مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، صفحات ۹۸-۸۷

کاربرد روش استخراج فاز جامد پخشی ترکیب‌شده با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای اندازه‌گیری برخی از آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در نمونه‌های آب‌میوه به‌روش کروماتوگرافی گازی با آشکارساز نیتروژن-فسفر

بهناز لیموئی خسروشاهی[۱]، الناز مرزی خسروشاهی[۲]، محمدرضا افشارمقدم[۳و۴] ، جلیل خندقی[۵]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۲- دانش‌آموخته دکتری شیمی تجزیه، مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۳- استادیار مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۴- استادیار مرکز آنالیز دارویی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۵- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی ، سراب، ایران. پست الکترونیکی: khandaghi@iausa.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۵

چکیده

سابقه و هدف: کاربرد انواع آفت‌کش‌ها به منظور حفاظت از محصولات کشاورزی، احتمال ورود باقیمانده‌های این ترکیبات به بدن انسان توسط مصرف انواع محصولات غذایی را افزایش می‌دهد. هدف از این کار پژوهشی توسعه یک روش کارامد در استخراج و پیش‌تغلیظ آفت‌کش‌های ارگانوفسفره از نمونه‌های آب‌میوه صنعتی و اندازه‌گیری آن‌ها به‌روش کروماتوگرافی گازی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ترکیب روش‌های استخراج فاز جامد پخشی و میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای استخراج آفت‌کش‌ها استفاده شده است. کامپوزیت هیدروکسید لایه دوگانه کیتوزان-آهن/ نیکل تولید و پس از بررسی ویژگی‌های آن، به‌عنوان جاذب در مرحله استخراج فاز جامد بکار گرفته شد. همچنین برای رسیدن به کارایی استخراج بالا، اثر فاکتورهای مختلف در هر دو مرحله استخراج بررسی و بهینه‌سازی شدند.

یافته‌ها: برهم‌کنش کیتوزان با LDH تولید شده، در بررسی طیف FTIR و ساختار بلوری آن توسط الگوی XRD تایید شد. به‌علاوه ساختار متخلخل جاذب سنتز شده که سبب افزایش سطح و کارائی استخراج آن می‌شود در بررسی ریخت‌شناسی کامپوزیت اثبات گردید. روش استخراج توسعه داده شده به‌طور موفقیت‌آمیزی برای استخراج برخی از سموم ارگانوفسفره روی از نمونه‌های آب‌میوه به‌کار گرفته شد به‌طوری که بافت شیمیایی نمونه اثر محسوسی در جداسازی آنالیت‌ها نداشته و حد تشخیص و حد تعیین کمی به ترتیب ۰/۰۱۹-۰/۰۱۱ و ۰/۰۶۳-۰/۰۴۳ نانوگرم در میلی‌لیتر به‌دست آمد. گستره خطی روش پیشنهادی وسیع بوده (۲۵۰-۰/۰۳۶ نانوگرم در میلی‌لیتر) و این روش از دقت بالایی برخوردار بود به‌طوری که انحراف استاندارد نسبی در یک‌روز و در بین روزها کمتر از ۵/۶ درصد گزارش‌شد. همچنین مقادیر راندمان استخراج نیز مطلوب بود (۷۶-۷۲ درصد).

نتیجه‌گیری: در مجموع روش استخراج فاز جامد پخشی ترکیب‌شده با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی دارای محدوده خطی وسیع و تکرارپذیری مطلوب می‌باشد. به‌علاوه این روش مقادیر مطلوبی برای فاکتور تغلیظ، حد تشخیص و راندمان استخراج داشته و برای اندازه‌گیری آفت‌کش‌های هدف در نمونه‌های آب‌میوه پیشنهاد می‌شود.

واژگان کلیدی: آب‌میوه، آفت‌کش ارگانوفسفره، استخراج فاز جامد پخشی، کامپوزیت هیدروکسید لایه دوگانه کیتوزان-آهن/ نیکل، کروماتوگرافی گازی

• مقدمه

حفظ تولیدات کشاورزی از خسارات ناشی از آفات و بیماری‌ها با توجه به رشد جمعیت جهان و کمبود منابع غذایی در دهه‌های اخیر، بیش از پیش ضروری به نظر می‌رسد به طوریکه تولیدکنندگان محصولات کشاورزی برای مبارزه با عوامل کاهش دهنده تولید ناچارند از انواع آفت‌کش‌ها ا ستفاده کنند (۱). قسمتی از این مواد به داخل بافت محصولات

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

کشاورزی ازجمله میوه‌ها نفوذ می‌کند و اغلب محصولات کشاورزی حاوی مقادیری از باقیمانده آفت‌کش‌ها می‌باشند (۳، ۲) لذا اندازه‌گیری و بررسی میزان باقیمانده آفت‌کش‌ها در محصولات کشاورزی از اهمیت بسیاری برخوردار است و حداکثر مقدار باقیمانده آفت‌کش‌ها به عنوان یک معیار در این مورد ارائه می‌شود (۴).

آفت‌کش‌ها بر اساس ساختار شیمیایی به سه دسته آفت‌کش‌های معدنی، آفت‌کش‌های با منشاء گیاهی و باکتریایی و آفت‌کش‌های آلی مانند سموم ارگانوکلره و ارگانوفسفره که طیف وسیعی از آفت‌کش‌ها را در بر می‌گیرد، طبقه‌بندی می‌شوند (۵). سموم ارگانوفسفره مولکول‌های آلی حاوی فسفر می‌باشند و توسط ریشه و برگ گیاه جذب شده و به سرتاسر گیاه منتقل می شوند (۶). به‌طور کلی ساز و کار عمل سموم ارگانوفسفره براساس جلوگیری از عملکرد آنزیم استیل‌کولین‌استراز می‌باشد (۷). مطالعات فراوانی روی عوارض سوء سلامتی ناشی از سموم ارگانوفسفره انجام شده‌است (۹، ۸).

معمولاً اندازه‌گیری مستقیم ترکیبات در نمونه‌های مختلف به دلیل عواملی مثل غلظت پایین و مزاحمت ترکیبات موجود در بافت پیچیده نمونه‌ها امکان‌پذیر نیست و برای اندازه‌گیری مقادیر اندک آفت‌کش‌ها اغلب اجرای یک روش پیش‌تغلیظ و آماده‌سازی لازم است (۱۰). از آنجایی که آماده سازی نمونه بر روی مراحل بعدی تأثیرگذار است، از این رو نقش شاخصی در شناسایی، تأیید و اندازه‌گیری آنالیت‌ها دارد. از ویژگی‌های یک روش آماده سازی ایده‌آل می‌توان سرعت بالا، قابلیت استفاده آسان، کم هزینه بودن، دوست‌دار محیط زیست بودن، سازگاری با ابزارهای تجزیه‌ای و قابلیت خودکار شدن را نام برد (۱۱). تاکنون روش های گوناگونی برای آماده‌سازی و استخراج آنالیت‌های مختلف از مواد غذایی ارائه شده‌است که دو روش استخراج مایع-مایع یا Liquid-Liquid Extraction (۱۳، ۱۲) و روش استخراج فاز جامد یا Solid Phase Extraction (۱۵، ۱۴) از روش‌های اصلی استخراج به‌شمار می‌رود.

در روش استخراج فاز جامد از جاذب‌های مختلفی استفاده می‌شود که هیدروکسیدهای لایه دوگانه (Layered double hydroxide) به دلیل قابلیت هایی مانند ساختار لایه‌ای، مقاومت آبی، پایداری حرارتی بالا، رفتار مبادله یونی ذاتی، زیست سازگار بودن و هزینه سنتز پایین یکی از بهترین انواع جاذب‌ها به شمار می‌روند (۱۶) و اخیرا انواع مختلفی از آن‌ها برای اندازه‌گیری آفت‌کش های مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۸، ۱۷). برای اصلاح ساختار و افزایش سطح جذب هیدروکسیدهای لایه دوگانه می‌توان آن‌ها را با موادی مانند کیتوزان پوشش داد. کیتوزان به عنوان یک ماده با قابلیت تجزیه بیولوژیکی و ماهیت غیر سمی شناخته شده است (۱۹).

