DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502 Published by Vesnu Publications

Journal of Health System Research Vol. 19, No. 3, Autumn

Received: 14.03.2023 Accepted: 23.07.2023 Published: 07.10.2023

Development of Salting Out Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for Measurement of Bisphenol A in Drinking Water and Urban Treated Wastewater Samples by High-Performance Liquid Chromatography: Optimization by the Response Surface Methodology Based on the Box-Behnken Design

Farideh Roustaei[1], Majid Baghdadi[2], Azam Marjani[3], Mohammad Alimoradi[4]

Original Article

Abstract

Background: Bisphenol A is known as one of the emerging micropollutants with harmful effects on human health. This pollutant enters the environment through the discharge of municipal wastewater treatment plants. In this research, the salting out dispersive liquid-liquid microextraction method was investigated for pre-concentration of bisphenol A in drinking water and urban sewage effluent samples. Due to the high enrichment factor, this method enables the measurement of small amounts of bisphenol A in the examined samples.

Methods: In this method, bisphenol A forms a colored hydrophobic derivative of antipyrine with 4-aminoantipyrine in the presence of potassium hexacyanoferrate. In order to extract the resulting derivative, 250 µl of 2-phenoxyethanol was dissolved in 10 ml of the sample. Then, by adding 0.7 g of sodium chloride to the sample, fine droplets of extracting solvent were formed in the sample and the solution became cloudy. After centrifugation, the extraction phase containing bisphenol A derivative settled at the bottom of the test tube, and then, 20 µl of methanol was added in order to reduce its viscosity. The measurement was performed by a high-performance liquid chromatography at a wavelength of 480 nm. To optimize the process, the effect of the amount of 4-aminoantipyrine, potassium hexacyanoferrate, and buffer was investigated. Then, the figures of merit of the method were obtained and the performance of the method was evaluated on drinking water and urban sewage effluent samples.

Findings: Under optimal conditions (2-phenoxyethanol: 250 µl, 4-aminoantipyrine 1%: 100 µl, potassium hexacyanoferrate 10%: 80 µl, buffer pH 10: 10 µl, and sodium chloride: 0.7 g per 10 ml of sample), the enrichment factor of 106, the detection limit of 0.1 ng ml^{-1}, the limit of quantification of 0.3 ng ml^{-1}, and the relative standard deviation (RSD) of 3.2% were obtained. Meanwhile, the correlation coefficient (CC) of the calibration curve was equal to 0.9985. Moreover, the results of the analysis of water and urban sewage effluent samples showed that the developed method had suitable performance for the measurement of bisphenol A in real matrix samples.

Conclusion: Considering the low detection limit, high enrichment factor, and proper performance in real samples, this method can be introduced as a sensitive and efficient method for the measurement of very low amounts of bisphenol A in water and wastewater samples.

Keywords: Water; Wastewater; Liquid phase microextraction; Bisphenol A; Measurement; Liquid chromatography

Citation: Roustaei F, Baghdadi M, Marjani A, Alimoradi M. **Development of Salting Out Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for Measurement of Bisphenol A in Drinking Water and Urban Treated Wastewater Samples by High-Performance Liquid Chromatography: Optimization by the Response Surface Methodology Based on the Box-Behnken Design.** J Health Syst Res 2023; 19(3): 183-91.

1- PhD Student, Department of Analytical Chemistry, School of Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
2- Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, School of Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak AND Department of Enviromental Engineering, School of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Professor, Department of Inorganic Chemistry, School of Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
4- Professor, Department of Analytical Chemistry, School of Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak, Iran
Corresponding Author: Majid Baghdadi; Associate Professor, Department of Analytical Chemistry, School of Sciences, Arak Branch, Islamic Azad University, Arak AND Department of Enviromental Engineering, School of Environment, University of Tehran, Tehran, Iran
Email: m.baghdadi@ut.ac.ir

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502 Published by Vesnu Publications

توسعه ریزاستخراج مایع– مایع پخشی بر اساس اثر بیرون‌رانی نمک جهت اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب شرب و پساب فاضلاب شهری با استفاده از کروماتوگرافی مایع با راندمان بالا: بهینه‌سازی توسط روش سطح پاسخ بر مبنای طرح Box-Behnken

فریده روستائی[1]، مجید بغدادی[2]، اعظم مرجانی[3]، محمد علیمرادی[4]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بیس‌فنل آ یکی از ریزآلاینده‌های نوظهور شناخته شده می‌باشد که اثرات مخربی بر سلامت انسان دارد. این آلاینده از طریق تخلیه پساب تصفیه‌خانه‌های فاضلاب شهری به محیط زیست راه پیدا می‌کند. در پژوهش حاضر، روش ریزاستخراج مایع- مایع‌پخشی بر پایه اثر بیرون‌رانی نمک (Salting out assisted liquid-liquid microextraction یا SA-LLME) جهت پیش‌تغلیظ بیس‌فنل‌آ در نمونه‌های آب شرب و پساب فاضلاب شهری مورد بررسی قرار گرفت. این روش به دلیل فاکتور تغلیظ بالا، اندازه‌گیری مقادیر ناچیز بیس‌فنل آ را در نمونه‌های مورد بررسی امکان‌پذیر می‌کند.

