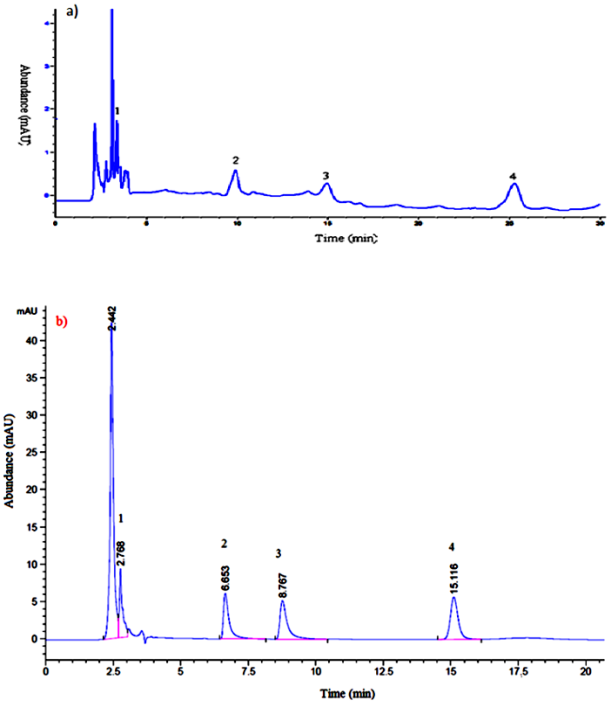
شکل ۱. بهینه سازی پارامترهای مؤثر در روش میکرواستخراج حلال سبک

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]



شکل ۲. بهینه سازی متغیرهای مؤثر در استخراج الکتروغشایی مسطح: الف) مقدار ولتاژ اعمال شده، ب) مدت زمان اعمال ولتاژ، ج) pH فاز دهنده



شکل ۳. کروماتوگرام مربوط به آمین‌های آروماتیک قطبی و غیر قطبی استخراج شده با تکنیک‌های پیشنهادی (۱: PhIP، ۲: IQ، ۳: MeIQ، ۴: MeIQX).

شکل a مربوط به روش میکرواستخراج حلال سبک و شکل b مربوط به استخراج الکتروغشای مسطح می‌باشد.

معتبرسازی روش های پیشنهادی: به منظور اعتبارسنجی و ارزیابی نتایج روشهای پیشنهادی پارامترهای گستره‌ی خطی، رگرسیون، حد تشخیص، حد تعیین، بازیابی، تکرارپذیری و فاکتور تغلیظ برای هر دو روش محاسبه و در جدول ۱ نشان داده شده است. همچنین تحلیل آماری نتایج که با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت عدم معنی داری نتایج در دو روش پیشنهادی را نشان داد.

مقادیر یافت شده آمین‌های آروماتیک قطبی و غیر قطبی در نمونه های حقیقی: مقدار آمین‌های آروماتیک قطبی (MeIQ, MeIQx, IQ) و غیر قطبی(PhIP) موجود و یافت شده در نمونه های مختلف گوشت‌های کبابی قرمز در جدول ۲ نمایش داده شده است.

• بحث

پارامترهای مؤثر در روش میکرواستخراج حلال سبک: از مهم‌ترین پارامترهای مؤثر در تکنیک میکرواستخراج حلال سبک، نوع حلال استخراج کننده می‌باشد. در این پژوهش ۱-اکتانول به علت نشان دادن بازدهی بالا در مرحله‌ی استخراج ترکیبات مورد هدف و سازگاری مناسب با دستگاه آنالیزی به عنوان حلال استخراجی مناسب انتخاب گردید.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

جدول ۱. ارقام شایستگی دو روش پیشنهادی به کار برده شده در آنالیز آمین‌های آروماتیک هتروسیکل