میکرواستخراج فاز مایع که به‌منظور مینیاتوری کردن روش استخراج مایع-مایع از طریق کاهش نسبت حلال آلی به فاز آبی ابداع شد (۲۰) به شیوه‌های مختلفی انجام می‌گیرد که یکی از مهم‌ترین آنها میکرواستخراج مایع- مایع پخشی (Dispersive Liquid-Liquid Microextraction) است. در این روش به دلیل تشکیل حالت ابری، مساحت سطح تماس بین حلال استخراج کننده و فاز آبی بسیار زیاد بوده و موجب انتقال سریع آنالیت‌ها از فاز آبی به درون حلال استخراج کننده می‌شود که در حقیقت مزیت اصلی این روش می‌باشد. همچنین از آنجایی که در این روش از مقادیر کم حلال آلی استفاده می‌شود، حساسیت و بازدهی روش بالا است (۲۲، ۲۱).

هدف از این کار پژوهشی توسعه یک روش کارامد در استخراج آفت‌کش های ارگانوفسفره از نمونه‌های آب‌میوه صنعتی و اندازه‌گیری آن‌ها به‌روش کروماتوگرافی گازی است. در این راستا از ترکیب روش‌های استخراج فاز جامد پخشی و میکرواستخراج مایع-مایع پخشی (DSPE-DLLME) برای استخراج و پیش تغلیظ آفت‌کش‌های دیازینون (Diazinon)، فنیتروتیون (Fenitrothion) وکلرپیریفوس (Chlorpyrifos) و سپس تعیین مقدار آن‌ها به روش کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز نیتروژن-فسفر (NPD) استفاده شده است.

• مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی

کلیه آزمایش‌ها در بهار سال ۱۴۰۰ و در آزمایشگاه مرکز تحقیقات ایمنی غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی تبریز انجام‌گرفت. نمونه‌های آب‌میوه بدون رقیق سازی توسط شیوه پیشنهادی و تحت شرایط بهینه، استخراج و تجزیه شدند.

استاندارد دیازینون، فنیتروتیون و کلرپیریفوس از شرکت دکتر ارنستوفر (Dr. Ehrenstorfer) تهیه و محلول مادر آفت‌کش ها (ppm ۱۰۰۰) در استونیتریل تهیه شدند. استونیتریل و متانول (با درجه خلوص HPLC) و سایر مواد شیمیایی و حلال ها شامل استون، اتانول، کلروفرم، دی‌کلرومتان، تتراکلرومتان، ۱،۱،۲ تری فلوئورو اتان، نیترات آهن نه آبه $Fe(NO_3)_3.9H_2O$، نیترات نیکل شش آبه $Ni(NO_3)_2.6H_2O$) سدیم کربنات، سدیم هیدروکسید، سدیم کلرید و کیتوزان (با درجه خلوص تجزیه‌ای) از شرکت مرک (Merck, Germany) تهیه شدند. به‌منظور کنترل کیفی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

سیستم کروماتوگرافی و تکرارپذیری، محلول‌های استاندارد هر روز سه‌بار به دستگاه کروماتوگرافی گازی (Dani 1000, Italy) تزریق و سطح زیر پیک منحنی‌ها برای محاسبه‌ی فاکتور تغلیظ و راندمان استخراج مورد استفاده قرار گرفت.

تهیه کامپوزیت هیدروکسید لایه دوگانه کیتوزان-آهن/نیکل (chitosan-Ni/Fe LDH)

برای تهیه کامپوزیت های Ni/Fe LDH و افزایش بازده جذب آن‌ها به وسیله کیتوزان از روش هم‌رسوبی استفاده شد (۱۶). به‌طور خلاصه ابتدا ۰/۰۰۵ مول نیترات آهن با ۰/۰۲۴ مول نیترات نیکل در ۷۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شده (محلول ۱) و سپس ۰/۰۲۵ مول کربنات سدیم با ۰/۰۸۷ مول سدیم هیدروکسید در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید (محلول ۲). پس از آن محلول ۱ به صورت قطره قطره به محلول ۲ اضافه و محلول حاصل به مدت سه ساعت با دور ۶۵۰ rpm هم زده شد. همچنین به‌صورت جدا ۰/۵ گرم کیتوزان در ۱۷۵ میلی‌لیتر از محلول ۲ در صد استیک اسید تهیه و این محلول به صورت قطره قطره به مدت ۴ ساعت به محلول اخیر اضافه و مخلوط گردید (۱۵۰ rpm). محلول نهایی به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد ریفلاکس شده و محصول حاصل پس از صاف کردن و شست‌وشو با اتانول و آب در آون ۵۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید.

تعیین مشخصات کامپوزیت تهیه شده توسط بررسی طیف پراش پرتو ایکس (X-Ray Diffraction) یا XRD (Philips, USA) با منبع تابش CuKa (λ = ۱/۵۴۰۵۶ Å) و طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (Fourier-transform infrared spectroscopy) یا FTIR (Bruker, USA) انجام شد. همچنین بررسی ریخت‌شناسی کامپوزیت‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (Scanning electron microscope) یا SEM (Tescan Mira3, Czech Republic) صورت گرفت.

بهینه‌سازی شرایط استخراج

فاکتورهای مؤثر در هر دو مرحله استخراج DSPE-DLLME در نمونه آبی بهینه‌سازی شدند. عوامل مؤثر در مرحله فاز جامد پخشی شامل مقدار جاذب (از بین مقادیر ۲۵، ۵۰، ۷۵، ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم)، مقدار نمک NaCl (با اضافه کردن مقادیر صفر، ۱، ۲/۵، ۵، ۷/۵، ۱۰ و ۱۲/۵ در صد وزنی-حجمی)، پی اچ (درمحدوده ۲ تا۱۰)، مدت زمان جذب (در زمان‌های ۱، ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ دقیقه)، نوع و حجم حلال شوینده (از میان حجم‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۲۵۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر از هریک از حلال‌های متانول، اتانول، استونیتریل و استون) و زمان واجذبی (در زمان‌های ۱ تا ۱۰ دقیقه) می‌باشند.

همچنین عوامل مؤثر در مرحله‌ی میکرواستخراج مایع-مایع پخشی شامل نوع و حجم حلال استخراج‌کننده (از بین مقادیر ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میکرولیتر از هر یک از حلال های کلرو فرم، دی کلرو متان، تترا کلرو متان و ۲،۱،۱-تری‌کلروتری‌فلوئورو اتان) و اثر نمک‌زنی (با افزودن مقادیر متفاوتی از NaCl در محدوده صفر تا ۱۰درصد وزنی-حجمی) بهینه‌سازی گردید.

برای بررسی پارامترهای مؤثر در روش پیشنهادی از روش "یک پارامتر در یک زمان" استفاده شد. تأثیر این عوامل با مقایسه سطح زیر پیک حاصل از آنالیت‌ها در شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند (۱۰).

روش استخراج DSPE-DLLME

برای استخراج آفت‌کش‌ها ابتدا ۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های آماده شده برداشته و سپس ۷/۵ در صد نمک سدیم کلراید افزوده و pH محلول در ۶ تنظیم شد. سپس مقدار ۱۲۵ میلی‌گرم از جاذب chitosan-Ni/Fe LDH تهیه شده به داخل نمونه پخش گردید و جهت جذب آنالیت‌ها بر روی جاذب، مخلوط به مدت ۶ دقیقه ورتکس و سپس ۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Hettich, Germany) شد. در این مرحله بر روی محلول رویی حاوی جاذب، یک میلی‌لیتر استون اضافه شده و ۲ دقیقه ورتکس گردید. محلول حاصل سانتریفوژ شده و حلال شوینده رویی جمع آوری و بر روی آن ۵۰ میکرولیتر حلال استخراج کننده کلروفرم افزوده شد. این محلول به درون سرنگ شیشه‌ای کشیده شده و به سرعت به درون ۵ میلی‌لیتر آب دیونیزه پخش گردید. در پایان، محلول ابری حاصل سانتریفوژ شده (۵ دقیقه با ۵۰۰۰ دور در دقیقه) و یک میکرولیتر از فاز ته‌نشین شده به دستگاه GC-NPD تزریق شد.

