

## کاربرد میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در یک لوله باریک برای استخراج و پیش تغلیظ ترکیب‌های آروماتیک بنزنی از نمونه های آب میوه قبل از اندازه گیری آن‌ها با کروماتوگرافی گازی مؤئینه

ماشالله رحمانی<sup>۱\*</sup> و مسعود کیخوائی<sup>۲</sup>

۱- استادیار شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

۲- دانشیار شیمی تجزیه، دانشکده علوم، دانشگاه سیستان و بلوچستان، زاهدان، ایران

دریافت: شهریور ۱۳۹۲، بازنگری: مهر ۱۳۹۲، پذیرش: آبان ۱۳۹۲

**چکیده:** در این مقاله یک روش ساده و کارآمد برای استخراج و پیش تغلیظ همزمان مقدارهای بسیار اندک بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و ایزومرهای زایلن در آب میوه‌ها، بر پایه حالت ویژه‌ای از فن میکرو استخراج مایع مایع پخشی ارائه شده است. این روش استخراج در یک لوله باریک و بلند که حاوی نمونه بود، انجام شد. پس از استخراج، ترکیب‌های فوق بدرون دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق شده و در مقایسه با منحنی درجه‌بندی محلول‌های استاندارد، تعیین مقدار شدند. اثر عامل‌های مؤثر بر میکرو استخراج مانند نوع و حجم حلال‌های پخشی و استخراجی، حجم نمونه، pH و قدرت یونی محلول آبی مورد بررسی قرار گرفته و بهینه شدند. تحت شرایط بهینه، برای روش پیشنهادی گستره خطی منحنی درجه‌بندی ۶ تا ۷۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ۰٫۹۶، مقدار انحراف استاندارد نسبی کمتر از ۴٫۵ درصد و بازیابی نسبی در گستره ۹۶٫۲ تا ۱۰۱٫۰ درصد به دست آمدند. حد تشخیص و حد تعیین مقدار روش به ترتیب در گستره ۱٫۵ تا ۲٫۲ و ۵٫۰ تا ۷٫۳ میکروگرم بر لیتر محاسبه شدند. عامل تغلیظ روش در گستره ۳۱ تا ۱۷۳ مرتبه به دست آمد. در انتها نیز برای بررسی کارایی روش پیشنهادی، این روش با موفقیت برای تعیین این ترکیب‌های در چندین نمونه آب میوه، به کار گرفته شد.

**واژه‌های کلیدی:** میکرواستخراج مایع-مایع پخشی در لوله باریک، BTEX، آب میوه

### مقدمه

می‌تواند از طریق خوردن (مصرف آب و مواد آلوده به BTEX)، استنشاق هوای آلوده و یا جذب از طریق پوست صورت پذیرد [۱]. از طرف دیگر، مقادیر کم بنزن می‌تواند در آب میوه‌های حاوی مواد نگهدارنده و مواد افزودنی تشکیل شود. نمک‌های بنزوات که به عنوان عامل ضد میکروبی در برخی از آب میوه‌ها استفاده می‌شوند، می‌توانند با آسکوربیک اسید (ویتامین ث) واکنش داده و در حضور نور و دمای بالا تولید بنزن کنند. آسکوربیک اسید (ویتامین ث) ترکیب طبیعی بسیاری از غذاهاست و بیشتر به غذاها

بنزن یکی از هیدروکربن‌های آروماتیک است که به‌عنوان ترکیبی سرطان‌زا معروف است. هر گاه در حلقه بنزنی اتم‌های هیدروژن با عامل‌های دیگر مانند گروه متیل یا اتیل استخلاف شود، ترکیب‌های جدیدی مثل تولوئن (متیل بنزن)، زایلن (دی متیل بنزن) و اتیل بنزن به وجود می‌آید که در اصلاح به این گروه ترکیب‌ها، ترکیب‌های آروماتیک بنزنی یا BTEX (بنزن، تولوئن، اتیل بنزن و زایلن) می‌گویند. تماس با ترکیب‌های BTEX

حلال استخراجی منجر به کسب عامل تغلیظ بالایی از آنالیت مورد نظر می‌شود. LPME روشی سریع، آسان و ارزان است و از آن جایی که نیاز به مقدار بسیار اندکی حلال آلی دارد، حداقل مواجهه با حلال‌های آلی در این روش وجود دارد. انواع متفاوتی از این فن از جمله LPME بر اساس فیبر تو خالی، LPME بر اساس فیبر در لوله، میکرواستخراج فضای فوقانی، میکرو استخراج با قطره شناور مستقیم و LPME با جامدسازی قطره شناور برای استخراج و پیش تغلیظ BTEX و دیگر ترکیب‌های آلی به کار گرفته شده‌اند [۶]. با این وجود، این روش‌ها، از داشتن مشکلاتی مانند زمان استخراج طولانی، ناپایداری میکرو قطره و در بعضی موارد از دقت پایین رنج می‌برند [۶]. افزون بر این روش‌ها، روش میکرو استخراج مایع مایع پخشی (DLLME) بر پایه تعمیم سطح تماس بین دو فاز مایع پیشنهاد شده که یک روش استخراج سریع و آسان است [۷].