آنالیت	گستره‌ی خطی (نانوگرم بر گرم)	ضریب همبستگی	درصد بازدهی	حد تشخیص (نانوگرم بر گرم)	حدتعیین (نانوگرم بر گرم)	انحراف استاندارد نسبی (٪)	فاکتور تغلیظ
روش میکرواستخراج حلال سبک	۱-۱۰۰۰	۰/۹۷۰-۰/۹۹۰	۸۵-۹۰	۲/۵-۳	۸-۱۰	۵/۵-۹	۱۰۰-۱۲۰
روش استخراج الکتروغشاء مسطح	۵-۱۰۰۰	۰/۹۹۹۰-۰/۹۹۹۹	بالاتر از ۹۵	۰/۸-۲	۲/۵-۶	۵-۷	۲۵-۴۰

جدول ۲. میانگین غلظت بر حسب نانوگرم بر گرم از آمین‌های آروماتیک قطبی و غیرقطبی در گوشت‌های قرمز کبابی

	روش استخراج الکتروغشاء مسطح				روش میکرواستخراج حلال سبک			
نمونه	PhIP	IQ	MeIQ	$MeIQ_X$	PhIP	IQ	MeIQ	$MeIQ_X$
۱	ND	۵/۲± ۰/۳۱	۶/۶± ۰/۳۴	۴± ۰/۲۱*	ND	۷± ۰/۴۱	۸± ۰/۵۰	۵/۳± ۴۲
۲	۲/۲ ± ۰/۱۰	۳/۷± ۰/۲۰	۷/۵± ۰/۴۰	ND	ND	۴/۶± ۰/۳۰	۶± ۰/۳۳	ND
۳	۷± ۰/۳۰	۴/۱ ± ۰/۲۴	۸ ± ۰/۴۲	۵/۶± ۰/۳۰	۶/۴± ۰/۲۳	۵/۳ ± ۰/۳۱	۸ ± ۰/۴۵	۶/۸± ۰/۵۵
۴	۴/۲ ± ۰/۲۰	ND	۵/۱± ۰/۳۰	۱/۷± ۰/۱۰	۴± ۰/۱۴	ND	۶/۱± ۰/۳۵	ND

ND: تشخیص داده نشد.

*میانگین غلظت ± انحراف استاندارد

سطح معنی داری: $p<۰/۰۵$ و تفاوت معنی داری بین دو روش کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد.