شرایط جداسازی با دستگاه کروماتوگراف گازی

شرایط بهینه‌شده‌ی GC-NPD برای جداسازی آفت‌کش‌های مورد مطالعه از نمونه‌های آب‌میوه به‌صورت زیر انتخاب شد. برنامه دمایی ستون شامل اعمال ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه و ۱۰ درجه افزایش دما در دقیقه تا ۳۰۰ درجه و سپس تثبیت دما بمدت ۱۰ دقیقه بود. ستون موئین HP-5 بطول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر با ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و دمای آشکار ساز NPD، ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود. تزریق کننده از نوع Splitless/Split با دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد انتخاب و تزریق بصورت

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

انشـــعابی و در مدت زمان یک دقیقه انجام گردید. هلیوم به‌عنوان هر دو گاز حامل و جبرانی (makeup)، به ترتیب با جریان خطی ۳۰ ســانتی‌متر در ثانیه و ۳۰ میلی‌لیتر در دقیقه انتخاب شد.

اعتبارسنجی روش

پس از رســـم منحنی درجه‌بندی (با غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ نـانوگرم بر میلی‌لیتر از آنالیت های هدف)، پارامتر های تجزیه‌ای برای اســـتخراج آنالیت‌ها شامل فاکتورهایی از قبیل حد تشخیص (Limit of detection)، حد تعیین کمی (Limit of quantitation)، تکرار پذیری (برحســـب درصـــد RSD) در یک روز و در بین روزها، فاکتور تغلیظ و راندمان اســـتخراج بررســـی و محاســـبه شـــدند (۲۳).

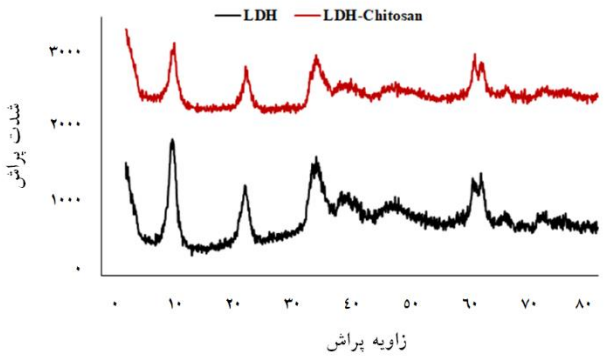
بررسی اثر بافت شیمیایی

مواد مختلفی از جمله پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها می‌توانند در اســـتخراج آفت‌کش ها از بافت آب‌میوه ها ایجاد مزاحمت نمایند. برای مطالعه اثر بافت، روش افزایش اســـتاندارد مورد اســـتفاده قرار گرفت (۲۴). پس از آماده‌ســـازی اولیه نمونه‌های آب‌میوه، ســـه غلظت ۲، ۱۰ و ۲۵ میکروگرم بر لیتر از هر کدام از آفت‌کش‌ها اضافه شد و سپس هر نمونه با روش بهینه شده چهار بار مورد استخراج و آنالیز قرار گرفت. سپس ۱۰میلی‌لیتر آب یون زدائی شـــده با همان غلظت‌ها از آنالیت‌ها نیز آلوده شده و استخراج و آنالیز شد. اثر بافت با مقایسه علامت‌های تجزیه‌ای به‌دست آمده مورد ارزیابی قرارگرفت.

• یافته‌ها

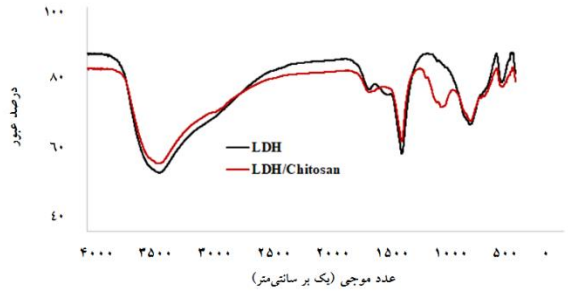
مشخصات کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH

الگوی پراش پرتو ایکس (XRD): ساختار بلوری کامپوزیت سنتزشده، توسط طیف XRD در شکل ۱ نشان داده شده است. طیف XRD مربوط به کامپوزیت Ni/Fe LDH به‌صورت پیک‌های تیز متقارن در مقادیر 2θ برابر ۱۱/۳، ۲۳/۲، ۳۴/۹۵، ۴۷/۴ و ۶۱/۴ نمایان شده است. در اثر وارد کردن کیتوزان در ساختار کامپوزیت (به دلیل مساحت بالای آن)، ساختار LDH قدری دچار آشفتگی شد. با این حال تغییرات ناچیز بوده و پیک‌های مشابه‌ای در ساختار کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH مشاهده گردید.



شکل ۱. الگوی XRD ساختارهای Ni/Fe-LDH و کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH

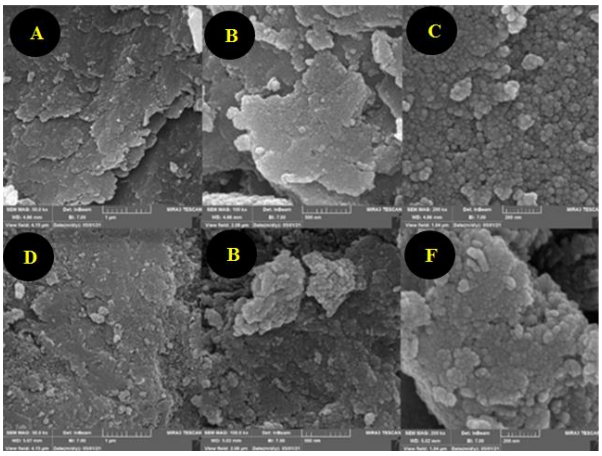
طیف FTIR کامپوزیت‌ها: بررسی ساختار شیمیایی کامپوزیت‌ها با استفاده از طیف FTIR انجام و در شکل ۲ نشان داده شده است. همانطور که در طیف FTIR ساختار Ni/Fe LDH مشاهده می‌شود، پیک پهن موجود در محدوده cm^{-1} ۳۳۷۵ مربوط به ارتعاشات کششی گروه O-H در لایه‌های بروسیت مانند و مولکول‌های آب موجود در بین لایه‌ها می‌باشد. پیک‌های موجود در cm^{-1} ۱۶۲۲ مربوط به ارتعاشات کششی C=O و پیک موجود در cm^{-1} ۱۳۵۸ مربوط به ارتعاشات کششی نامتقارن C-O می‌باشد. در طیف FTIR کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH نیز نوار پهنی در ناحیه cm^{-1} ۳۳۷۵ نمایان شده است که مربوط به ارتعاشات کششی گروه‌های O-H و NH_2 موجود در بافت بسپار کیتوزان و همچنین ارتعاشات گروه‌های سطحی OH موجود در بین لایه‌ها یا مجاور لایه‌های موجود در هیدروکسید لایه دوگانه می‌باشد. همچنین پیک‌های موجود در ۲۹۲۱، ۲۸۵۴، ۱۶۲۰، ۱۰۰۰ و ۶۵۸ در سانتی‌متر به ترتیب نشان‌دهنده ارتعاشات کششی متقارن C-H، ارتعاشات کششی نامتقارن C-H، گروه‌های C-O موجود در گروه‌های کربنات، ارتعاشات کششی C-O موجود در گروه COH و ارتعاشات کششی فلز-اکسیژن می‌باشد (۲۵، ۱۶).