برای اندازه‌گیری ترکیب‌های بنزنی در نوشیدنی‌ها به‌طور معمول از روش فضای فوقانی - کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی<sup>۱</sup> استفاده شده است [۸ تا ۱۰]. در یک پژوهش، از این روش برای بررسی احتمال تشکیل بنزن در نوشابه‌های حاوی آسکوربیک اسید (ویتامین ث)، در اثر واکنش این ترکیب با سدیم بنزوات استفاده شده است [۸]. پوک<sup>۲</sup> و همکارانش، این شیوه را برای بررسی احتمال تشکیل بنزن در برخی دیگر از نوشیدنی‌ها<sup>۳</sup> مورد استفاده قرار دادند [۹]. در یک پژوهش دیگر، روش رقیق‌سازی ایزوتوپی<sup>۴</sup> - فضای فوقانی - کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنجی جرمی، برای اندازه‌گیری بنزن در این نوشیدنی‌ها مورد استفاده قرار گرفته است [۱۰]. در مقاله پیش رو یک روش ساده و مؤثر برای استخراج و پیش تغلیظ همزمان و سریع مقادیر بسیار اندک BTEX در آب میوه، بر پایه میکرو استخراج مایع مایع پخشی، پیشنهاد شده است. در این فن، استخراج آنالیت‌ها در یک لوله باریک و بلند که حاوی نمونه آبی است، انجام می‌شود [۱۱].

با اعمال این راه‌کار ساده مرحله سانتریفوژ که یک مرحله

و نوشیدنی‌ها به عنوان مکمل ویتامین یا به عنوان پاد اکسنده افزوده می‌شود. بنزن هم‌چنین می‌تواند از طریق مواد بسته‌بندی متفاوت وارد نوشیدنی‌ها شود [۲].

تماس مزمن با ترکیب‌های تشکیل‌دهنده BTEX، موجب اثرات سویی بر روی کبد، قلب، کلیه، ریه و سامانه عصبی در انسان می‌شود [۳]. از آن جایی که از ترکیب‌های BTEX به‌طور وسیعی در صنایع گوناگون استفاده می‌شود و با توجه به سمیت بالای این ترکیب‌ها، دانستن مقدار آن حتی در غلظت‌های ناچیز حائز اهمیت است. جداسازی و اندازه‌گیری ترکیب‌های BTEX به‌طور معمول با استفاده از کروماتوگرافی گازی مجهز به آشکارساز یونش شعله‌ای انجام می‌شود. از آن جایی که بافت<sup>۱</sup> نمونه‌ها بیشتر پیچیده بوده و مقدارهایی از این آنالیت‌ها که در نمونه‌ها هستند در گستره‌ی حد تشخیص دستگاه‌ها نیست، آماده‌سازی نمونه پیش از ورود آن به دستگاه، نقش مهمی در تعیین و اندازه‌گیری این گونه‌ها دارد. استخراج مایع-مایع (LLE)<sup>۲</sup> و استخراج فاز جامد (SPE)<sup>۳</sup> از جمله روش‌هایی هستند که به‌طور گسترده مورد قبول واقع شده‌اند و برای استخراج و پیش تغلیظ این ترکیب‌ها به کار می‌روند. با وجود این، LLE وقت گیر و خسته کننده است و نیاز به مقادیر زیادی حلال‌های آلی گران قیمت و به‌طور عمده سمی دارد. SPE نسبت به LLE مقدار بسیار کمتری حلال استفاده می‌کند، اما نیاز به آماده‌سازی ستون دارد و یک روش به‌نسبت گران قیمت است. راه‌کار دیگر استفاده از روش میکرواستخراج فاز جامد (SPME)<sup>۴</sup> است [۴] که برای تعیین BTEX و دیگر ترکیب‌های آلی به کار گرفته شد. با وجود این SPME نیز دارای مشکلاتی از جمله هزینه بالا، شکنندگی و کاهش کارایی فیبر با گذشت زمان است [۵].

در سال‌های اخیر میکرواستخراج فاز مایع (LPME)<sup>۵</sup> به عنوان جانشینی کارآمد برای روش‌های سنتی آماده‌سازی نمونه و استخراج ترکیب‌های آلی معرفی شده است. LPME یک روش استخراج تک مرحله‌ای است که بالا بودن نسبت حجم نمونه به

1. Matrix      2. Liquid-liquid extraction (LLE)      3. Solid phase extraction (SPE)      4. Solid phase microextraction (SPME)  
5. Liquid phase microextraction (LPME)      6. Dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME)  
7. Headspace-gas chromatography/mass spectrometry (HS-GC/MS)      8. Poucke      9. Soft drinks      10. Isotope dilution

۵) درصد فنیل متیل پلی سیلوکسان، قطر داخلی ۰٫۲۵ میلی متر، طول ۳۰ متر و ضخامت فیلم فاز ساکن ۰٫۳ میکرومتر) ساخت شرکت شیمادزو ژاپن، انجام گرفت. تزریق در حالت غیر انشعابی<sup>۱</sup> انجام شد و گاز نیترژن با سرعت جریان ثابت ۱٫۰ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت. برنامه ریزی گرمایی ستون به این صورت بود که ستون از دمای اولیه ۶۰ درجه سانتی گراد (بدون توقف در این دما) با سرعت ۳ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای ۸۰ درجه سانتی گراد رسیده و سپس با سرعت ۳۰ درجه سانتی گراد در دقیقه به دمای نهایی ۲۳۰ درجه سانتی گراد می رسد و به مدت ۲ دقیقه در این دما باقی می ماند. دمای محل تزریق و آشکارساز به ترتیب بر روی ۲۲۰ و ۲۵۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد.

