مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 4، زمستان 1393، صفحات 107-97

تعیین میزان فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در شیرخشک‌های موجود در بازار تهران با روش ریزاستخراج مایع-مایع پخشی به همراه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا

سیده معصومه مدنی تنکابنی[1]، مرضیه کمانکش[2]، سید امیرمحمد مرتضویان فارسانی[3]، روح الله فردوسی[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 آموزش علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
4- 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
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: 93/4/28 تاریخ پذیرش: 93/7/16

چکیده

سابقه و هدف: اعمال فرآیندهای حرارتی در حین تولید شیرخشک، آن را در معرض ایجاد دو ترکیب فورفورال (F) و هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) قرار می‌دهد. سمی بودن این ترکیبات حتی در مقادیر بسیار کم به اثبات رسیده است. هدف از این پژوهش، معرفی و بهینه‌سازی روش ریزاستخراج مایع- مایع پخشی (DLLME) به همراه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا به عنوان روشی حساس و دقیق جهت شناسایی و تعیین مقادیر بسیار کم فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های شیرخشک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: عوامل مؤثر بر استخراج F و HMF مشخص شدند و توسط روش سطح پاسخ بهینه گردیدند. به منظور بهینه‌سازی، طرح مرکب مرکزی به کار گرفته شد. ارقام شایستگی روش پیشنهادی شامل حد تشخیص، حد تعیین، تکرارپذیری و گستره‌ی خطی تعیین گردیدند. استخراج و تعیین مقادیر فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال موجود در 22 نمونه‌ی تهیه شده از داروخانه‌های شهر تهران با استفاده از روش پیشنهادی انجام گرفت. روش آماری مورد استفاده در این پژوهش آنالیز واریانس یک طرفه بود.

یافته‌ها: مقادیر بهینه‌ی مربوط به فاکتورهای مؤثر بر استخراج F و HMF مشخص شدند. ارقام شایستگی روش پیشنهادی در گستره‌ی بسیار مطلوب قرار داشت. در پژوهش حاضر، کمترین و بیشترین مقدار فورفورال به ترتیب 0/18 و 20/77 میکروگرم بر گرم و هیدروکسی متیل فورفورال 0/24 و 167/16 میکروگرم بر گرم در نمونه‌های شیرخشک بود.

نتیجه گیری: روش استخراجی DLLME به همراه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا با سایر روش‌های قبلی مقایسه گردید و کارایی بالا و قابلیت اعتماد آن در تعیین مقادیر بسیار کم فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های شیرخشک به اثبات رسید.

واژگان کلیدی: شیرخشک، فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال، ریزاستخراج مایع- مایع پخشی، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا، طرح مرکب مرکزی

• مقدمه

امروزه ایمنی مواد غذایی از نظر شیمیایی یکی از مهم‌ترین موضوعاتی است که باید به طور گسترده مورد توجه و ارزیابی قرار بگیرد. عمل فرآوری مواد غذایی سبب بروز تغییرات شیمیایی در برخی از ترکیبات موجود در ماده‌ی غذایی از جمله کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها و ویتامین‌ها شده و منجر به تشکیل ترکیبات سمی و خطرناک می‌گردد. این نوع واکنش‌های شیمیایی نامطلوب، در طی فرآیند پخت، نگه‌داری و یا سایر فرآیندهای صنعتی حاصل می‌شوند و متأثر از نوع روش فرآوری و ترکیبات تشکیل دهنده‌ی ماده‌ی غذایی هستند. شیرخشک در ماه‌های ابتدایی تولد نوزادان به عنوان

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

اصلی‌ترین غذای کمکی بعد از شیر مادر محسوب می‌شود. با هدف افزایش ارزش غذایی شیرخشک ترکیباتی همچون لاکتوز و لیزین به آن اضافه می‌گردد. به دنبال اعمال فرآیندهای حرارتی در حین تولید شیرخشک، لاکتوز و لیزین موجود در آن در طی انجام واکنش‌هایی از جمله واکنش میلارد سبب ایجاد ترکیبات سمی و خطرناک فورفورال (F) و هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) می‌شوند (2، 1). فورفورال از طرف کتابخانه بین‌المللی پزشکی آمریکا به عنوان ترکیبی سمی و خطرناک برای انسان شناسایی شده است و دز سمی آن برای موش $10^3 \times 65$ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. هیدروکسی متیل فورفورال نیز با مقدار 75 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن انسان بروز مسمومیت را به دنبال دارد (3).

با توجه به وزن کم نوزادان مصرف کننده‌ی شیرخشک و حساسیت شدید آنان به مواد مصرفی و عدم توانایی آن‌ها در دفع مواد زیان‌آور و ناقص بودن فلور میکروبی دستگاه گوارش نوزادان در چند ماه اول تولد، راه‌یابی این مواد به بدن می‌تواند اثرات سویی بر رشد و تکامل اندام‌های نوزادان داشته و دز بالای آن سبب بروز آسیب‌های شدید کبدی می‌گردد (6-4). بنابراین شناسایی و اندازه‌گیری این ترکیبات در مواد غذایی حتی در مقادیر بسیار کم به دلیل خطرات جدی که بر سلامت انسان دارند از اهمیت بالایی برخوردار است (7). همچنین اندازه‌گیری سطح غلظتی فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در شیرخشک می‌تواند به عنوان یک شناساگر جهت ارزیابی کیفیت تغذیه‌ای آن و تعیین سطح کیفی فرآیندهای حرارتی مختلف مورد توجه قرار گیرد، زیرا در صورتی که شرایط تولید شیرخشک مناسب نباشد میزان این ترکیبات در ماده‌ی غذایی می‌تواند به شدت افزایش یابد (8).