در بحث تعیین حجم بهینه اکتانول، در حجم‌های کمتر از ۴۰ میکرولیتر به دلیل کم بودن حجم حلال آلی تمام آنالیت‌ها نمی‌توانند از فاز آبی به فاز آلی استخراج شوند و همچنین جمع‌آوری تکرارپذیر حلال آلی در پایان استخراج با مشکل رو به رو است. در نتیجه میزان استخراج کم است. در حجم‌های بیشتر از ۱۰۰ میکرولیتر نیز به دلیل زیاد شدن حجم حلال آلی و رقیق شدن محلول، فاکتور پیش‌تغلیظ کاهش می‌یابد. بنابراین حجم بهینه ۱۰۰ میکرولیتر به عنوان حجم مناسب حلال استخراجی در نظر گرفته شد. از مهم‌ترین ویژگی‌های مورد نظر در انتخاب حلال پخشی در روش ریزاستخراج، امتزاج پذیری مناسب این حلال با فاز آبی و نیز با حلال استخراج کننده می‌باشد. در این تحقیق از بین سه نوع حلال استون، متانول و اتانول نتایج به دست آمده از به کارگیری حلال متانول تاکید کننده‌ی سازگاری بهتر و بیشتر این حلال با شرایط آزمایش می‌باشد. زیرا متانول به علت قطبیت بالا باعث می‌شود تا ۱-اکتانول به خوبی در محلول آبی نمونه پخش شود. بنابراین متانول به عنوان مناسب‌ترین حلال پخشی انتخاب و در مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفت. به منظور کسب بهترین حجم حلال پخشی نیز شواهد آزمایشگاهی نشان داد که در حجم‌های کمتر از ۶۰۰ میکرولیتر متانول حالت ابری (کدر) در محلول به خوبی شکل نمی‌گیرد و فرآیند استخراج مختل می‌شود. حجم‌های بیشتر از ۶۰۰ میکرولیتر متانول نیز باعث کاهش ضریب توزیع ترکیبات مورد نظر در حلال آلی استخراج کننده به علت اثر رقت در نتیجه کاهش میزان استخراج می‌شود. بنابراین حجم بهینه برای این حلال ۶۲۵ میکرولیتر انتخاب گردید. حلالیت آنالیت‌های مورد نظر در فاز آبی هنگامی که قدرت یونی محیط افزایش می‌یابد، کاهش می‌یابد زیرا مولکول‌های آب درگیر مولکول‌های مولد قطبیت در محیط شده (مثلا نمک اضافه شده در محیط) و این عمل یک نوع رهایی برای آنالیت‌های مور نظر برای استخراج به وجود می‌آورد که به آن اثر salting out نمک می‌گویند. همین امر باعث افزایش کارایی در فرآیند ریزاستخراج می‌شود. براساس نتایج بدست آمده بهترین استخراج، زمانی صورت می‌گیرد که مقدار سدیم کلرید مورد استفاده ۱ گرم باشد. کاهش کارایی استخراج در مقدارهای بالاتر از ۱ گرم نمک به دلیل ایجاد حالت فوق اشباع در محلول بود و ذرات نمک در این مقدار توانایی حل شدن در فاز آبی را نداشته و عملا ادامه‌ی استخراج غیرممکن بود. جهت انجام فرآیند استخراج در شرایط بهینه مقدار pH عدد ۱۲ با بیشترین درصد بازدهی استخراج به دست آمد. اصولا به دلیل ساختار آمینی HAAs در محیط‌های قلیایی تمایل آن‌ها برای استخراج در یک حلال آلی بیشتر خواهد بود. زیرا در این محیط ساختار HAAs به سمت شکل خنثی تغییر می‌کند و در نتیجه تمایل این آنالیت به نفوذ از نمونه‌ی آبی به حلال آلی بیشتر می‌شود (شکل ۱).

پارامترهای مؤثر در استخراج الکتروغشایی مسطح: نتایج بهینه سازی فاکتورهای مؤثر در استخراج الکتروغشایی مسطح در شکل ۲ نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده با افزایش مقدار ولتاژ اعمالی تا ۱۰۰ ولت روند استخراج HAAها افزایشی و بعد از ولتاژ ۱۰۰ ولت روند کاهشی مشاهده می‌شود. یکی از دلایل اصلی این امر تعادلی بودن فرآیند EME می‌باشد. همچنین در مقادیر بالای ولتاژ اعمالی احتمال تشکیل حباب، انجام واکنش‌های الکترولیز، از دست دادن قسمتی از غشاء به مرور زمان و در نتیجه افزایش احتمال تشکیل قوس