#### چگونگی انجام فرایند میکرواستخراج

سامانه میکرواستخراج پیشنهادی بسیار ساده بوده و تنها نیازمند یک لوله شیشه ای بلند و باریک از جنس پیرکس (با ابعاد میلی متر ۵× سانتی متر ۱۰۰) به عنوان واحد استخراج کننده و یک سرنگ شیشه ای ۲٫۰ میلی لیتری برای تزریق مخلوط استخراج کننده/پخشی است. یک انتهای این لوله با یک سپتوم پلاستیکی مسدود شد (شکل ۱). در ابتدا حجم مشخصی از محلول استاندارد یا نمونه

وقت گیر در استخراج است حذف می شود و هم چنین امکان استفاده از حلال های با چگالی کمتر از آب به عنوان حلال استخراج کننده فراهم می شود و به این ترتیب قابلیت اجرای DLLME را بر روی دامنه بزرگ تری از حلال های استخراج کننده گسترش می دهد.

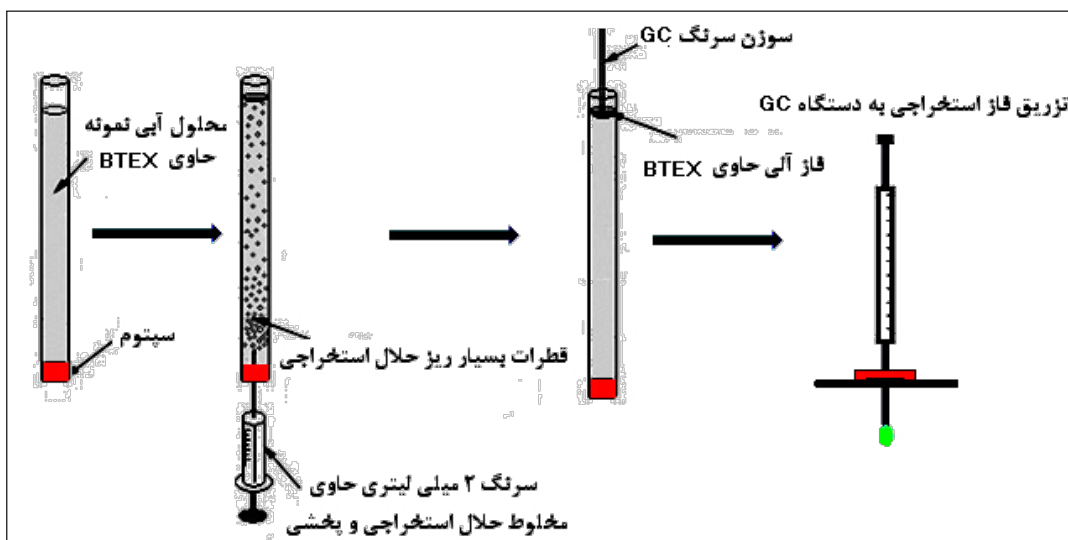
#### بخش تجربی

##### مواد و روش ها

همه مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از درجه خلوص تجزیه ای برخوردار بوده و از شرکت مرک آلمان خریداری شدند و بدون آماده سازی قبلی مورد استفاده قرار گرفتند. محلول های استاندارد مادر ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر از هر کدام از ترکیب های BTEX در متانول آماده شد. محلول های استاندارد BTEX در متانول هر هفته به صورت تازه تهیه و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری می شد.

##### دستگاه ها

جداسازی و شناسایی ترکیب های BTEX با استفاده از یک دستگاه کروماتوگرافی گازی واریان مدل ۳۴۰۰ (ساخت آمریکا) مجهز به آشکارساز یونش شعله ای و ستون موئینه CBP-5