به منظور تعیین و شناسایی فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در انواع مختلف مواد غذایی روش‌های متعدد دستگاهی از جمله اسپکتروسکوپی (9)، کروماتوگرافی گازی (10) و کروماتوگرافی مایع (11) به کار گرفته شده است. به دلیل وجود انواع ناخالصی در بافت نمونه‌ی جامد و مزاحمت‌های متعدد آن در فرآیند تشخیص آنالیت، شناسایی و تعیین فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در شیرخشک نیازمند به کارگیری مراحل استخراج و آماده‌سازی نمونه قبل از به کارگیری روش‌های دستگاهی می‌باشد. از جمله روش‌های استخراجی که برای تعیین و شناسایی فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال مورد استفاده قرار گرفته است، استخراج مایع-مایع (Liquid-liquid extraction) (12) و استخراج فاز جامد (Solid-phase extraction) می‌باشند (13). از معایب این روش‌ها می‌توان به حساسیت و دقت پایین، زمان طولانی استخراج و همچنین احتمال بالای از دست رفتن آنالیت اشاره کرد. در سالیان اخیر، استفاده از روش‌های ریزاستخراجی به عنوان روشی کارا و مؤثر به منظور استخراج ترکیبات مختلف از بافت نمونه‌های گوناگون مورد توجه قرار گرفته‌اند (15، 14). روش ریزاستخراج مایع- مایع پخشی (Dispersive liquid-liquid microextraction) اولین بار در سال 2006 توسط اسدی و همکاران ابداع و معرفی شد (16). در این روش سه فاز مایع شامل نمونه‌ی آبی حاوی آنالیت، حلال استخراجی و حلال پخش‌کننده مورد استفاده قرار می‌گیرند. در طی مرحله‌ی ریزاستخراج آنالیت مورد نظر از فاز آبی به حلال استخراجی انتقال می‌یابد. حلال پخش‌کننده که امتزاج‌پذیری مناسبی با دو محیط آبی و آلی دارد، حلال استخراجی را به صورت دانه‌های ریز در سراسر محیط آبی پخش کرده و خروج آنالیت از محیط آبی و راه‌یابی آن به فاز استخراجی را آسان می‌سازد (19-17). 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 (21، 20، 16). همچنین روش DLLME از قابلیت بالایی جهت استخراج آنالیت‌های گوناگون از مواد غذایی مختلف برخوردار می‌باشد (24-22).

در این پژوهش استخراج، شناسایی و تعیین مقادیر بسیار کم فورفورال (F) و هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) در شیرخشک با استفاده از یک روش گزینش‌گر، حساس و دقیق DLLME-HPLC انجام پذیرفت. عوامل مؤثر بر استخراج F و HMF از جمله حجم حلال استخراجی، حجم حلال پخشی، درصد نمک و pH محلول نمونه به شیوه‌ی سطح پاسخ و با استفاده از طرح مرکب مرکزی بهینه شدند. همچنین کارایی این روش در تعیین مقادیر بسیار کم فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های حقیقی شیرخشک عرضه شده در داروخانه‌های شهر تهران مورد ارزیابی قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

تهیه‌ی نمونه‌ها: طی بررسی‌های انجام شده برندهای معروف شیرخشک عرضه شده در داروخانه‌های شهر تهران شناسایی شدند و سپس هفت برند به عنوان فراوان‌ترین شیرخشک‌های مصرفی، انتخاب شدند. در مجموع 22 نمونه‌ی شیرخشک تهیه و تا زمان انجام آزمایش در یخچال در دمای 4 درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

مواد شیمیایی و استانداردها: فورفورال، 2-اتیل1-هگزانول، اکتانول، متانول، اتانول، استون، آمونیوم فسفات، هیدروکلریک اسید، استیک اسید، سدیم هیدروکسید، سدیم کلرید، پتاسیم هگزا فروسیانید، استات روی و آب مقطر HPLC-grade، همگی با بالاترین درجه خلوص از شرکت مرک (Merk, Darmstadt, Germany) تهیه گردیدند. 5-هیدروکسی متیل-2- فورآلدهید از شرکت سیگما-آلدریچ (Sigma-aldrich, Schnelldorf, Germany) خریداری شد.

محلول استاندارد اولیه‌ی فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در غلظت $\mu g\ mL^{-1}$ 2000 در متانول تهیه گردید. سایر محلول‌های استاندارد ($\mu g\ mL^{-1}$ 200-0/05) از حل کردن مقدار مناسبی از محلول استاندارد اولیه در متانول تهیه شدند. 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 استیک اسید در بالن 100 میلی‌لیتری با آب مقطر به حجم رسانده شد. همه‌ی مواد شیمیایی و استانداردها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

طراحی آزمایش و بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر روش استخراجی به شیوه‌ی سطح پاسخ: بهینه‌سازی متغیرهای مؤثر در استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال از جمله حجم حلال استخراجی، حجم حلال پخشی، pH و مقدار نمک به منظور 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). پس از انتخاب سطوح مختلف برای هر یک از پارامترها به منظور طراحی تعداد آزمایش‌های مورد نیاز، از نرم‌افزار Design expert v. 8.0.5 محصول شرکت استیت ایز (Minneapolis, USA) استفاده گردید که به طراحی 30 آزمایش با 6 نقطه‌ی مرکزی انجامید. آزمایش‌ها با 3 بار تکرار انجام گرفت. داده‌های مربوط به اندازه‌گیری فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند.

آزمون‌های معتبرسازی روش اندازه‌گیری-DLLME HPLC برای اندازه‌گیری فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال: به منظور رسم منحنی کالیبراسیون و تعیین گستره‌ی خطی روش، محلول‌های آبی مخلوط دو استاندارد فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در گستره‌ی غلظتی 1 تا 200 نانوگرم بر گرم مورد استفاده قرار گرفتند. انحراف استاندارد نسبی روش، با انجام 5 آزمایش تکراری با استفاده از نمونه‌ی شیرخشکی که میزان فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در آن $ng\ g^{-1}$ 50 بود، تحت شرایط بهینه انجام پذیرفت. محاسبه درصد بازیافت روش با استفاده از نمونه شیرخشکی که غلظت $ng\ g^{-1}$ 10 از مخلوط فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در آن به صورت دستی اضافه شده بود، محاسبه گردید. حد تشخیص (Limit of detection)روش براساس S/N 3 و حد اندازه‌گیری (Limit of quantification) بر پایه‌ی S/N 10 محاسبه شد.