شکل ۲. طیف FTIR هیدروکسید دولایه Ni/Fe-LDH و کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

تصاویر SEM: برای تعیین ویژگی‌های ریخت‌شناسی کامپوزیت‌ها از تصاویر SEM استفاده شد. در بخش‌های A،B،C ساختار صفحه مانند کامپوزیت Ni/Fe LDH با بزرگنمایی‌های مختلف مشاهده می‌شود. ساختار هیدروتالسیت تبلور بالایی را با توزیع ذرات برابر و ماهیت لایه‌ای نشان می‌دهد. در مقابل، ریخت‌شناسی کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH بافت متختخل و ساختاری شبیه صخره‌های مرجانی نشان می‌دهد (بخش‌های D،E،F). همین ویژگی‌های سطحی سبب افزایش ظرفیت جذب می‌شود.



شکل ۳. تصاویر SEM ساختار Ni/Fe-LDH (A،B،C) و کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH (D،E،F)

نتایج بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر در مرحله استخراج فاز جامد پخشی

مقدار جاذب: با توجه به نتایج شکل A-۴ مشاهده می‌شود که راندمان استخراج با افزایش مقدار جاذب تا ۱۲۵ میلی‌گرم افزایش یافته و پس از آن ثابت می‌ماند.

اثر نمک زنی: نتایج نشان داد که افزودن نمک تا مقدار ۷/۵ درصد وزنی-حجمی تأثیر مثبتی روی راندمان استخراج داشته است. بنابراین مقدار ۷/۵ درصد به عنوان مقدار نمک بهینه انتخاب شد.

اثر pH: به دلیل ماهیت اسیدی یا بازی آنالیت‌ها، اثر pH محلول باید بهینه سازی شود. برای تنظیم pH محلول از HCl و NaOH (۰/۱ مولار) استفاده شد. بالاترین علامت‌های تجزیه‌ای در pH ۴ و ۶ حاصل گردید که ادامه مطالعات در pH ۶ انجام شد.

مدت زمان جذب: در استخراج فاز جامد پخشی مدت زمان جذب (ورتکس کردن) یک پارامتر تأثیرگذار است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که جذب آنالیت‌ها در زمان ۶ دقیقه به‌طور کامل صورت گرفته و سیگنال‌های تجزیه‌ای در این زمان در بالاترین مقدار خود قرار دارند.

نوع حلال شوینده: انتخاب حلالی مناسب برای شستشوی آنالیت‌های جذب شده بر روی جاذب بسیار حائز اهمیت است. حلال شوینده در این مرحله به عنوان یک حلال پخش کننده در مرحله DLLME نیز خواهد بود. نتایج نشان داد استون بالاترین عملکرد در بین حلال‌های مورد مطالعه را داشت.

حجم حلال شوینده: همان گونه که در شکل F-۴ دیده می‌شود حجم ۱۰۰۰ میکرولیتر از حلال استون بالاترین راندمان استخراج را فراهم می‌کند.

مدت زمان واجذبی: در روش حاضر، واجذبی آنالیت‌ها از روی جاذب بر روی حلال شوینده اهمیت زیادی دارد. بدین منظور استخراج در زمان‌های واجذب مختلف انجام و مشاهده شد که بعد از ۲ دقیقه واجذبی کامل می‌شود.

نتایج بهینه‌سازی پارامترهای مؤثر در مرحله DLLME

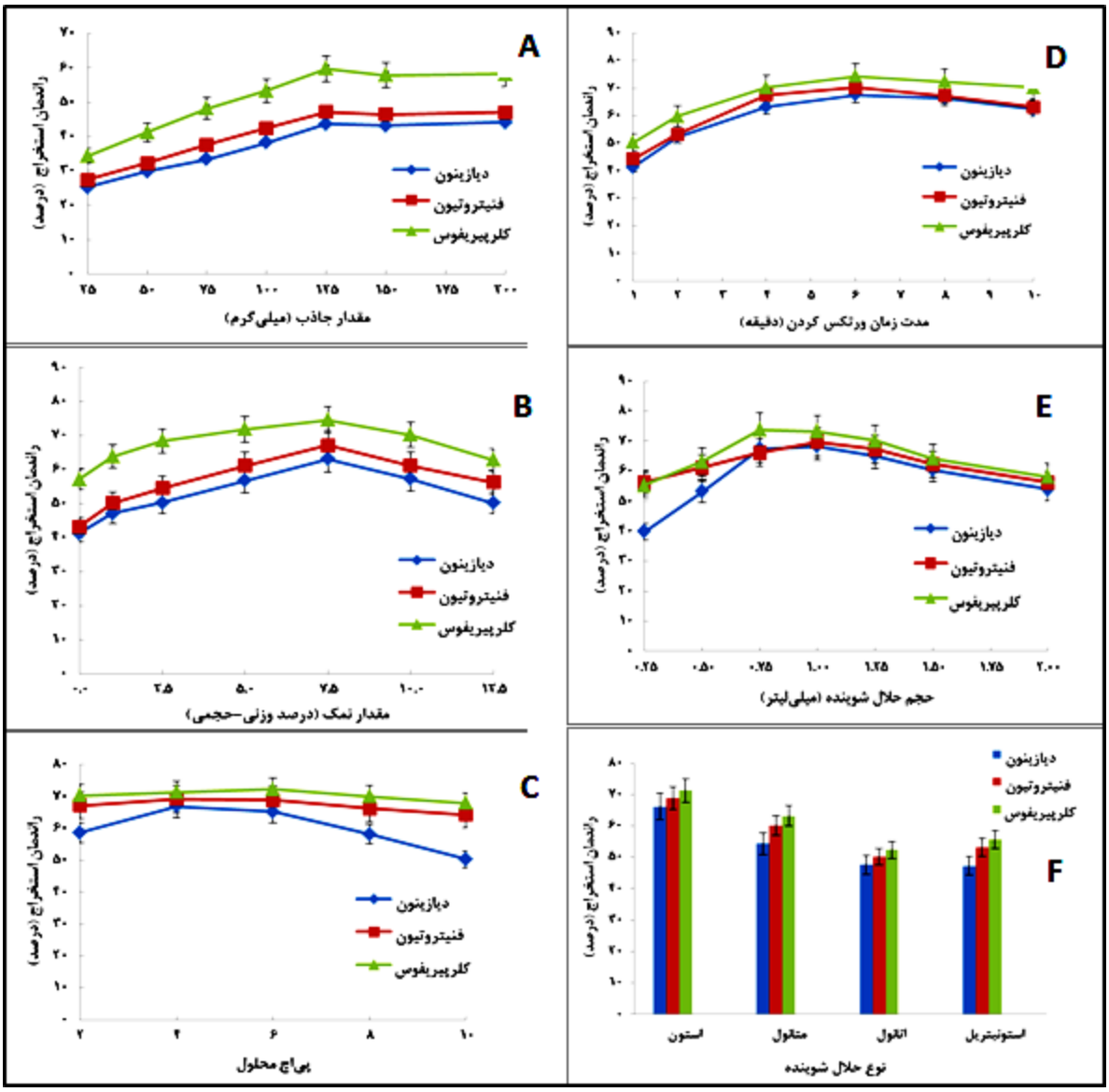
نوع حلال استخراج‌کننده: نتایج (طبق شکل A-۵) نشان داد که کلروفرم بهترین عملکرد را از بین چهار حلال استخراج کننده آلی کلردار در فاز دوم استخراج (DLLME) دارد.

حجم حلال استخراج‌کننده: بررسی علامت‌های تجزیه‌ای بر اساس حجم حلال استخراج‌کننده نشان داد که با افزایش حجم تا ۵۰ میکرولیتر، راندمان استخراج افزایش و پس از آن ثابت می‌باشد. از این‌رو در ادامه کار از حجم ۵۰ میکرولیتر کلرفرم استفاده شد.