شکل ۱ شمایی از مراحل میکرواستخراج و تغلیظ نمونه و انتقال به دستگاه GC

#### 1. Splitless mode

باید دارای حلالیت پایین در آب، چگالی کمتر از آب و توانایی استخراج بالای آنالیت‌های مورد نظر باشد. افزون بر این ویژگی‌ها، میزان سمیت پایین و رفتار کروماتوگرافی مناسب (یعنی پیک حلال با پیک آنالیت همپوشانی نکند، حلال به راحتی از ستون کروماتوگرافی خارج شده و بهترین جداسازی اجزا فراهم شود) از دیگر ویژگی‌های مطلوب برای حلال استخراجی هستند. در این پژوهش، برای انتخاب حلال استخراجی مناسب، در شرایط یکسان، حلال‌های متفاوتی مورد بررسی قرار گرفتند که از بین آن‌ها ۴ حلال هگزان، هپتان، اکتانول و نونانول به دلیل کارایی استخراجی بهتر، انتخاب و با هم مقایسه شدند. بدین منظور ۵۰ میکرو لیتر از هر حلال به صورت جداگانه به همراه ۱۵۰۰ میکرو لیتر استون (حلال پخشی) برای استخراج ۱۰ میلی لیتر از نمونه آبی حاوی ۵۰ میکروگرم بر لیتر BTEX به کار گرفته شد. براساس نتیجه‌های آزمایش، بازده استخراج ترکیب‌های BTEX با نونانول بالاتر از بقیه بود. علت این موضوع را می‌توان ضریب توزیع بالاتر ترکیب‌های مورد نظر در این حلال دانست، افزون بر این، حلالیت نونانول در آب نسبت به سایر حلال‌ها کمتر است. بنابراین، در ادامه پژوهش‌ها، نونانول به عنوان حلال استخراجی به کار رفت.

#### انتخاب حلال پخشی

در فرایند DLLME، حلال پخشی باید هم در حلال استخراجی (فاز آلی) و هم در محلول نمونه (فاز آبی) قابل امتزاج باشد. لازم است که حلال استخراجی به صورت قطرات بسیار ریز در حلال آبی پراکنده شود تا سطح تماس زیادی بین دو فاز به وجود آید و به این ترتیب امکان مهاجرت سریع آنالیت‌ها از محیط آبی به فاز آلی فراهم شود، که این شرایط با استفاده از حلال پخشی مناسب تحقق می‌یابد. بنابراین، حلال‌های متداول استون، متانول و اتانول مورد آزمون قرار گرفتند. اثر این حلال‌ها بر روی بازده استخراج DLLME با استفاده از ۱۵۰۰ میکرو لیتر از هر حلال به همراه ۵۰ میکرو لیتر نونانول مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین بازده استخراج با استفاده از استون به عنوان حلال پخشی به دست آمد (شکل ۲). بنابراین، استون برای آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.

آب میوه در درون لوله ریخته شده، سپس مخلوط حلال استخراجی و پخشی که حاوی ۱٫۸ میلی لیتر استون (حلال پخشی) و ۷۰ میکرولیتر نونانول (حلال استخراجی) است، با سرنگ ۲٫۰ میلی لیتری از طریق سپتوم لاستیکی تعبیه شده در قسمت پایینی لوله، در مدت زمان ۳۰ ثانیه به داخل محلول آبی تزریق شد. بلافاصله پس از تزریق یک محلول ابری شامل قطرات بسیار ریز حلال استخراجی در قسمت پایینی لوله باریک شکل گرفت. استون به سرعت در آب حل شد و قطرات بسیار ریز حلال استخراج کننده به دلیل چگالی کمتر از آب، به سمت بالای لوله حرکت کرد. در طول حرکت قطرات ریز حلال ترکیب‌های BTEX به درون آن استخراج می‌شوند. در عرض کمتر از یک دقیقه به تقریب تمامی قطرات به بالای لوله رسیدند و به علت سبک تر بودن به صورت یک قطره آلی در سطح محلول آبی ظاهر شدند. سرانجام قسمتی از فاز آلی که شامل ترکیب‌های BTEX است به راحتی با سرنگ GC برداشته و مقدار ۱٫۰ میکرولیتر آن به دستگاه GC-FID تزریق شد. خلاصه مراحل میکرو استخراج در شکل ۱ نشان داده شده است.

#### نتیجه‌ها و بحث

به منظور به دست آوردن بیشترین بازده استخراج، عامل‌های تجربی مهمی که می‌توانند قابلیت استخراج مؤثر را داشته باشند (مانند نوع و حجم حلال استخراجی، حجم نمونه و غیره)، به طور دقیق مورد بررسی قرار گرفتند. برای ساده‌سازی مراحل بهینه‌سازی، از روش تک عاملی استفاده شد. برای این منظور، یک سری آزمایش‌ها طراحی شدند و علامت تجزیه‌ای ترکیب‌های BTEX برای بررسی کارایی استخراج و تعیین بهترین شرایط مورد استفاده قرار گرفت. تمام بهینه‌سازی‌ها بر روی نمونه آبی حاوی ۵۰ میکروگرم بر لیتر BTEX انجام گرفت و هر آزمایش حداقل ۳ بار تکرار شد.

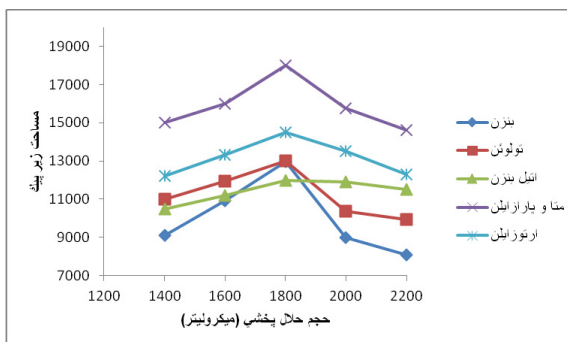
#### انتخاب حلال استخراجی

انتخاب حلال استخراجی مناسب اهمیت زیادی در فرایند DLLME دارد. یک حلال استخراجی مناسب برای این روش