آنالیز فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های شیرخشک: استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های شیرخشک از نقاط بهینه‌ی به دست آمده (مقدار اکتانول 60 میکرولیتر، مقدار اتانول 650 میکرولیتر، مقدار 20 درصد سدیم کلرید و pH برابر 6/5) انجام پذیرفت. ابتدا 5 گرم از هر یک از نمونه‌های شیرخشک وزن گردید و با 5 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد، سپس از مخلوط به دست آمده 2 گرم درون فالکون در بسته وزن شد و به آن 9 میلی‌لیتر محلول سود 0/01 مول بر لیتر اضافه شد و به مدت 3 دقیقه توسط هم‌زن مخلوط گردید. pH محلول توسط مقدار مناسبی از هیدروکلریک اسید تنظیم و به منظور ته‌نشین شدن پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌های محلول در شیر خشک و کاهش مزاحمت‌ها، یک میلی‌لیتر محلول کارز 1 و یک میلی‌لیتر محلول کارز 2 به آن اضافه شد.

جدول 1. متغیرها و سطوح بهینه‌سازی آن‌ها

	متغیر	سطوح				
		-α	-1	0	+1	+α
A	حجم حلال استخراجی (میکرولیتر)	40	60	80	100	120
B	حجم حلال پخشی (میکرولیتر)	300	475	650	825	1000
C	نمک (درصد)	0	5	10	15	20
D	PH	3	4/75	6/5	8/25	10

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

محلول حاصل به مدت 5 دقیقه و با سرعت 4000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد. پس از این مرحله، با هدف حذف ذرات معلق موجود در محلول، فاز شفاف رویی فیلتر شد و سپس این محلول به فالکون 15 میلی‌لیتری انتقال داده شد. به منظور فرآیند ریزاستخراج مایع- مایع پخشی، ابتدا به محلول بدست آمده در مرحله قبل، 20 درصد نمک سدیم کلرید اضافه گردید و با استفاده از همزن به خوبی هموژن شد. سپس مخلوط 60 میکرولیتر اکتانول (حلال استخراجی) به همراه 650 میکرولیتر اتانول (حلال پخشی) به محلول اضافه گردید. در طی این مرحله محلول حاصل ابری شده و استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال به درون فاز آلی انجام پذیرفت. جهت جداسازی فازها، نمونه به مدت 5 دقیقه و تحت سرعت rpm 4000 سانتریفوژ شد. سپس 20 میکرولیتر از فاز آلی جمع آوری شده توسط سرنگ به دستگاه HPLC (Cecil CE-4900) تزریق شد.

• یافته‌ها

از جمله پارامترهای مؤثر بر فرآیند ریزاستخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های شیرخشک، نوع و حجم حلال استخراجی، نوع و حجم حلال پخش کننده، pH محلول نمونه و مقدار نمک می‌باشند.

انتخاب نوع حلال استخراجی و نوع حلال پخشی: در به کارگیری تکنیک ریزاستخراج مایع-مایع پخشی، نوع حلال استخراج کننده و نوع حلال پخشی تأثیر به‌سزایی در مقدار استخراج آنالیت دارند. به منظور انتخاب حلال استخراجی حلال‌های 2-اتیل1-هگزانول و اکتانول مورد آزمایش قرار گرفتند که بهترین پاسخ از به‌کارگیری حلال اکتانول به دست آمد. بنابراین اکتانول به عنوان حلال استخراجی مناسب انتخاب شد. با هدف انتخاب بهترین نوع حلال پخشی نیز سه نوع حلال متانول، اتانول و استون مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج بالا بودن درصد استخراج را با به کارگیری حلال اتانول نشان داد.

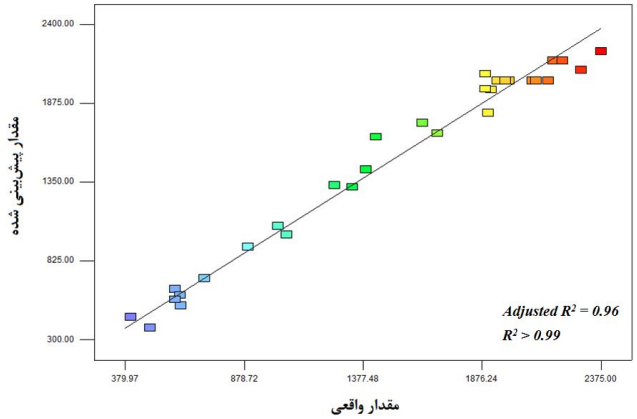
نتایج بهینه‌سازی عوامل مؤثر بر استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM): رویه‌ی سطح پاسخ معمولاً برای بررسی اثر ترکیبی چندین متغیر به منظور کسب شرایط بهینه برای یک سامانه‌ی چند متغیره به کار می‌رود (26). برای این منظور از طرح آزمایشی مرکب مرکزی استفاده شد. عوامل مؤثر بر کارایی روش ریزاستخراج شامل حجم حلال استخراجی، حجم حلال پخشی، 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 و پاسخ‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار Design expert تحلیل گردید. 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 :

$$Y = +2026.27 - 189.18\,A - 67.00\,B + 150.09\,C - 446.61\,D + 45.50\,AB - 53.12\,AC + 127.00\,AD + 153\,BC - 4.25\,BD - 50.62\,CD + 151.27\,A^2 - 996.73\,B^2 + 475.27\,C^2 - 610.73\,D^2$$

Y: مجموع سطح زیر منحنی نسبی فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال استخراج شده، A: حجم حلال استخراجی، B: حجم حلال پخشی، C: درصد نمک و D: pH 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 درصد نمک و pH به ترتیب اثر مثبت و منفی قابل ملاحظه‌ای بر راندمان استخراج دارند.

میزان انطباق مدل روی داده‌های واقعی توسط ضریب تعیین R^2 و Adjusted-R^2 نشان داده می‌شود. R^2 بالاتر از 0/99 و Adjusted-R^2 =0/96 گویای رابطه‌ای قوی بین داده‌های واقعی و مدل پیشنهادی می‌باشد (شکل 1). در این مدل p-value کمتر از 0/0001 و F-value = 49/57 است.