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

الکتریکی شدت می‌یابد. بنابراین مقدار ۱۰۰ ولت به عنوان مقدار بهینه برای ولتاژ اعمالی انتخاب و در بقیه‌ی آزمایش‌ها به کار گرفته شد. همچنین با علم بر تعادلی بودن فرآیند الکتروغشائی تا مدت زمان ۱۵ دقیقه افزایش در کارایی استخراج مشاهده می‌شود. در زمان‌های بیشتر از ۱۵ دقیقه کارایی استخراج کاهش می یابد. کاهش میزان استخراج پس از این زمان ممکن است به دلیل اشباع شدن فاز پذیرنده از آنالیت یا افزایش احتمال استخراج بازگشتی در نتیجه‌ی افزایش pH فاز پذیرنده به دلیل واکنش‌های الکترولیز باشد. pH محلول نمونه باید به حدی اسیدی باشد که گونه‌ی بازی کاملاً یونیزه شود. فرم پروتونه‌ی آنالیت‌ها می‌تواند با مهاجرت الکتروسینتیکی از فاز دهنده به فاز پذیرنده انتقال یابد. از طرفی pH فاز پذیرنده باید کاملاً اسیدی باشد تا از پروتون‌زدایی گونه‌ها جلوگیری کرده و احتمال نفوذ برگشتی به داخل فاز آلی را کم کند. میزان استخراج آنالیت با افزایش غلظت H^+ در فاز پذیرنده افزایش می‌یابد. مهمترین دلیل این افزایش در میزان استخراج آنالیت، کاهش نسبت غلظت یون‌ها در فاز دهنده نسبت به فاز پذیرنده است. با کاهش pH فاز پذیرنده (کمتر از pK_a گونه‌ها) آنالیت‌ها به راحتی به این فاز متمایل خواهند شد اما افزایش غلظت H^+ در فاز پذیرنده با افزایش میزان الکترولیز و تشکیل حباب همراه خواهد بود. همچنین افزایش غلظت گونه‌های یونی در فاز پذیرنده سبب افزایش میزان عبور از غشاء شده که این امر سطح جریان را افزایش داده و منجر به افزایش حرارت و در نتیجه ناپایداری غشاء مایع می‌گردد. همچنین افزایش سطح جریان منجر به افزایش واکنش‌های الکترولیز و تشکیل حباب می‌گردد که عدم قطعیت را افزایش می‌دهد. براساس آزمایشات اولیه در مورد افزایش غظت هیدروکلریک اسید در فاز دهنده (با ثابت بودن pH فاز پذیرنده در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار) مشاهده شد این افزایش غلظت می‌تواند رقابت یون‌های H^+ اضافی در محلول را با یون‌های آنالیت برای عبور از میان غشاء را سبب شود و باعث کاهش کارایی استخراج گردد. بنابراین در فاز دهنده هیچ‌گونه H^+ اضافی به محلول آزمایش اضافه نگردید.

معتبرسازی روش‌های پیشنهادی: نتایج اعتبارسنجی روش‌های پیشنهادی نشان داد که پارامترهای گستره‌ی خطی، رگرسیون، بازیابی و تکرارپذیری برای هر دو روش مشابه می‌باشند و اختلاف چشم‌گیری ندارند. همچنین حساسیت هر دو روش بالا و حساسیت روش استخراج الکتروغشاء مسطح نسبت به میکرواستخراج حلال سبک بهتر می‌باشد. فاکتور تغلیظ روش میکرواستخراج حلال سبک نسبت به روش استخراج الکتروغشاء مسطح براساس تفاوت در مرحله ی آماده سازی نمونه و حجم حلال‌های استخراجی بیشتر میباشد.

مقادیر یافت شده آمین‌های آروماتیک قطبی و غیر قطبی در نمونه های حقیقی: مقدار آمین‌های آروماتیک قطبی (MeIQ, MeIQx, IQ) و غیر قطبی (PhIP) موجود و اندازه‌گیری شده در نمونه‌های مختلف گوشت‌های قرمز کبابی به روش میکرواستخراج حلال سبک در گستره‌ی ۸-۴ نانوگرم در گرم و به روش استخراج الکتروغشاء مسطح در گستره‌ی ۸-۱/۷ نانوگرم در گرم به دست آمد. نمونه‌هایی که غلظت HAAs در آن‌ها ND گزارش شده اند مقادیر HAAs در آن‌ها کمتر از حساسیت روش‌های مورد بررسی بوده‌اند. مقایسه معنی داری نتایج به دست آمده با مقدار $p<۰/۰۵$ نشان داد که بین مقادیر میانگین HAAs تعیین شده توسط دو روش تفاوت معنی داری وجود ندارد و نتایج در گستره‌ی انحراف استاندارد نسبی گزارش شده با یکدیگر متفاوت هستند.