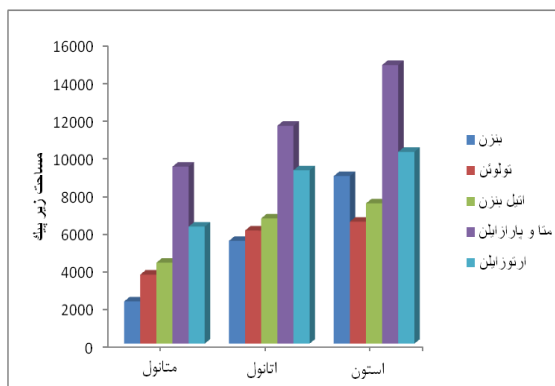
DLLME در نظر گرفته شود. تغییر حجم حلال پخشی می‌تواند منجر به تغییراتی از جمله تغییر در حجم فاز آلی جمع آوری شده، اندازه قطرات و قطبیت فاز آبی شود. تمامی این عامل‌ها بر بازده میکرواستخراج مؤثرند. از این رو بررسی و بهینه‌سازی اثر حجم حلال پخشی ضروری است. برای این منظور، حجم‌های متفاوتی از استون (۱۴۰۰ تا ۲۲۰۰ میکرولیتر) حاوی ۴۰ میکرولیتر نونانول (حلال استخراجی) مورد آزمایش قرار گرفتند. شکل ۴ تأثیر حجم حلال پخشی را بر سطوح زیر پیک به دست آمده نشان می‌دهد. در حجم‌های کمتر از ۱۴۰۰ میکرولیتر، فرایند DLLME به خوبی اجرا نمی‌شد (به دلیل تشکیل قطرات درشت). با افزایش حجم حلال پخشی از ۱۴۰۰ تا ۱۸۰۰ میکرولیتر سیگنال تجزیه‌ای افزایش یافت و پس از آن کاهش سیگنال مشاهده شد. دلیل این موضوع، آن است که با افزایش حجم حلال پخشی، عمل پخش حلال استخراجی در محیط آبی نمونه بهتر انجام می‌شود، که منجر به افزایش بازده استخراج و در نتیجه افزایش علامت تجزیه‌ای می‌شود. از طرفی، وقتی حجم حلال پخشی از یک حد بالاتر می‌رود، مقداری از حلال استخراجی در آب محلول می‌شود و در نتیجه بازده استخراج کاهش می‌یابد. بنابراین، در ادامه پژوهش‌ها، ۱۸۰۰ میکرولیتر استون به عنوان حجم بهینه حلال پخشی مورد استفاده قرار گرفت.

#### بهینه‌سازی حجم نمونه

اثر افزایش حجم نمونه بر کارایی استخراج، با افزایش طول لوله در گستره ۴۵ تا ۱۰۰ سانتی‌متر، ضمن ثابت نگه داشتن قطر



شکل ۴ اثر حجم حلال پخشی بر بازده استخراج BTEX به دست آمده از کروماتوگرافی



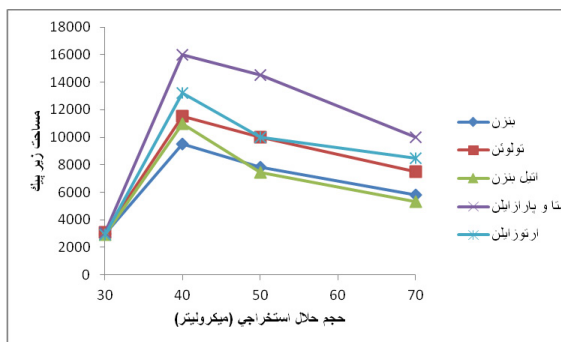
شکل ۲ اثر نوع حلال پخشی بر بازده استخراج BTEX به دست آمده از کروماتوگرافی

#### اثر حجم حلال استخراجی

حجم حلال استخراجی استفاده شده، می‌تواند بر حجم فاز آلی جمع آوری شده در بالای محلول آبی، تکرار پذیری نتیجه‌ها و بازده استخراج مؤثر باشد. لذا حجم حلال استخراجی در گستره ۳۰ تا ۷۰ میکرولیتر از نونانول مورد مطالعه قرار گرفت. همان طوری که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، با افزایش حجم حلال استخراجی از ۳۰ تا ۴۰ میکرولیتر، علامت تجزیه‌ای افزایش یافت و در حجم‌های بالاتر از ۴۰ میکرولیتر سطح زیر پیک‌ها در کروماتوگرام با کاهش مواجه شد. از این رو تصمیم گرفته شد تا در تمامی آزمایش‌های بعدی حجم ۴۰ میکرولیتر نونانول به عنوان حجم بهینه حلال استخراجی مورد استفاده قرار گیرد.