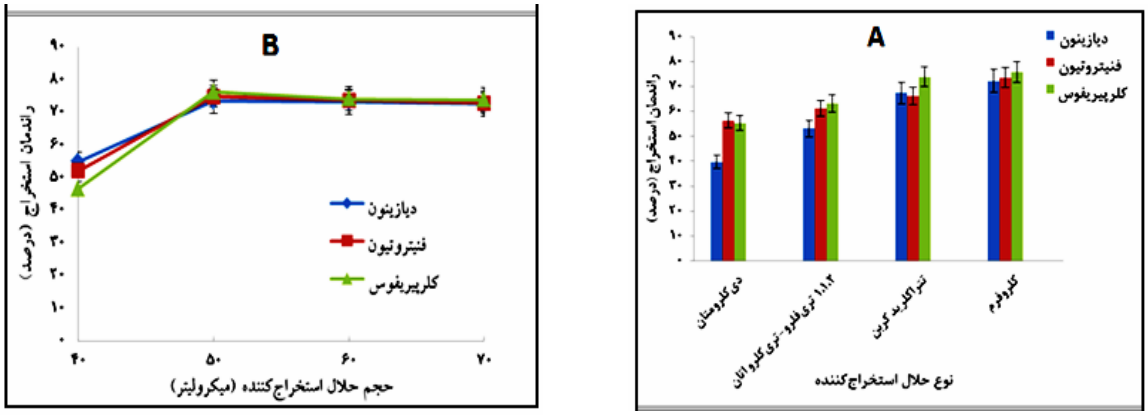
اثر نمک زنی: نتایج افزودن نمک حاکی از این بود که با تغییر مقادیر نمک هیچ تغییری محسوسی در مقادیر علامت‌ها مشاهده نشد. بنابراین در ادامه مطالعات از افزایش نمک صرف‌نظر شد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]



شکل ۴. بررسی پارامترهای مؤثر در مرحله استخراج فاز جامد پخشی در استخراج آفت‌کش‌ها از آب‌میوه. (A): مقدار جاذب، (B): مقدار نمک، (C): پی‌اچ محلول، (D): مدت‌زمان ورتکس، (E): حجم حلال شوینده، (F): نوع حلال شوینده



شکل ۵. بررسی پارامترهای مؤثر در مرحله میکرواستخراج مایع- مایع پخشی در استخراج آفت‌کش‌ها از آب‌میوه. (A): نوع حلال پخش‌کننده، (B): حجم حلال پخش‌کننده

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

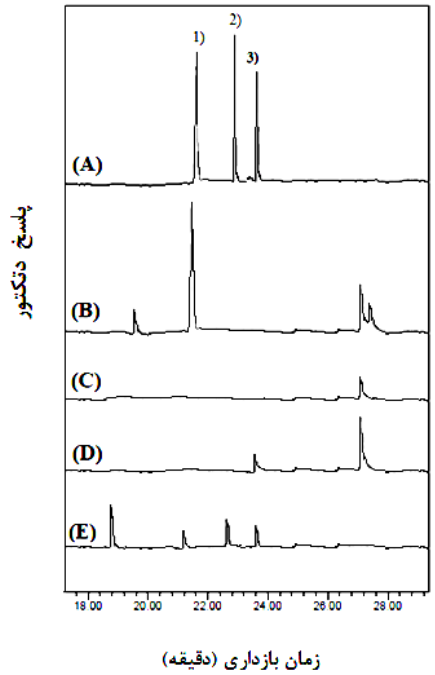
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

ارقام شایستگی روش تجزیه‌ای

برای به‌دست آوردن ارقام شایستگی، نمونه‌های آب‌میوه با غلظت‌های متفاوتی از آنالیت‌های مورد مطالعه آلوده شد و مطابق روش بهینه‌سازی شده استخراج و آماده سازی شده و آنالیز شد. نمودار معیارگیری از رسم نسبت علامت‌های تجزیه‌ای آنالیت‌های استخراج شده در غلظت‌های ۱، ۲، ۵، ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر لیتر از آنالیت‌ها به‌دست آمد. از منحنی درجه‌بندی، مقدار مجذور ضریب همبستگی (r^2) و محدوده خطی روش برای هر یک از آنالیت‌ها به‌دست آمد. حد تشخیص و حد تعیین کمی روش به ترتیب برابر غلظت‌هایی که در آن‌ها نسبت علامت به نویز (S/N) به‌ترتیب ۳ و ۱۰ می‌باشد درنظر گرفته شد. به‌منظور بررسی تکرارپذیری و دقت روش از انحراف استاندارد نسبی (RSD %) استفاده شد. بدین منظور نمونه‌ها در سه غلظت مختلف از هر یک از آنالیت‌ها با ۴ تکرار تحت شرایط یکسان و در حالت بهینه استخراج شدند. درصد انحراف استاندارد نسبی براساس مساحت پیک در محدوده بین ۲ تا ۴/۷ بدست آمد که نشان دهنده تکرارپذیری بالای روش می‌باشد. راندمان استخراج نیز که بر اساس درصدی از نسبت مقدار کل آنالیت استخراج شده به مقدار آن در نمونه اولیه محاسبه شد، ۷۲-۷۶ درصد بود. همچنین فاکتور تغلیظ بر اساس نسبت غلظت نهایی آنالیت در فاز آلی به غلظت اولیه آن در نمونه محاسبه گردید. نتایج حاصل از اعتبارسنجی روش در جدول ۱ ارائه شده است.

نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی و بررسی اثر بافت شیمیایی

برای بررسی قابلیت روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌های مورد مطالعه از نمونه‌های آب سیب، آب انگور و نکتار هلو اقدام به اندازه‌گیری آن‌ها تحت شرایط بهینه نمودیم. در شکل ۲ کروماتوگرام‌های GC-NPD نمونه‌ها نشان داده شده است. نتایج نشان دادند که در یک نمونه آب سیب آفت‌کش دیازینون (با غلظت ۳۸ میکروگرم در لیتر) و در یک نمونه نکتار هلو، کلرپیریفوس (با غلظت ۳/۵ میکروگرم در لیتر) مشاهده می‌شود. همچنین بررسی صحت روش پیشنهادی و اثر بافت نمونه‌های حقیقی در کارایی روش پیشنهادی به‌روش افزایش استاندارد انجام گرفت. مقادیر بازیابی نسبی هر یک از نمونه‌ها در جدول ۲ ارائه شده‌اند. با توجه به اینکه این مقادیر در بازه ۷۰ الی ۱۲۰ درصد قرار دارند، اثر بافت نا محسوس می‌باشد.