شکل 1. مقدار پیش‌بینی شده - مقدار واقعی

در به کارگیری طراحی آزمایش علاوه بر امکان پیش‌گویی مقدار بهینه‌ی متغیرها و بررسی انطباق آن با مقادیر واقعی (شکل 1) و نیز بررسی جداگانه‌ی اثر هر کدام از آن‌ها در راندمان استخراج، همچنین می‌توان برهم‌کنش‌های موجود بین متغیرها را در قالب نمودار سه بعدی مشاهده کرد. شکل2- الف برهم‌کنش بین حجم حلال استخراجی و حجم حلال پخشی را نشان می‌دهد. با افزایش حجم حلال استخراجی تا 60 میکرولیتر در حالی که میزان حلال پخشی 650 میکرولیتر است، بیشترین کارایی استخراج دیده می‌شود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

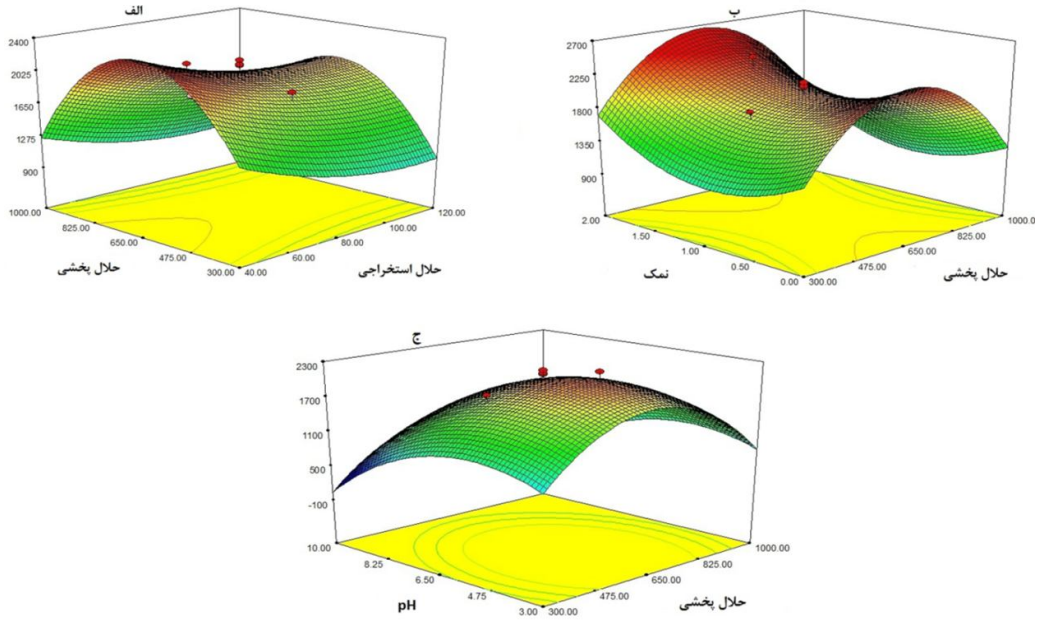
شکل 2- ب برهمکنش بین میزان نمک و حجم حلال پخشی را نشان می‌دهد. با افزایش میزان نمک به بیشترین مقدار در حالی که حجم حلال پخشی 100 میکرولیتر است بالاترین مقدار پاسخ بدست خواهد آمد. شکل 2- ج بر هم کنش بین pH و حجم حلال پخشی را نشان می‌دهد که بیشترین پاسخ در pH= 6/5 و میزان حلال پخشی 650 میکرولیتر می‌باشد.

معتبرسازی روش DLLME-HPLC جهت تعیین فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در شیرخشک:

ارقام شایستگی روش پیشنهادی، شامل تکرارپذیری، گستره‌ی خطی، حد تشخیص و حد تعیین نمونه‌های شیرخشک حاوی غلظت‌های متفاوتی از استاندارد فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال مورد ارزیابی قرار گرفتند. بررسی منحنی‌های کالیبراسیون ترکیبات فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در آب نشان می‌دهد که این منحنی‌ها با ضریب همبستگی بالا (R^2 >0/99) در محدوده غلظتی 1-200 ng g^{-1} به صورت خطی می‌باشند. از نمونه‌ی شیرخشک بعد از افزایش مقادیر مشخص محلول استاندارد، برای تعیین انحراف استاندارد، حد تشخیص، حد تعیین و درصد بازیافت نسبی استفاده شد. بررسی انحراف استاندارد نسبی نشان‌دهنده‌ی دقت خوب روش می‌باشد که برای فورفورال برابر با 3/9 درصد و برای هیدروکسی متیل فورفورال 4/9 درصد می‌باشد. حد تشخیص روش پیشنهادی برای فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال به ترتیب 0/7 ng g^{-1} و 1/8 ng g^{-1} و حد اندازه‌گیری 2/4 ng g^{-1} و 5/9 ng g^{-1} می‌باشد. میزان بازیافت 98/1 درصد برای هیدروکسی متیل فورفورال و 93/0 درصد برای فورفورال گویای عدم تأثیرپذیری تکنیک پیشنهادی از بافت نمونه در استخراج می‌باشد (جدول 2). مقایسه‌ی ارقام شایستگی روش پیشنهادی با سایر روش‌ها نشان می‌دهد که روش پیشنهادی قابلیت بالایی جهت استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در مقادیر بسیار کم، از انواع نمونه‌های شیرخشک را دارا می‌باشد (جدول 3).

جدول 2. ارقام شایستگی روش پیشنهادی

نمونه	آنالیت	گستره‌ی خطی (ng g^{-1})	ضریب همبستگی	انحراف استاندارد نسبی(%)	درصد بازیابی	حد تشخیص (ng g^{-1})	حد تعیین (ng g^{-1})
شیر خشک	F	1-200	0/9898	3/90	93/0	0/7	2/4
	HMF	1-200	0/9915	4/91	98/ 1	1/8	5/9