#### اثر حجم حلال پخشی

حجم حلال پخشی یکی از عامل‌های مهم است که باید در



شکل ۳ اثر حجم حلال استخراجی بر بازده استخراج BTEX به دست آمده از کروماتوگرافی

و در نتیجه سطح زیر پیک کاهش می‌یابد. از طرف دیگر، نمک در نمونه‌های آب میوه یافت می‌شود. بنابراین برای یکسان‌سازی بافت نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد، در ادامه کار پژوهشی، غلظت ۰٫۲ درصد وزنی/ حجمی سدیم کلرید، به عنوان مقدار بهینه نمک افزوده شده انتخاب شد.

#### اثر pH محلول

به منظور بررسی اثر pH در کارایی روش میکرو استخراج ارایه شده، تنظیم pH محلول در گستره ۴ تا ۹ مورد بررسی قرار گرفت (ابتدا با استفاده از بافر استاتی و سپس بافر آمونیایی). شکل ۶ تغییرات پاسخ تجزیه‌ای را بر حسب pH محلول نشان می‌دهد. همان طوری که در شکل مشاهده می‌شود، در pH برابر با ۷، بهترین کارایی استخراج به دست آمد. بنابراین، در این کار پژوهشی، تنظیم pH محلول ضروری نیست، زیرا اکثر آب میوه‌ها دارای pH خنثی یا نزدیک به آن هستند.

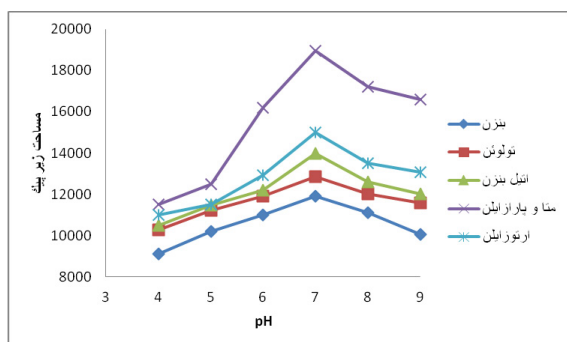
#### عوامل‌های تجزیه‌ای روش میکرو استخراج پیشنهادی

برای بررسی میزان اعتبار روش میکرو استخراج پیشنهادی، عوامل‌های تجزیه‌ای مانند عامل تغلیظ، حد تشخیص و حد تعیین مقدار، مقدار بازیافت نسبی، تکرارپذیری و گستره دینامیکی مورد مطالعه قرار گرفتند. برای رسم منحنی درجه‌بندی برای روش فوق، محلول‌های استاندارد BTEX در گستره غلظتی ۱ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر ساخته شد. سپس در شرایط بهینه شده میکرو

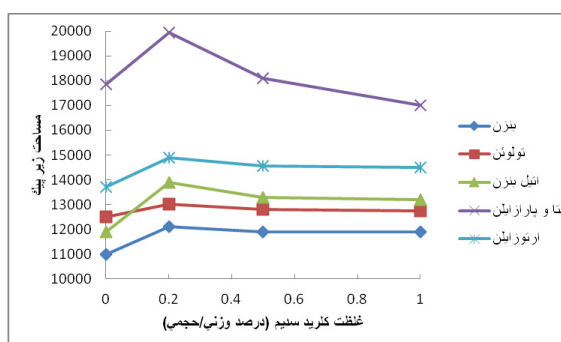
داخلی لوله (۵ میلی‌متر)، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه‌ها نشان دادند که با افزایش حجم نمونه (طول لوله حاوی نمونه)، حساسیت اندازه‌گیری به طور پیوسته افزایش یافته و در نتیجه کارایی استخراج زیادتر می‌شد. لازم به ذکر است که لوله‌هایی با طول بزرگ‌تر از ۱۰۰ سانتی‌متر، به دلیل مشکلات جابه‌جایی بررسی نشد. بنابراین، در ادامه پژوهش‌ها، لوله با طول ۱۰۰ سانتی‌متر و قطر داخلی ۵ میلی‌متر، که گنجایش ۱۸ میلی‌لیتر از حجم نمونه را داشت، مورد استفاده قرار گرفت.

#### اثر نمک

افزایش نمک اثرهای متفاوتی بر کارایی استخراج ایفا می‌کند به این معنی که ممکن است استخراج را بهبود بخشد، از میزان استخراج بکاهد یا بی‌تأثیر باشد [۱۲ تا ۱۵]. شکل ۵ تغییرات پاسخ تجزیه‌ای را بر حسب غلظت سدیم کلرید در گستره غلظتی ۰٫۰ تا ۱٫۰ درصد وزنی/ حجمی این نمک نشان می‌دهد (گستره‌های بالاتر اثری در بهبود بازده استخراج نداشتند، لذا در شکل گنجانده نشده‌اند). همان طوری که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، افزایش غلظت نمک تا ۰٫۲ درصد وزنی/ حجمی باعث افزایش کارایی استخراج می‌شود و پس از آن استخراج کاهش می‌یابد. کاهش پاسخ تجزیه‌ای ممکن است به این دلیل باشد که پس از یک غلظت مشخص از نمک، ویژگی‌های فیزیکی لایه استخراج، در سطح مشترک فاز آبی و آلی تغییر می‌کند و سرعت نفوذ آنالیت به داخل حلال استخراجی کم می‌شود. بنابراین، کارایی استخراج



شکل ۶ اثر pH محلول بر بازده استخراج BTEX به دست آمده از کروماتوگرافی



شکل ۵ اثر نمک بر بازده استخراج BTEX به دست آمده از کروماتوگرافی

با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر آغشته شدند. بازیابی نسبی به صورت نسبت پاسخ تجزیه‌ای در نمونه حقیقی و نمونه آب مقطر، که هر دو با مقدار یکسان آنالیت آغشته شده بودند، محاسبه شد. نتیجه‌ها در جدول ۱ گردآوری شده‌اند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بازیابی خوبی در دامنه ۹۶٫۲ تا ۱۰۱٫۰ درصد به دست آمد که نشان از اثر اندک بافت نمونه بر کارایی روش DLLME پیشنهادی دارد.