شکل ۶. کروماتوگرام‌های GC-NPD محلول استاندارد آفت‌کش‌ها به غلظت ۱۵ میلی‌گرم در لیتر (نسبت به هریک از آنالیت‌ها). (A)، نمونه‌های آب سیب (B)، آب انگور (C) و نکتار هلو (D) پس از اجرای روش پیشنهادی و نمونه آب یون زدائی شده اضافه‌شده با آنالیت‌ها با غلظت ۱۵ میکروگرم در لیتر (E). (۱): دیازینون، (۲): فنیتروتیون، (۳): کلرپیریفوس

جدول ۱. مشخصات تجزیه‌ای روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌های ارگانوفسفره از نمونه‌های آب‌میوه

آنالیت	محدوده خطی (نانوگرم در میلی‌لیتر)	حد تشخیص (نانوگرم در میلی‌لیتر)	حد اندازه‌گیری (نانوگرم در میلی‌لیتر)	مجذور ضریب همبستگی	درصد انحراف استاندارد نسبی (n= ۴) در تزریق مقادیر مختلف آنالیت (نانوگرم در میلی‌لیتر)						فاکتور تغلیظ ± انحراف استاندارد (n= ۳)	راندمان ± انحراف استاندارد (n= ۳)
					در یک روز			بین روزها				
					۱۰	۲۵	۱۰۰	۱۰	۲۵	۱۰۰		
دیازینون	۰/۰۳۶-۲۵۰	۰/۰۱۱	۰/۰۳۶	۰/۹۹۶	۳/۲	۳/۰	۲/۶	۴/۶	۴/۱	۴/۰	۳۶۰ ± ۱۰	۷۲± ۲
فنیتروتیون	۰/۰۶۳-۲۵۰	۰/۰۱۹	۰/۰۶۳	۰/۹۹۴	۴/۱	۴/۰	۳/۳	۵/۶	۴/۷	۴/۱	۳۷۰ ± ۲۵	۷۴± ۵
کلرپیریفوس	۰/۰۴۳-۲۵۰	۰/۰۱۳	۰/۰۴۳	۰/۹۹۸	۳/۶	۳/۲	۳/۰	۴/۹	۳/۸	۴/۱	۳۸۰ ± ۳۰	۷۶± ۴

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

جدول۲. مطالعه اثر بافت شیمیایی در کارایی روش در استخراج آفت‌کش‌های ارگانوفسفره از نمونه‌های آب‌میوه

آنالیت	مقادیر بازیابی نسبی ± انحراف استاندارد		
	آب سیب	آب انگور	نکتار هلو
	همه نمونه با مخلوط آنالیت‌ها به غلظت ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر اضافه شدند		
دیازینون	۹۳±۳	۹۶±۲	۹۲±۳
فنیتروتیون	۹۰±۴	۹۲±۳	۹۶±۴
کلرپیریفوس	۸۸±۵	۹۰±۴	۹۲±۵
	همه نمونه با مخلوط آنالیت‌ها به غلظت ۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر اضافه شدند		
دیازینون	۹۲±۴	۹۱±۴	۹۷±۵
فنیتروتیون	۹۳±۳	۹۳±۵	۹۲±۳
کلرپیریفوس	۹۴±۲	۹۷±۳	۹۴±۴
	همه نمونه با مخلوط آنالیت‌ها به غلظت ۲۵ نانوگرم در میلی‌لیتر اضافه شدند		
دیازینون	۹۵±۵	۹۳±۳	۹۷±۵
فنیتروتیون	۸۹±۴	۹۱±۴	۹۲±۳
کلرپیریفوس	۹۲±۵	۸۷±۵	۹۵±۴

• بحث

در این کار پژوهشی برای استخراج آنالیت‌های مورد بررسی از نمونه های آب‌میوه از یک ماده جاذب جامد (کامپوزیت LDH) استفاده شد. پراش پرتو ایکس برای بررسی درجه تبلور ساختار کامپوزیت مورد استفاده قرار گرفت. به طورکلی پیک‌های نوک تیز و کم عرض در الگوی XRD نشان دهنده وجود ساختار بلوری می‌باشد (۲۷، ۲۶). ظهور پیک‌های تیز و متقارن کامپوزیت Ni/Fe LDH در این تحقیق نیز نشان دهنده ساختار بلوری کامپوزیت می‌باشد. در اثر وارد کردن کیتوزان در کامپوزیت، ساختار LDH قدری دچار آ شفتگی شد. با این حال تغییرات ناچیز بوده و پیک‌های مشابه‌ای در ساختار کامپوزیت chitosan-Ni/Fe LDH مشاهده گردید که با گزارش‌های انجام شده در پژوهش‌های دیگر مطابقت دارد (۲۸، ۱۶). به طور کلی، مطالعات XRD تأیید کرد که ساختار بلوری Ni/Fe-LDH در کامپوزیت‌های chitosan -Ni/Fe-LDH حفظ شده است.

با توجه به اینکه کـه جـذب گـروه‌هـای عـاملی مختلـف در فرک ـ انس‌ه ـ ای مشخص ـ ی انجام می‌گیرد و تغییر در ساختار شیمیایی سبب تغییر در فرکانس‌ه ای جذبی می‌شود، بنابراین طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه به‌عنوان وسیله‌ای مناسب در پی بردن به تغییرات ساختاری در مواد شناخته شده است (۲۹). پیک‌های FTIR موجود در محدوده ۳۳۷۵cm^{-1}، ۱۶۲۲ cm^{-1} و ۱۳۵۸ cm^{-1} تأیید کرد که LDH سنتزشده از نوع کربناتی است (۳۰، ۱۶). تفاوت‌های بین طیف های ساختار بدون کیتوزان و کامپوزیت - chitosan Ni/Fe-LDH حاکی از برهم‌کنش کیتوزان با LDH می‌باشد. اساسا هرگونه تغییر در پیک‌های مربوط به طیف IR نمونه‌های کمپلکس چه بصورت جابه‌جایی پیک و چه بصورت ظهور یا حذف شدن پیک‌ها، می‌تواند دلیلی بر ایجاد برهم‌کنش بین مواد باشد (۲۹).

ماده جامد باید دارای ابعاد و دانه‌بندی منظم باشد تا بتواند به‌طور یکنواخت در داخل محلول حاوی آنالیت‌ها پخش گردد. از طرف دیگر این جاذب باید قابلیت جداشدن از داخل نمونه طی فرایند سانتریفیوژ را داشته و از قدرت جذب بالایی نیز برخوردار باشد (۳۱). سطح کامپوزیت هیدروکسید لایه دوگانه به‌کار رفته در این تحقیق توسط کیتوزان پوشش داده شد تا با ایجاد ساختار متخلخل و با سطح وسیع، ظرفیت جذب بالایی برای استخراج و پیش تغلیظ مقادیر پایین آفت‌کش‌های هدف داشته باشد (۳۲). مقدار جاذب نیز جزو پارامترهای مؤثر در کارایی روش میکرواستخراج فاز جامد پخشی می‌باشد. این تأثیر در کارایی استخراج به نسبت فاز جامد جاذب به حجم محلول نمونه مربوط است به‌طوری‌که در مقادیر کم جاذب نسبت فاز کم بوده و راندمان استخراج پایین می‌باشد و با افزایش مقدار جاذب نسبت فازها افزایش یافته و راندمان استخراج افزایش می‌یابد (۳۱).

حلال شوینده باید قابلیت شویش آنالیت‌ها از جاذب را داشته و همچنین قابل انحلال در فاز آلی و آبی باشد تا به‌عنوان حلال پخش‌کننده در مرحله DLLME بکار رود. حجم حلال شوینده نیز پارامتر مؤثر در روش پیشنهادی می‌باشد چراکه با افزایش حجم، آنالیت‌ها در فاز شسته‌شده رقیق بوده و حلالیت آنالیت‌ها در فاز آبی افزایش می‌یابد (۳۳).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

انتخاب نوع حلال استخراج‌کننده در مرحله DLLME یکی از پارامترهای مهم می‌باشد. حلال استخراج‌کننده باید قابلیت پخش در فاز آبی و استخراج آنالیت‌ها را داشته و همچنین باید دارای چگالی متفاوت از آب باشد تا جمع‌آوری آن ممکن باشد (۲۱). در این کار پژوهشی حلال‌های با دانسیته بیشتر از آب انتخاب و توسط سانتریفوژ کردن جداسازی شدند. حجم حلال استخراج‌کننده نیز در کارایی روش‌های میکرواستخراج مؤثر است. هر چه حجم حلال استخراج‌کننده اولیه بیشتر باشد در این‌صورت حجم فاز جمع‌شده پس از استخراج نیز بیشتر می‌شود و فاکتور تغلیظ کاهش یافته و علامت‌های تجزیه‌ای نیز کاهش خواهند یافت. ازطرفی با کاهش حجم حلال، کارایی استخراج و تکرارپذیری کاهش می‌یابد (۳۴).