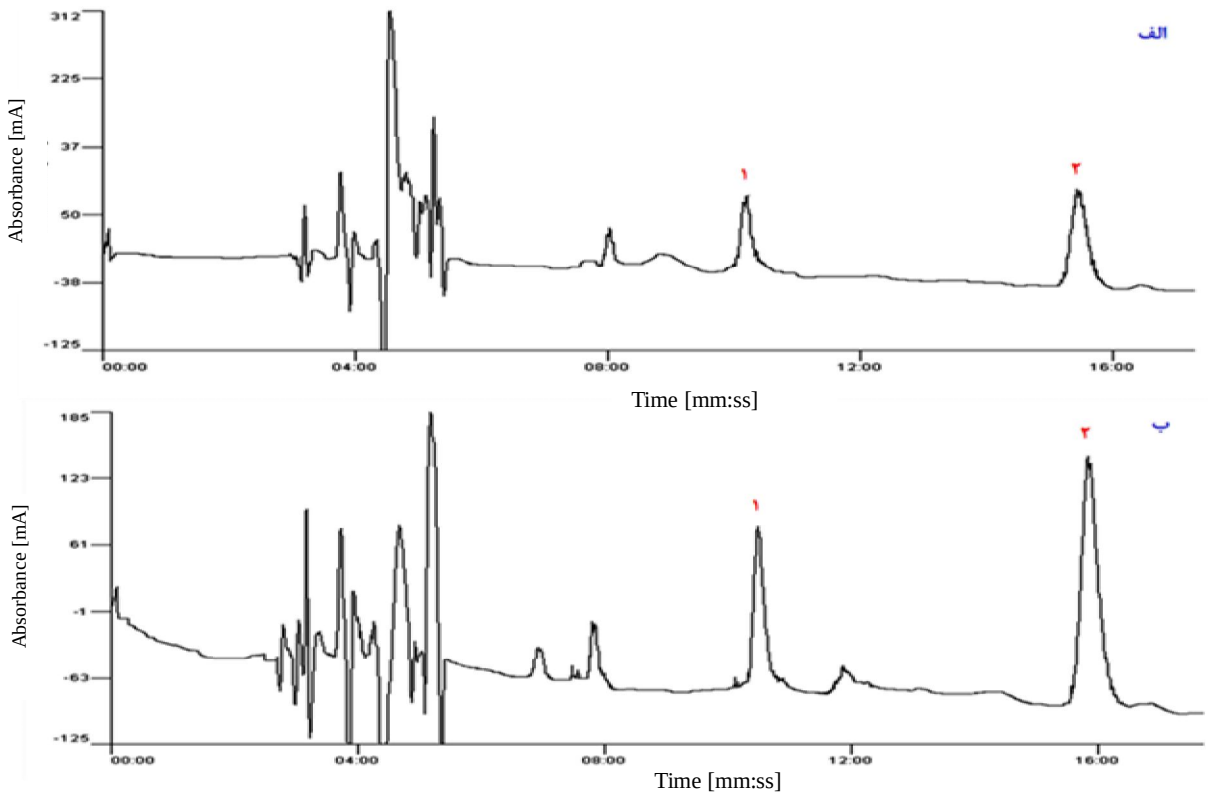
شکل 2. نمودار سه بعدی برهم کنش بین متغیرهای مؤثر بر فرآیند ریزاستخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال
الف: حجم حلال استخراجی و حجم حلال پخشی، ب: حجم حلال پخشی و نمک، ج: حجم حلال پخشی و pH

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

جدول 3. مقایسه روش پیشنهادی با سایر روش‌ها

نمونه	روش	آنالیت	گستره‌ی خطی ($ng\ g^{-1}$)	انحراف استاندارد (%)	درصد بازیابی	حد تشخیص ($ng\ g^{-1}$)	حد تعیین ($ng\ g^{-1}$)	منابع
سرکه	ریزاستخراج با فاز جامد از فضای فوقانی همراه با کروماتوگرافی گازی	F	$(0/12\text{-}16) \times 10^3$	≤11/7	93	15	-	(28)
آب پرتغال	استخراج فاز جامد به همراه کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی	HMF	25 -700	5	-	12	39	(29)
عسل	استخراج مایع-مایع به همراه کروماتوگرافی گازی-اسپکترومتری جرمی	HMF	-	15 - 20	-	12	39	(29)
شیرخشک	روش پیشنهادی	F	1-200	3/9	92	0/7	2/4	مطالعه‌ی حاضر
		HMF	1-200	4/9	98/1	1/8	5/9	

غلظت فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در انواع نمونه‌های شیرخشک: به منظور ارزیابی کارایی روش پیشنهادی، 22 نمونه‌ی مختلف شیرخشک از داروخانه‌های شهر تهران تهیه گردید و تحت فرآیند DLLME-HPLC با 3 بار تکرار قرار گرفتند. مقادیر میانگین یافت شده از فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال موجود در نمونه‌ها گزارش شد. نتایج حاصل از این بررسی در جدول 4 آورده شده است. همچنین صحت روش با استفاده از مقدار مشخص اضافه شده‌ی F و HMF به نمونه‌های انتخابی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت (شکل 3).



شکل 3.کروماتوگرام حاصل از استخراج توسط روش DLLME-HPLC. الف: بدون افزایش استاندارد و ب: افزایش غلظت $ng\ g^{-1}$ 50 از هر یک از متیل فورفورال (1) و فورفورال (2)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

جدول 4. نتایج حاصل از استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال ($\mu g\ g^{-1}$) از 7 برند مختلف شیر خشک موجود در داروخانه‌های سطح شهر تهران

نام برند	نوع شیرخشک	فورفورال	هیدروکسی متیل فورفورال
A	۱	0/555 ±0/03[a]	1/062 ±0/101[cde]
	۲	0/985 ±0/07[a]	1/705 ±0/078[f]
	۳	0/555 ±0/028[a]	1/0450 ±0/078[cde]
	FMS	6/935 ±0/31[c]	3/74 ±0/311[h]
B	۱	ND[a]	1/095 ± 0/04[cde]
	۲	0/44 ± 0/46[a]	1/056 ± 0/047[cde]
	۳	0/424 ± 0/02[a]	1/084 ± 0/04[cde]
	LF	ND[a]	1/496 ± 0/156[ef]
C	۱	0/40 ± 0/02[a]	1/22 ± 0/05[de]
	۲	0/435 ± 0/021[a]	1/183 ± 0/07[de]
	۳	0/894 ± 0/005[a]	1/106 ± 0/101[cde]
	LF	2/97 ± 0/14[b]	0/765 ± 0/023[bcd]
	HA	20/768 ± 2/10[d]	3/128 ± 0/272[g]
	Comfort	1/161 ± 0/085[a]	8/003 ± 0/335[i]
D	۱	0/182 ± 0/545[a]	0/319 ± 0/46[ab]
	۲	ND[a]	0/979 ± 0/048[cd]
E	۱	0/462± 0/02[a]	0/61 ± 0/02[abc]
	۲	ND [a]	0/333 ± 0/01[ab]
	۳	0/417 ± 0/04[a]	0/611 ± 0/008[abc]
F	۱	0/72 ± 0/039[a]	167/155 ± 7/14j
	۲	0/631 ± 0/013[a]	0/242 ± 0/01[a]
G	۱	0/812 ± 0/086[a]	3/108 ± 0/21[g]