### نتیجه گیری

در این مقاله یک روش جدید شامل استفاده موفقیت آمیز از DLLME در یک لوله باریک برای پیش تغلیظ و استخراج مقادیر بسیار کم ترکیب‌های BTEX در نمونه‌های آب میوه معرفی شد. زمان صرف شده برای آماده‌سازی نمونه بدون تأثیر مخرب بر حساسیت روش، حداقل مقدار بود. افزون بر این، از مصرف بیش از اندازه حلال‌های آلی سمی مانند حلال‌های آلی کلره (که از حلال‌های رایج در روش DLLME است) اجتناب شد. همچنین، برخلاف روش‌های مرسوم DLLME، در روش ارایه شده، با استفاده از لوله باریک به عنوان واحد استخراج کننده، به عنوان یک راه کار ساده، می‌توان افزون بر حذف مرحله وقت‌گیر ساترنیفوژ، از حلال‌های سبک‌تر از آب نیز به عنوان حلال استخراجی استفاده کرد و به این ترتیب قابلیت DLLME را در استفاده از انواع متفاوت حلال‌ها افزایش داد. حد تشخیص خوب و گستره خطی بودن به آسانی در این روش به دست می‌آید. این

استخراج، عمل استخراج بر روی این محلول‌ها صورت گرفت و در نهایت توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری شد. گستره خطی منحنی درجه‌بندی برای ترکیب‌های BTEX در گستره ۶ تا ۷۰۰ میکروگرم بر لیتر با ضریب همبستگی ( $R^2$ ) ۰٫۹۶۱ تا ۰٫۹۹۷ قرار گرفت. مقدارهای حد تشخیص<sup>۱</sup> و حد تعیین مقدار<sup>۲</sup> برای اندازه‌گیری ترکیب‌های BTEX به روش پیشنهادی، به ترتیب در گستره ۱٫۵ تا ۲٫۲ و ۵٫۰ تا ۷٫۳ میکروگرم بر لیتر به دست آمد [۱۶]. برای محاسبه تکرار پذیری روش، عمل استخراج در شرایط بهینه شده، ۵ بار بر روی نمونه آبی که به وسیله BTEX با غلظت ۵۰ میکرو گرم بر لیتر آغشته شده بود، انجام گرفت. مقدار انحراف استاندارد نسبی<sup>۳</sup> بین ۱٫۵ تا ۴٫۵ درصد به دست آمد. برای محاسبه عامل تغلیظ، نسبت شیب منحنی درجه‌بندی به دست آمده از روش میکرو استخراج ارایه شده به مقدار شیب منحنی درجه‌بندی بدون میکرو استخراج، مد نظر قرار گرفت و عامل تغلیظ<sup>۴</sup> ترکیب‌های BTEX در گستره ۳۱ تا ۱۷۳ محاسبه شد. ارقام شایستگی این روش در جدول ۱ درج شده است.

### اندازه‌گیری نمونه‌های حقیقی

برای بررسی کارایی روش DLLME ارایه شده، از این روش برای اندازه‌گیری ترکیب‌های BTEX در آب میوه استفاده شد. اندازه‌گیری مستقیم نمونه‌ها هیچ ترکیب BTEX قابل اندازه‌گیری را نشان نداد. بنابراین، برای ارزیابی اثر بافت نمونه بر کارایی استخراج، نمونه‌های آب میوه به وسیله ترکیب‌های BTEX

جدول ۱ ارقام شایستگی روش DLLME پیشنهادی برای اندازه‌گیری ترکیب‌های BTEX

آنالیت	فاکتور تغلیظ	انحراف استاندارد نسبی (درصد)	گستره‌ی خطی منحنی درجه‌بندی (میکروگرم بر لیتر)	ضریب همبستگی در گستره‌ی خطی منحنی درجه‌بندی	حد تعیین مقدار (میکروگرم بر لیتر)	حد تشخیص (میکروگرم بر لیتر)	درصد بازیابی*
بنزن	۱۷۳	۴٫۰	۱۵-۵۰۰	۰٫۹۹۵	۷٫۳	۲٫۲	۹۶٫۲
تولون	۳۵	۱٫۵	۶-۷۰۰	۰٫۹۶۱	۶٫۳	۱٫۹	۹۷٫۴
اتیل بنزن	۳۱	۳٫۰	۶-۵۰۰	۰٫۹۹۶	۶٫۷	۲٫۰	۹۶٫۳
متا و پارازیلین	۵۰	۴٫۵	۱۵-۷۰۰	۰٫۹۶۷	۵٫۰	۱٫۵	۱۰۱٫۰
ارتوزایلین	۴۴	۲٫۹	۱۵-۷۰۰	۰٫۹۹۶	۵٫۳	۱٫۶	۹۷٫۷