عموماً در روش‌های استخراج، افزایش نمک به محلول‌های آبی دو اثر متقابل دارد. اول اینکه حضور نمک با افزایش نیروی یونی فاز آبی، موجب آب پوشی شدن مولکول‌های نمک، دهیدراته شدن مولکول‌های آنالیت و کاهش حلالیت آن‌ها در فاز آبی و بنابراین انتقال بیشتر آن‌ها به داخل حلال استخراج کننده و افزایش بازده استخراج شود. به‌علاوه افزایش نمک به محیط استخراج می‌تواند انحلال حلال استخراج‌کننده در فاز آبی را نیز کاهش داده و منجر به افزایش حجم فاز آلی جمع‌شده شود که این امر می‌تواند باعث کاهش علامت تجزیه‌ای در اثر رقیق‌سازی شود (۳۵). هرکدام از اثرات بر دیگری برتری داشته باشد در این صورت تأثیر آن عامل غالب خواهد بود. در این مطالعه با افزایش مقدار NaCl راندمان استخراج کاهش یافت پس آزمایشات در غیاب نمک صورت‌گرفت.

به منظور ارزیابی کارایی روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌ها از نمونه‌های آب‌میوه، پارامترهای تجزیه‌ای روش حاضر با مقادیر مربوط به سایر روش‌ها در نمونه‌های مختلف مقایسه گردیده و در جدول ۳ نشان داده شده است. حد تشخیص، محدوده خطی و فاکتور تغلیظ روش مورد نظر بهتر یا قابل مقایسه با دیگر روش‌های مطرح شده می‌باشد.

جدول ۳. مقایسه کارایی روش پیشنهادی در استخراج آفت‌کش‌های ارگانوفسفره از نمونه‌های آب‌میوه با روش‌های مشابه

روش استخراج	نمونه	آنالیت	محدوده خطی (نانوگرم در میلی‌لیتر)	حد تشخیص (نانوگرم در میلی‌لیتر)	راندمان استخراج	منبع
الف	سبزیجات	دیازینون، فنیتروتیون، کلرپیریفوس	۰/۱-۱۰۰	۰/۰۸-۰/۲۱	۸۱/۴-۱۰۶	(۳۶)
ب	روغن بادام‌زمینی	دیازینون، فنیتروتیون	۵-۲۰۰۰	۴/۲-۵/۴	۹۶/۵-۱۰۲/۲	(۳۷)
ج	آب‌میوه	دیازینون، فنیتروتیون، کلرپیریفوس	۰/۰۳۶-۲۵۰	۰/۰۱۱-۰/۰۱۹	۷۲-۷۶	این مطالعه

الف: میکرواستخراج فاز جامد مستقیم جفت‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز فوتومتر شعله‌ای
ب: استخراج فاز جامد پخشی جفت‌شده با کروماتوگرافی گازی مجهز به مجهز به اسپکترومتر جرمی
ج: استخراج فاز جامد پخشی تلفیق‌شده با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی جفت‌شده با کروماتوگرافی‌گازی مجهز به آشکارساز نیتروژن-فسفر

در این مطالعه یک ماده جاذب جامد به‌روش سنتز بسیار ساده هم رسوبی با عنوان کامپوزیت‌های هیدوکسید لایه‌ی دوگانه chitosan-Ni-Fe LDH تولید و برای پیش تغلیظ و اندازه‌گیری آفت‌کش‌های دیازینون، فنیتروتیون و کلرپیریفوس در نمونه‌های آب‌میوه صنعتی بر پایه روش استخراج فاز جامد پخشی مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور افزایش فاکتور تغلیظ و امکان جداسازی مقادیر پایین‌تر آنالیت‌ها در نمونه‌های حقیقی روش مذکور با روش استخراج مایع-مایع پخشی تلفیق گردید. کلیه پارامترهای مؤثر در استخراج DSPE-DLLME مورد بررسی قرار گرفته و بهینه‌سازی گردید. در پایان GC-NPD برای اندازه‌گیری کمی آنالیت‌های استخراج شده به کار گرفته شد. در مجموع روش پیشنهادی روشی ساده و ارزان بوده و همچنین دارای تکرار پذیری مطلوب (۵/۶-۲/۶)، محدوده خطی وسیع (۲۵۰-۰/۰۳۶ نانوگرم در میلی‌لیتر) می‌باشد. به‌علاوه این روش مقادیر مطلوبی برای فاکتور تغلیظ (۳۶۰-۳۸۰)، حد تشخیص (۰/۰۱۹-۰/۰۱۱ نانوگرم در میلی‌لیتر) و راندمان استخراج (۷۲-۷۶ درصد) به‌دست می‌دهد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

References

1. Konstantinou IK, Hela DG, Albanis TA. The status of pesticide pollution in surface waters (rivers and lakes) of Greece. Part I. Review on occurrence and levels. Environ. Pollut. 2006; 141(3):555-70.
2. Bhanti M, Taneja A. Contamination of vegetables of different seasons with organophosphorous pesticides and related health risk assessment in northern India. Chemosphere 2007; 69(1):63-8.
3. Baig SA, Akhtera NA, Ashfaq M, Asi MR. Determination of the organophosphorus pesticide in vegetables by high-performance liquid chromatography. Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci. 2009; 6(5):513-9.
4. Gilden RC, Huffling K, Sattler B. Pesticides and health risks. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs 2010; 39(1):103-10.
5. Van der Hoff GR, van Zoonen P. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. J. Chromatogr. A 1999; 843(1-2):301-22.
6. Sharma D, Nagpal A, Pakade YB, Katnoria JK. Analytical methods for estimation of organophosphorus pesticide residues in fruits and vegetables: A review. Talanta 2010; 82(4):1077-89.
7. Ojha A, Yaduvanshi SK, Srivastava N. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticides on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues. Pestic. Biochem. Physiol. 2011; 99(2):148-56.
8. Razzaghi A, Khanjani N, Daneshi S. Contamination with organophosphate toxins in humans in Iran: A systematic review. J. Health Dev. 2016; 5(1):90-7 [in Persian].
9. Gonçalves-Filho D, Silva CCG, De Souza D. Pesticides determination in foods and natural waters using solid amalgam-based electrodes: challenges and trends. Talanta 2020; 212:120756.
10. Mitra S. Sample preparation techniques in analytical chemistry, John Wiley pub. New Jersey, 2003 pp. 12-35.
11. Bidari A, Ganjali MR, Norouzi P, Hosseini MRM, Assadi Y. Sample preparation method for the analysis of some organophosphorus pesticides residues in tomato by ultrasound-assisted solvent extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction. Food Chem. 2011; 126(4):1840-4.
12. Garcia C, Tiedra P, Ruano A, Gomez J, Garcia-Villanova R. Evaluation of the liquid—liquid extraction technique and application to the determination of volatile halo-organic compounds in chlorinated water. J. Chromatogr. A 1992; 605(2):251-5.
13. Amini R, Khandaghi J, Mogaddam MRA. Combination of Vortex-Assisted Liquid–Liquid Extraction and Air-Assisted Liquid–Liquid Microextraction for the Extraction of Bisphenol A and Bisphenol B in Canned Doogh Samples. Food Anal. Methods 2018; 11(11):3267-75.
14. Montes R, Rodríguez I, Ramil M, Rubi E, Cela R. Solid-phase extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction for the sensitive determination of selected fungicides in wine. J. Chromatogr. A 2009; 1216(29):5459-66.
15. Zahiri E, Khandaghi J, Farajzadeh MA, Mogaddam MRA. Combination of dispersive solid phase extraction with solidification organic drop–dispersive liquid–liquid microextraction based on deep eutectic solvent for extraction of organophosphorous pesticides from edible oil samples. J. Chromatogr. A 2020; 1627:461390.
16. Grover A, Mohiuddin I, Malik AK, Aulakh JS, Kukkar D, Kim K-H. Chitosan-Ni/Fe layered double hydroxide composites as an efficient solid phase extraction sorbent for HPLC-PDA monitoring of parabens in personal care products. Chemosphere 2021; 264:128429.
17. Guo X, Li Y, Zhang B, Yang L, Di X. Development of dispersive solid phase extraction based on dissolvable Fe3O4-layered double hydroxide for high-performance liquid chromatographic determination of phenoxy acid herbicides in water samples. Microchem. J. 2020; 152:104443.
18. Du L, Wang X, Liu T, Li J, Wang J, Gao M, et al. Magnetic solid-phase extraction of organophosphorus pesticides from fruit juices using NiFe2O4@ polydopamine@ Mg/Al-layered double hydroxides nanocomposites as an adsorbent. Microchem. J. 2019; 150:104128.
19. Elanchezhiyan SS, Sivasurian N, Meenakshi S. Enhancement of oil recovery using zirconium-chitosan hybrid composite by adsorptive method. Carbohydr. Polym. 2016; 145:103-13.
20. Psillakis E, Kalogerakis N. Developments in liquid-phase microextraction. Trends Analyt. Chem. 2003; 22(9):565-74.
21. Pil-Bala B, Khandaghi J, Mogaddam MRA. Analysis of endocrine-disrupting compounds from cheese samples using pressurized liquid extraction combined with dispersive liquid–liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography. Food Anal. Methods 2019; 12(7):1604-11.
22. Rezaee M, Assadi Y, Hosseini M-RM, Aghaee E, Ahmadi F, Berijani S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid–liquid microextraction. J. Chromatogr. A 2006; 1116(1-2):1-9.
23. Chandran S, Singh R. Comparison of various international guidelines for analytical method validation. Die Pharmazie 2007; 62(1):4-14.
24. Muscarella M, Magro SL, Palermo C, Centonze D. Validation according to European Commission Decision 2002/657/EC of a confirmatory method for aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Anal. Chim. Acta 2007; 594(2):257-64.
25. Shirdast A, Sharif A, Abdollahi M. Effect of the incorporation of sulfonated chitosan/sulfonated graphene oxide on the proton conductivity of chitosan membranes. J. Power Sources 2016; 306:541-51.
26. Moradi SE. Preparation of biopolymerical nanocarriers from chitosan/Arabic gum by complex coacervation; Evaluation of physicochemical, microstructural/molecular properties and its effect on oxidative stability of kilka (Clupeonella cultiventris) oil. Iran. J. Food Sci. Tech. 2019; 16(4):199-214 [in Persian].
27. Badawy ME, Lotfy TM, Shawir SM. Preparation and antibacterial activity of chitosan-silver nanoparticles for