1: شیرخشک مخصوص نوزادان زیر 6 ماه، 2: شیرخشک مخصوص نوزادان 6 تا 12 ماه، 3: شیرخشک مخصوص کودکان بالای یکسال، FMS: جهت غنی‌سازی شیر مادر برای کودکان نارس، LF: شیرخشک بدون لاکتوز، HA: شیرخشک هایپوآلرژنیک، Comfort: شیرخشک با پروتئین هیدرولیز شده برای هضم بهتر

a: انحراف استاندارد ± میانگین (n=3)

ND : یافت نشد

حروف متفاوت نشان دهنده اختلاف معنادار بین انواع شیرخشک‌ها می‌باشد. اختصاص چندین حرف متفاوت به یک شیر خشک نشان‌دهنده قرارگیری آن در چندین دسته می‌باشد.

بر اساس نرم‌افزار SPSS و تست آنالیز واریانس یک طرفه داده‌های به دست آمده از همه‌ی نمونه‌های انتخابی شیرخشک که مربوط به 7 برند موجود در داروخانه‌های سطح شهر تهران می‌باشند از نظر دارا بودن مقدار فورفورال به 4 دسته و مقدار هیدروکسی متیل فورفورال به 10 دسته‌ی مختلف تقسیم شدند. در اکثر موارد شیرخشک‌های مربوط به هر برند در یک طبقه دسته‌بندی شدند. در مورد فورفورال کلیه‌ی شیرخشک‌ها به جز 3 شیرخشک که با علایم A_{FMS}, C_{LF}, C_{HA} نام‌گذاری شدند بقیه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته و در یک گروه دسته‌بندی شدند. بیشترین میزان فورفورال مربوط به C_{HA} می‌باشد که از نظر دارا بودن پروتئین و کربوهیدرات در بالاترین سطح نسبت به سایر نمونه‌ها نمی‌باشد. از این سه شیرخشک، نمونه با علامت اختصاری A_{FMS} دارای بالاترین میزان پروتئین و کربوهیدرات نسبت به سایر نمونه‌ها می‌باشد. در مورد HMF همان‌طور که گفته شد در بیشتر موارد شیرخشک‌های مربوط به یک برند با وجود دارا بودن میزان متفاوتی از ترکیبات از نظر دارا بودن هیدروکسی متیل فورفورال در یک گروه جای گرفته‌اند. در این مورد شیرخشک با علامت اختصاری F_1 دارای بالاترین میزان هیدروکسی متیل فورفورال بوده است.

حد مجاز فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال به ترتیب برابر است با $10^3 \times 65$ میکرو گرم بر کیلوگرم و 75 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن می‌باشد. وزن نوزادان از زمان تولد تا 2 سالگی در حال تغییر می‌باشد. بر اساس جداول تغذیه‌ای میزان وزن نوزاد در بدو تولد به صورت متوسط برابر با 3/200-3 کیلوگرم است. پس از آن روزانه 30 گرم به وزن او افزوده می‌شود. بنابراین در 2 هفتگی 3/5 کیلوگرم می‌شود. وزن نوزاد در 2 ماهگی به 4/800 می‌رسد. تغییرات وزن نوزادان و میزان دریافت فورفورال و هیدروکسی متیل

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

فورفورال از مصرف شیرخشک توسط نوزادان در سنین مختلف در جدول 5 گزارش شده است.

بر این اساس میزان دریافت فورفورال در تمامی سنین کمتر از آستانه خطر اعلام شده می‌باشد ولی در مورد هیدروکسی متیل فورفورال در تمام موارد زیر یک سال، نوزاد روزانه بیش از 75 میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن هیدروکسی متیل فورفورال دریافت می‌کند که این میزان در دراز مدت می‌تواند زیان‌بار باشد. اما به دلیل اثرات سم‌زدایی شیر میزان تأثیر این ترکیبات به احتمال زیاد کمتر از آنچه انتظار می‌رود، می‌باشد.

جدول 5. میزان دریافت فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال در سنین مختلف نوزاد

سن مصرف	تعداد پیمانه	دفعات مصرف	وزن نوزاد (Kg)	HMF دریافتی در روز به ازای وزن بدن($\mu g\ kg^{-1}$)	فورفورال دریافتی در روز به ازای وزن بدن($\mu g\ kg^{-1}$)
بدو تولد	3	6	3-3/200	252/26	48/85
2 هفتگی	4	6	3/500	288/30	55/83
یک ماهگی	5	6	3/900	323/42	62/63
2 ماهگی	6	5	4/800	262/57	50/89
4 ماهگی	7	4	5/500	214/04	41/45
5 ماهگی	7	4	6	196/21	38
6 ماهگی	7	5	7/400	198/86	38/51
ماه هفتم به بعد	7	5	8	183/94	35/62
یک سالگی به بعد	7	3	10-15	58/86	12

• بحث

یکی از فاکتورهای اساسی در فرآیند ریزاستخراج انتخاب حلال استخراجی و حلال پخشی مناسب می‌باشد. با توجه به ماهیت آنالیت مورد اندازه‌گیری و همچنین به‌کارگیری دستگاه کروماتوگرافی مایع فاز معکوس، در به‌کارگیری دو حلال 2-اتیل1-هگزانول و اکتانول به‌عنوان حلال استخراجی، بهترین پاسخ در مورد حلال اکتانول به دست آمد. اکتانول حلالی سبک‌تر از آب بوده و با دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالای فاز معکوس سازگاری دارد، بنابراین در استخراج این ترکیبات به کار می‌رود. با توجه به درصد استخراج بیشتر آنالیت مورد هدف با استفاده از حلال اکتانول و همچنین حصول نتایج قابل اطمینان از به کارگیری این حلال در پژوهش‌های قبلی در استخراج آنالیت از بافت‌های پیچیده (25)، در این تحقیق، اکتانول به عنوان حلال استخراجی مناسب مورد استفاده قرار گرفت. یکی از نکات تأثیرگذار در انتخاب حلال پخشی، امتزاج‌پذیری مناسب حلال پخشی با فاز آبی و حلال استخراجی می‌باشد. حلال پخشی با اثر بر روی ویسکوزیته‌ی محیط آبی و حلال استخراجی روی کیفیت تولید قطرات و به دنبال آن کیفیت استخراج اثر می‌گذارد. به دلیل دستیابی به نتایج بهتر در مورد حلال اتانول، این حلال از بین سه حلال استون، متانول و اتانول به عنوان مناسب‌ترین حلال پخشی انتخاب شد.