\* آغشته شده به وسیله ترکیب‌های BTEX با غلظت ۵۰ میکروگرم بر لیتر

1. Limit of detections, S/N = 3.      2. Limit of quantification, S/N = 10.      3. Relative standard deviation      4. Enrichment factor

پیچیده استفاده نمی‌شود، امکان تجزیه نمونه‌ها را در بیشتر آزمایشگاه‌های تجزیه‌ای فراهم می‌کند. این روش می‌تواند برای اندازه‌گیری برخی دیگر از ترکیب‌ها در بافت نمونه‌های متفاوت مورد استفاده قرار گیرد.

روش دارای چندین مزیت مهم است؛ از جمله سریع بودن، ارزان بودن، استفاده از حجم کم حلال‌های مخرب محیط زیست و نیاز به تجهیزات ساده که به راحتی در هر آزمایشگاهی در دسترس است. با توجه به این حقیقت که در این روش از دستگاه‌های

## مراجع

- [1] Holcomb, L.C.; Seabrook, B.S.; *Indoor Environ.*, 4, 7-26, 1995.
- [2] Medeiros-Vinci, R.; Jacxsens, L.; Van Loco, J.; *Chemosphere.*, 88, 1001-1006, 2012.
- [3] Alerici, R.M.; Zamproni, G.C.; Poppi, R.J.; Eberlin, M.N.; *Analyst.*, 127, 230-235, 2002.
- [4] Arthur, C.L.; Pawliszyn, J.; *Anal. Chem.*, 62, 2145-2148, 1990.
- [5] Moradi, M.; Kaykhaii, M.; Ghiasvand, A. R.; Shadabi, S.; Salehnia, A.R.; *Phytochem. Anal.*, 23, 379-386, 2012.
- [6] Sarafraz-Yazdi, A.; Amiri, A.H.; *Trends Anal. Chem.*, 29, 1-14, 2010.
- [7] Rezaee, M.; Assadi, Y.; Hosseini, M.R.M.; *J. Chromatogr A.*, 1116, 1-9, 2006
- [8] Ju, H. K.; Park, J.H.; Kwon, S.W.; *Biomed. Chromatogr.*, 22, 900-905, 2008.
- [9] Poucke, C.V.; Detavernier, C.; *J. Agric. Food Chem.*, 56, 4504-4510, 2008.
- [10] Cao, X. L.; Casey, V.; *Food Addit. Contam.*, 25, 401-405, 2008.
- [11] Farajzadeh, M.A.; Djozan, D.; Khorram, P.; *Anal. Chim. Acta.*, 713, 70-76, 2012.
- [12] Kaykhaii, M.; Moradi, M.; *J. Chromatogr. Sci.*, 46, 413-419, 2008.
- [13] Psillakis, E.; Kalogerakis, N.; *Trends Anal. Chem.*, 21, 53-57, 2002.
- [14] Hou, L.; Lee, H.K.; *J. Chromatogr. A.*, 1038, 37-44, 2004.
- [15] Zhao, L.; Zhu, L.; Lee, H.K.; *J. Chromatogr. A.*, 963, 239-246, 2002.
- [16] Currie, L.A.; *Anal. Chim. Acta.*, 391, 105-126, 1999.



## Determination of BTEX compounds in fruit juices by gas chromatography after their extraction and preconcentration by narrow-bore tube dispersive liquid–liquid microextraction

M. Rahmani<sup>1,\*</sup> and M. Kaykhai<sup>2</sup>

1. Assistant Prof. of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, The University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran
2. Associate Prof. of Analytical Chemistry, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, The University of Sistan and Baluchestan, Zahedan, Iran

Received: September 2013, Revised: October 2013, Accepted: November 2013

**Abstract:** In this paper a simple and efficient technique based on a special format of dispersive liquid–liquid microextraction for extraction/preconcentration of benzene, ethyl benzene, toluene, and xylene isomers (BTEX) from juices has been developed. The extraction method was performed in a narrow-bore tube containing the sample. The extract was then injected into a gas chromatography instrument and quantified against standard solutions. The effect of parameters influencing extraction, such as type and volume of disperser and extraction solvents, sample volume, pH, and ionic strength of the sample solution were evaluated and optimized. Under optimized conditions, the proposed technique showed a linear calibration curve between 6 to 700  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  with a correlation coefficient of 0.96; relative standard deviation less than 4.5%, and recoveries between 96.2 to 101.0 %. Limit of detection and limit of quantification were calculated to be 1.5-2.2 and 5.0-7.3  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively. Enrichment factors were in the range 31-173 folds. Finally in order to evaluate the applicability of the suggested method, it was successfully applied for the analysis of these compounds in a few fruit juices.

**Keywords:** Narrow-bore dispersive liquid liquid microextraction, BTEX, Juice