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

application in preservation of minced meat. Bull. Natl. Res. Cent. 2019; 43(1):1-14.

28. Pontes-Neto JG, Lyra MA, Soares MF, Chaves LL, Soares-Sobrinho JL. Intercalation of olanzapine into CaAl and NiAl Layered Double Hydroxides for dissolution rate improvement: Synthesis, characterization and in vitro toxicity. J. Drug Deliv. Sci. Technol. 2019; 52:986-96.
29. Bahrani S, Ghanbarzadeh B, Hamishekar H, Khiyabani MS. Nanoencapsulation of omega-3 fatty acids using caseinate-pectin based complexes: FTIR, DSC, particle size, and encapsulation efficiency. Iran. J. Nutr. Sci. Food Tech. 2013; 8(3):1-15 [in Persian].
30. Zhang YC, editor Hydrothermal synthesis of Ni-Fe layered double hydroxide with high crystallinity using homogeneous precipitation method. J. Adv. Mater. Res. 2013; 821:1313-6.
31. Mohebbi A, Yaripour S, Farajzadeh MA, Mogaddam MRA. Combination of dispersive solid phase extraction and deep eutectic solvent–based air–assisted liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry as an efficient analytical method for the quantification of some tricyclic antidepressant drugs in biological fluids. J. Chromatogr. A 2018; 1571:84-93.
32. Cao Y, Zheng D, Zhang F, Pan J, Lin C. Layered double hydroxide (LDH) for multi-functionalized corrosion protection of metals: A review. J. Mater. Res. Technol. 2021; 102:232-63.
33. Farajzadeh MA, Mohebbi A, Pazhohan A, Nemati M, Mogaddam MRA. Air–assisted liquid–liquid microextraction; principles and applications with analytical instruments. Trends Analyt. Chem. 2020; 122:115734.
34. Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A. New extraction media in microextraction techniques. A review of reviews. Microchem. J. 2020; 153:104386.
35. Farajzadeh MA, Afshar Mogaddam MR, Alizadeh Nabil AA. Polyol‐enhanced dispersive liquid‐liquid microextraction coupled with gas chromatography and nitrogen phosphorous detection for the determination of organophosphorus pesticides from aqueous samples, fruit juices and vegetables. J. Sep. Sci. 2015; 38(23):4086-94.
36. Sapahin HA, Makahleh A, Saad B. Determination of organophosphorus pesticide residues in vegetables using solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography–flame photometric detector. Arab. J. Chem. 2019; 12(8):1934-44.
37. Su R, Xu X, Wang X, Li D, Li X, Zhang H, et al. Determination of organophosphorus pesticides in peanut oil by dispersive solid phase extraction gas chromatography–mass spectrometry. J. Chromatogr. B 2011; 879(30):3423-8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]

Use of Dispersive Solid-Phase Extraction in Combination with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Assessment of Organophosphorus Pesticides in Fruit Juice Samples Using Gas Chromatography-Nitrogen-Phosphorus Detector

Limoei Khosrowshahi B[1], Marzi Khosrowshahi E[2], Afshar Mogaddam MR[3,4], Khandaghi J[5]*

1- M.Sc Graduate of Analytical Chemistry, Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

2- Ph.D Graduate of Analytical Chemistry, Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

3- Assistant Professor of Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

4- Assistant Professor of Pharmaceutical Analysis Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*5- *Corresponding author: Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Sarab Branch, Islamic Azad University, Sarab, Iran. Email: khandaghi@iausa.ac.ir*

Received 21 Nov, 2022 **Accepted 6 Mar, 2022**

Background and Objectives: Use of various pesticides to protect agricultural products increases likelihood of residues of these compounds entering the human body through the consumption of food products. In this study, an efficient method was developed for the extraction and preconcentration of organophosphorus pesticides from packed juice samples using gas chromatography-nitrogen-phosphorus detector.

Materials & Methods: In this study, a combination of dispersive solid-phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction was used for the extraction of pesticides from fruit juice samples. Chitosan-Ni/Fe layered double hydroxide composite was synthesized and used after characterization as adsorbent in dispersive solid-phase extraction step. To achieve high extraction efficiency, effects of various factors in the two extraction stages were investigated and optimized.

Results: Interaction of chitosan with the produced layered double hydroxide was verified using Fourier-transform infrared spectroscopy and its crystallographic structure was verified using X-ray diffraction. In addition, porous structure of the synthesized adsorbent, indicating large surface areas and high extraction capacities, was verified via morphological study of the composite. Developed extraction method was successfully carried out on juice samples as the sample matrix included no significant effects on the separation of analytes and limits of detection and limit of quantification of the method included 0.011–0.019 and 0.043–0.063 ng/ml, respectively. Linear range of the suggested method was wide (0.36–0.250) and the method included an appropriate precision with RSD% less than 5.6 for intra and inter-day precisions. Values were also desirable for the extraction efficiency (72–76%).

Conclusion: In general, dispersive solid-phase extraction in combination with dispersive liquid-liquid microextraction included a wide linear range and appropriate repeatability. In addition, this method included desirable values for enrichment factor, limits of detection and extraction efficiency and hence is recommended for the assessment of target pesticides in juice samples.

Keywords: Fruit juice, Organophosphorus pesticide, dispersive solid-phase extraction, Chitosan-Ni/Fe LDH composite, Gas chromatography

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.8.0]