نمودارهای سه بعدی اثرات متقابل متغیرها را بر پاسخ به خوبی نشان می‌دهند. بیشترین بازده استخراج در حجم 60 میکرولیتر از اکتانول و 650 میکرولیتر از اتانول به دست آمد. کارایی استخراج به دلیل افزایش میزان حلال پخشی تا حجم 650 میکرولیتر و ایجاد امتزاج‌پذیری بیشتر بین دو حلال آلی و آبی در این حجم افزایش می‌یابد. در حجم‌های بیشتر از 650 میکرولیتر کارایی استخراج پایین می‌آید که این امر به سبب افزایش حلالیت آنالیت‌ها در فاز آبی در اثر افزایش حجم حلال پخشی می‌باشد. با کاهش میزان حلال استخراجی و افزایش فاکتور تغلیظ آنالیت، تجمع آنالیت‌ها در حلال استخراجی بالا می‌رود. بنابراین بیشترین بازده‌ی استخراج در کمترین حجم از حلال استخراجی حاصل می‌شود. در حجم‌های کمتر از 60 میکرولیتر جمع‌آوری حلال استخراجی مشکل بوده و هدر رفت آنالیت اتفاق می‌افتد. بنابراین بیشترین کارایی در حجم 60 میکرولیتر به دست آمد. با افزایش غلظت نمک تا 20 درصد (بیشترین مقدار نمک)، سطح زیر منحنی آنالیت‌ها افزایش می‌یابد. افزایش مقدار معینی از نمک سبب ایجاد اثر salting out می‌گردد (27). در این اثر با اضافه کردن مقدار معینی از نمک، تمایل مولکول‌های فاز آبی به یون‌های نمک موجود در آن فاز بیشتر شده و همین امر سبب کاهش حلالیت آنالیت-ها در فاز آبی گشته و نیز ثابت توزیع آنالیت‌ها را بین دو فاز

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

آلی و آبی بهبود می‌بخشد. بیشترین میزان استخراج در pH برابر 6/5 به دست آمد. در توجیه عدد به دست آمده می‌توان گفت که در این pH آنالیت‌های مورد نظر به صورت خنثی درآمده و تمایل آن‌ها به فاز آلی بیشتر شده و در نتیجه راندمان استخراج افزایش می‌یابد.

به دلیل وجود پروتئین و کربوهیدرات در شیرخشک (به عنوان یکی از عوامل اصلی انجام واکنش میلارد)، انتظار می‌رود که شیر خشک حاوی میزان بالاتر پروتئین و کربوهیدرات، مقادیر بیشتری از فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال را دارا باشد، اما در عمل شیرخشک C_{HA} که کمترین میزان پروتئین و بیشترین مقدار چربی و کربوهیدرات را نسبت به بقیه‌ی نمونه‌ها دارد درصد بالاتری از مقادیر F و HMF را دارد. همچنین بین میزان هیدروکسی متیل فورفورال و فورفورال موجود در نمونه‌ها ارتباط معنی‌داری وجود نداشته است؛ بنابراین به نظر می‌آید تشکیل این ترکیبات بیش از هر چیز مربوط به روش تولید و میزان فرآیند حرارتی اعمال شده به شیرخشک در زمان تولید آن می‌باشد.

در تحقیق حاضر، استخراج مقادیر بسیار کم فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال با استفاده از روش حساس و دقیق ریزاستخراج مایع-مایع پخشی (DLLME) حاصل شد. روش پیشنهادی سبب افزایش گزینش‌پذیری و فاکتور تغلیظ آنالیت، کاهش مصرف حلال‌های آلی کلردار و سمی و همچنین کاهش چشم‌گیر زمان استخراج آنالیت‌های مورد نظر گردید. همچنین همراه شدن این تکنیک با دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) به منظور آنالیز نمونه‌ها، منجر به کسب حد تشخیص‌های بسیار خوب و در حد نانوگرم در گرم نمونه شد. بهینه‌سازی پارامترهای تأثیرگذار بر فرآیند ریزاستخراج با استفاده از شیوه‌ی سطح پاسخ (RSM) بر پایه‌ی طرح مرکب مرکزی (CCD) انجام پذیرفت. روش پیشنهادی قابلیت به کارگیری جهت شناسایی و تعیین غلظت‌های بسیار کم فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال را در نمونه‌های حقیقی دارا می‌باشد. مقایسه‌ی ارقام شایستگی روش DLLME-HPLC با روش‌های دیگر نشان داد که این روش کارایی بالایی جهت استخراج فورفورال و هیدروکسی متیل فورفورال از نمونه‌های شیرخشک را دارد.

سپاسگزاری

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

References

1. Porretta S, Sandei L. Determination of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural (HMF) in tomato products: Proposal of a rapid HPLC method and its comparison with the colorimetric method. Food Chem 1991;39(1):51-7.
2. Durmaz G, Gökmen V. Determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural and 2-furfural in oils as indicators of heat pre-treatment. Food Chem 2010;123(3):912-6.
3. Ulbricht RJ, Northup SJ, Thomas JA. A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. Fundam Appl Toxicol 1984;4(5):843-53.
4. Abraham K, Gurtler R, Berg K, Heinemeyer G, Lampen A, Appel KE. Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. Mol Nutr Food Res 2011;55(5):667-78.
5. Pilgard A, Treu A, Van Zeeland AN, Gosselink RJ, Westin M. Toxic hazard and chemical analysis of leachates from furfurylated wood. Environ Toxicol Chem 2010;29(9):1918-24.
6. Durling LJ, Busk L, Hellman BE. Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases. Food Chem Toxicol 2009;47(4):880-4.
7. Jestoi M, Järvinen T, Järvenpää E, Tapanainen H, Virtanen S, Peltonen K. Furan in the baby-food samples purchased from the Finnish markets-Determination with SPME-GC-MS. Food Chem 2009;117(3):522-8.
8. Ameur LA, GTb, IB-A. Accumulation of 5-hydroxymethyl-2-furfural in cookies during the backing process: Validation of an extraction method. Food Chem 2005;7(98):790-6.
9. Zeini-Jahromi E, Bidari A, Assadi Y, Hosseini MRM, Jamali MR. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with graphite furnace atomic absorption spectrometry Ultra trace determination of cadmium in water samples. Anal Chim Acta 2006;2(585):305-11.
10. Jofréa VP, Assof MV, Fanzone ML, Goicoecheab HC, Martínezb LD, Silvab MF. Optimization of ultrasound assisted-emulsification-dispersive liquid-liquid microextraction by experimental design methodologies for the determination of sulfur compounds in wines by gas chromatography-mass spectrometry. Anal Chim Acta 2010;1(683):126-35.
11. Chen H, Chen H, Ying J, Huang J, Liao L. Dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography as an efficient and sensitive technique for simultaneous determination of