در تحقیق حاضر، دو روش استخراجی جدید، مؤثر و پرکاربرد در آنالیز ترکیبات آلاینده و پرخطر آمین‌های آروماتیک هتروسیکل قطبی و غیرقطبی موجود در گوشت‌های قرمز کبابی به کار برده شدند و نتایج این دو روش با یکدیگر مقایسه شدند. در تکنیک استخراج حلال سبک سادگی، ارزانی، سرعت و دقت بالای روش و در روش الکترواستخراج مسطح کاهش چشم گیر حجم حلال استخراجی، کاهش زمان استخراج، بازدهی بالای روش، افزایش انتخاب‌پذیری و حساسیت بالا از مزیت‌های هر دو روش استخراجی می‌باشند. کاربرد دو روش در مورد نمونه‌های حقیقی بسیار راحت و با قابلیت تطبیق زیاد هستند. نتایج آزمون‌های اعتبارسنجی و ارزیابی نشان داد که هر دو روش از توانایی و اعتبار بالایی جهت آنالیز ترکیبات آمین‌های هتروسیکل آروماتیک قطبی و غیرقطبی در نمونه‌های حقیقی برخوردار هستند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

References

1. Mitra S. Sample preparation techniques in analytical chemistry: John Wiley & Sons; 2004.
2. Chen Y, Guo Z, Wang X, Qiu C. Sample preparation. Journal of Chromatography A. 2008;1184(1-2):191-219.
3. Kamankesh M, Mohammadi A, Hosseini H, Tehrani ZM. Rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meat using microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. Meat science. 2015;103:61-7.
4. Mohammadi A, Tavakoli R, Kamankesh M, Rashedi H, Attaran A, Delavar M. Enzyme-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;804:104-10.
5. Makoś P, Słupek E, Gębicki J. Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques–A review. Microchemical Journal. 2020;152:104384.
6. Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. Microchemical Journal. 2020;152:104319.
7. Durak BY, Chormey DS, Firat M, Bakirdere S. Validation of ultrasonic-assisted switchable solvent liquid phase microextraction for trace determination of hormones and organochlorine pesticides by GC–MS and combination with QuEChERS. Food chemistry. 2020;305:125487.
8. Napylov A, Reyes-Garces N, Gomez-Rios G, Olkowicz M, Lendor S, Monnin C, et al. In Vivo Solid-Phase Microextraction for Sampling of Oxylipins in Brain of Awake, Moving Rats. Angewandte Chemie International Edition. 2020;59(6):2392-8.
9. Jeleń HH, Majcher M, Dziadas M. Microextraction techniques in the analysis of food flavor compounds: A review. Analytica chimica acta. 2012;738:13-26.
10. Bordagaray A, Millán E, Garcia-Arrona R. A review on microextraction techniques for selected triazole fungicides determination in water and food samples. J Food Chem Nanotechnol. 2016;2(3):128-37.
11. Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A. New extraction media in microextraction techniques. A review of reviews. Microchemical Journal. 2020;153:104386.
12. Rezaee M, Assadi Y, Hosseini M-RM, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. Journal of Chromatography A. 2006;1116(1-2):1-9.
13. Rykowska I, Ziemblińska J, Nowak I. Modern approaches in dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME) based on ionic liquids: A review. Journal of molecular liquids. 2018;259:319-39.
14. Almeida C, Fernandes J, Cunha S. A novel dispersive liquid–liquid microextraction (DLLME) gas chromatography-mass spectrometry (GC–MS) method for the determination of eighteen biogenic amines in beer. Food Control. 2012;25(1):380-8.
15. Mashayekhi HA, Abroomand-Azar P, Saber-Tehrani M, Husain SW. Rapid determination of carbamazepine in human urine, plasma samples and water using DLLME followed by RP–LC. Chromatographia. 2010;71(5-6):517-21.
16. Agus BAP, Hussain N, Selamat J. Quantification of PAH4 in roasted cocoa beans using QuEChERS and dispersive liquid-liquid micro-extraction (DLLME) coupled with HPLC-FLD. Food chemistry. 2020;303:125398.
17. Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Electrokinetic migration across artificial liquid membranes: new concept for rapid sample preparation of biological fluids. Journal of Chromatography A. 2006;1109(2):183-90.
18. Maurice A, Theisen J, Gabriel J-CP. Microfluidic Lab-on-Chip Advances for Liquid-Liquid Extraction Process Studies. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2020.
19. Mirasoli M, Guardigli M, Michelini E, Roda A. Recent advancements in chemical luminescence-based lab-on-chip and microfluidic platforms for bioanalysis. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. 2014;87:36-52.
20. Sikanen T, Pedersen-Bjergaard S, Jensen H, Kostiainen R, Rasmussen KE, Kotiaho T. Implementation of droplet-membrane-droplet liquid-phase microextraction under stagnant conditions for lab-on-a-chip applications. Analytica chimica acta. 2010;658(2):133-40.
21. Maurice A, Theisen J, Gabriel J-CP. Microfluidic Lab-on-Chip Advances for Liquid-Liquid Extraction Process Studies. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2020.
22. Alidoust M, Yamini Y, Baharfar M, Seidi S, Rasouli F. Microfluidic-enabled versatile hyphenation of electromembrane extraction and thin film solid phase microextraction. Talanta. 2020:121864.
23. Abdel-Rehim M, Pedersen-Bjergaard S, Abdel-Rehim A, Lucena R, Moein MM, Cárdenas S, et al. Microextraction approaches for bioanalytical applications: An overview. Journal of Chromatography A. 2020;1616:460790.
24. Delfino RJ, Sinha R, Smith C, West J, White E, Lin HJ, et al. Breast cancer, heterocyclic aromatic amines from meat and N-acetyltransferase 2 genotype. Carcinogenesis. 2000;21(4):607-15.
25. Sander A, Linseisen J, Rohrmann S. Intake of heterocyclic aromatic amines and the risk of prostate cancer in the EPIC-Heidelberg cohort. Cancer Causes & Control. 2011;22(1):109-14.
26. Liao G, Xu X, Zhou G. Effects of cooked temperatures and addition of antioxidants on formation of heterocyclic aromatic amines in pork floss. Journal of food processing and preservation. 2009;33(2):159-75.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]