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

chloramphenicol and thiamphenicol in honey. Anal Chim Acta 2009;1(632):80-5.

12. Morales F.J, Jiménez-Pérez S. Hydroxymethylfurfural determination in infant milk-based formula by micellar electrokinetic capillary chromatography. Food Chem 2001;4(72):525-531.

13. Edris AE, Murkovic M, Siegmund B. Application of headspace-solid-phase microextraction and HPLC for the analysis of the aroma volatile components of treacle and determination of its content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF). Food Chem 2007;5(104)1310-1314.

14. Ramezani H, Hosseini H, Kamankesh M, Ghasemzadeh-Mohammadi V, Mohammadi A. Rapid determination of nitrosamines in sausage and salami using microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. Eur Food Res Technol 2014:1-10.

15. Ferrer E, Alegria A, Farre R, Abellan P, Romero F. High-performance liquid chromatographic determination of furfural compounds in infant formulas. Changes during heat treatment and storage. J Chromatogr A 2002;947(1):85-95.

16. Rezaee M, Assadi Y, Milani Hosseini MR, 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.

17. Zang X-H, Wu Q-H, Zhang M-Y, Xi G-H, Wang Z. Developments of dispersive liquid-liquid microextraction technique. Chin J Anal Chem 2009;37(2):161-168.

18. Wu Q, Li Y, Wang C, Liu Z, Zang X, Zhou X. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of carbendazim and thiabendazole in environmental samples. Anal Chim Acta 2009;638(2):139-45.

19. Berijani S, Assadi Y, Anbia M, Milani Hosseini MR, Aghaee E. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-flame photometric detection: Very simple, rapid and sensitive method for the determination of organophosphorus pesticides in water. J Chromatogr A 2006;1123(1):1-9.

20. Bidari A, Hemmatkhah P, Jafarvand S, Hosseini MRM, Assadi Y. Selenium analysis in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction based on piazselenol formation and GC-ECD. Microchim Acta 2008;3(163):243-249.

21. Chaichi M, Mohammadi A, Hashemi M. Optimization and application of headspace liquid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry to determination of furanic compounds in coffee using response surface methodology. Microchem J 2012;108:46-52

22. 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.

23. 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. Anal Chim Acta 2013;804:104-110.

24. Ramezani H, Kamankesh M, Hosseini H, Ghasemzadeh-mohammadi V, Mohammadi A. Determination of nitrosamins compounds in sausage and salamies in Tehran market using Despersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. Iranian J Nutr Sci Food Technol 1(2014) 57-67 [in Persian].

25. Delavar M, Kamankesh M, Tavakoli R, Navabi A, Mohammadi A. Determination of patulin in apple juice samples using dispersive liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography and method optimization using response surface methodology. Iranian J Nutr Sci Food Technol 4 (2014), 145-154 [in Persian].

26. Brown SD, Sum ST, Despagne F, Lavine BK. Chemometrics. Anal Chem 1996;68(12):21-62.

27. Kokya TA, Farhadi K. Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction for the selective determination of trace amounts of palladium by flame atomic absorption spectroscopy. J hazard mater 2009;169(1):726-33.

28. Giordano L, Calabrese R, Davoli E, Rotilio D. Quantitative analysis of 2-furfural and 5-methylfurfural in different Italian vinegars by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry using isotope dilution. J Chromatogr A 2003;1017(1):141-9.

29. Teixidó E, Santos FJ, Puignou L, Galceran MT. Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A 2006;1135(1):85-90.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]

Determination of Furfural (F) and Hydroxylmethyl Furfural (HMF) in Baby Formulas Obtained from Tehran Market Using Dispersive Liquid-liquid Microextraction (DLLME) Followed by High-performance Liquid Chromatography

Madani-Tonekaboni M[1], Kamankesh M[2], Mortazavin Farsani AM[3], Ferdowsi R[4], Mohammadi A[5]*

1. *M.Sc 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. *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.*
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 19 Jul, 2014 **Accepted 8 Oct, 2014**

Background and Objectives: Heat treatment during a baby formula production causes to production of F and HMF. The toxicity of these compounds in trace amount has been demonstrated. The purpose of this study is the identification and optimization of dispersive liquid-liquid microextraction followed by high-performance liquid chromatography as a sensitive and accurate method for the determining the trace amounts of F and HMF in baby formula samples.

Materials and Methods: The effective parameters on the extraction of F and HMF were determined and optimized using response surface methodology. Central composite design was used for optimization. The figures of merit of the proposed method such as limit of detection, limit of quantification, repeatability, and linear rang were calculated. Extraction and determination of F and HMF in 22 samples taken from the drugstores in Tehran were carried out by the proposed method. Statistical method used in this study was a one-way ANOVA.

Results: The optimum amounts for effective parameters were determined. The figures of merit for the proposed method were at the ideal range. In the present study, the lowest and highest concentrations of F and HMF in baby formula samples were 0.18 and 20.77 $\mu g\ g^{-1}$ and 0.24 and 167.16 $\mu g\ g^{-1}$, respectively.

Conclusion: The proposed method (DLLME) was compared with other previous methods, and its high capability and reliability were demonstrated in determination of furfural and hydroxylmethyl furfural at very low concentrations in baby formula samples.

Keywords: Baby formula, Furfural and hydroxylmethyl furfural, Dispersive liquid-liquid microextraction, High-performance liquid chromatography, Central composite design

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-09-16]