Application of Flat Electromembrane and Low-Density Solvent Extractions for the Assessment of Polar and Non-Polar Heterocyclic Aromatic Amines in Heated Red Meats

Kamankesh M[1], Mohammadi A[2,3,*], Barzegar F[4], Mollahosseini A[5]*

*1-*Corresponding author: Assistant Professor of Analytical Chemistry, Cellular and Molecular Research Center, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran, Email: kamankeshm@medsab.ac.ir.*

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

3- Food Safety Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

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

5- Assistant Professor of Analytical Chemistry, Iran University of Science and Technology, Tehran, Iran

Received 27 Sept, 2020 **Accepted 25 Dec, 2020**

Background and Objectives: Heating, cooking and grilling of meat products form polar and non-polar heterocyclic aromatic amines as toxic compounds. The current study was carried out for the first time to assess polar and non-polar heterocyclic aromatic amines in grilled meats using two novel flat electromembrane and low-solvent microextraction and to compare these two techniques.

Materials & Methods: In this study, two efficient methods of low-density solvent and flat electromembrane extractions were used for the sample preparation. Affecting factors in extraction of heterocyclic aromatic amines were separately optimized. Moreover, merit figures of the two methods were calculated and compared with each other.

Results: Value of each effecting factor in extraction were calculated for the two methods. Validation methods were carried out and results revealed high capability and validation of the two methods for the analysis of real samples. Recovery rates of higher than 90% for the two methods, detection limits of 0.2–1.7 and relative standard deviation of 3.5–8% verified use of the highlighted methods for real samples. Levels of heterocyclic aromatic amines were reported as not determined to 8 ng g^{-1}.

Conclusion: Results of this study showed that the two microextraction methods included high sensitivity, accuracy and recovery to assess heterocyclic aromatic amines in meat products. Furthermore, volumes of the extraction solvents in the two techniques were small that were advantages of the suggested methods (green chemistry). In conclusion, the suggested methods include capabilities to assess heterocyclic aromatic amines in various heated red meat products.

Keywords: Heterocyclic aromatic amines, Heated red meat, Low-density solvent extraction, Flat electromembrane extraction, Reverse-phase liquid chromatography

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

[DOI: 10.52547/nsft.16.1.75]