روش‌ها: در این روش، بیس‌فنل آ با ۴-آمینوآنتی‌پیرین در حضور پتاسیم هگزاسیانوفرات یک مشتق آب‌گریز رنگی آنتی‌پیرین تشکیل می‌دهد. جهت استخراج مشتق حاصل شده، ۲۵۰ میکرولیتر از ۲-فنوکسی اتانول در ۱۰ میلی‌لیتر نمونه حل گردید. سپس با اضافه کردن ۰/۷ گرم کلرید سدیم به نمونه، قطرات ریزحلال استخراج‌کننده در نمونه تشکیل و محلول ابری شد. بعد از سانتریفوژ، فاز استخراج‌کننده حاوی مشتق بیس‌فنل آ در ته لوله آزمایش ته‌نشین و سپس به منظور کاهش ویسکوزیته، به آن ۲۰ میکرولیتر متانول اضافه گردید. اندازه‌گیری به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با راندمان بالا (High-performance liquid chromatography یا HPLC) در طول موج ۴۸۰ نانومترانجام شد. برای بهینه‌سازی فرایند، اثر مقدار ۴-آمینوآنتی پیرین، پتاسیم هگزاسیانوفرات، سدیم کلرید و بافر مورد بررسی قرار گرفت. سپس ارقام شایستگی روش به دست آمد و عملکرد روش روی نمونه‌های آب شرب و پساب فاضلاب شهری ارزیابی گردید.

یافته‌ها: تحت شرایط بهینه (۲-فنوکسی اتانول: ۲۵۰ میکرولیتر، ۴-آمینوآنتی‌پیرین ۱ درصد: ۱۰۰ میکرولیتر، پتاسیم هگزاسیانوفرات ۱۰ درصد: ۸۰ میکرولیتر و بافر ۱۰ = pH: ۱۰ میکرولیتر و سدیم کلرید: ۰/۷ گرم بر ۱۰ میلی‌لیتر نمونه)، فاکتور تغلیظ ۱۰۶ و حد تشخیص (Limit of detection یا LOD) ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر، حد کمی‌سازی ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر و انحراف استاندارد نسبی (Relative standard deviation یا RSD) ۳/۲ درصد به دست آمد. ضریب همبستگی (Correlation coefficient یا CC) منحنی کالیبراسیون، ۰/۹۹۸۵ بود. نتایج آنالیز نمونه‌های آب و پساب نیز نشان داد که روش توسعه یافته عملکرد مناسبی جهت اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های با ماتریکس واقعی دارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به حدتشخیص پایین، فاکتور تغلیظ بالا و عملکرد مناسب در نمونه‌های واقعی، این روش را می‌توان به عنوان یک روش حساس و کارامد جهت اندازه‌گیری مقادیر بسیار پایین بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب و پساب معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: آب؛ پساب؛ ریزاستخراج فاز مایع؛ بیس‌فنل آ؛ اندازه‌گیری؛ کروماتوگرافی مایع

ارجاع: روستائی فریده، بغدادی مجید، مرجانی اعظم، علیمرادی محمد. **توسعه ریزاستخراج مایع- مایع پخشی بر اساس اثر بیرون‌رانی نمک جهت اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب شرب و پساب فاضلاب شهری با استفاده از کروماتوگرافی مایع با راندمان بالا: بهینه‌سازی توسط روش سطح پاسخ بر مبنای طرح Box-Behnken**. مجله تحقیقات نظام سلامت ۱۴۰۲؛ ۱۹ (۳): ۱۹۱-۱۸۳

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۵/۱ تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۷/۱۵

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۲- دانشیار، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک و گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳- استاد، گروه شیمی کاربردی، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
۴- استاد، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک، ایران
نویسنده مسؤول: مجید بغدادی؛ دانشیار، گروه شیمی تجزیه، دانشکده علوم پایه، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی، اراک و گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران، تهران، ایران
Email: m.baghdadi@ut.ac.ir

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]
[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

مقدمه

در سال‌های اخیر، آلودگی ناشی از ریزآلاینده‌ها بسیار گسترده و نگران‌کننده شده است؛ به طوری که می‌توان گفت ریزآلاینده‌ها یکی از مهم‌ترین نگرانی‌های زیست محیطی می‌باشد. مسیر اصلی مواجهه انسان‌ها با ریزآلاینده‌ها، آب، هوا و رژیم غذایی می‌باشد. استفاده گسترده از بیس‌فنل آ در صنایع و تخلیه فاضلاب و پساب کارخانه‌های تولیدی به آب‌های سطحی و زیرزمینی، یکی از علل اصلی آلودگی منابع آب به بیس‌فنل آ می‌باشد که می‌تواند سلامت انسان‌ها و موجودات زنده را تهدید کند (۳-۱). همچنین، به علت استفاده بیس‌فنول آ به عنوان نرم‌کننده در مواد پلاستیکی به ویژه در بطری‌های آب معدنی، مهاجرت بیس‌فنل آ از بطری به آب داخل آن اتفاق می‌افتد (۴).

هدف اصلی آماده‌سازی نمونه، تغلیظ و حذف عوامل مزاحم است. آماده‌سازی نمونه یکی از مراحل مهم در آنالیز کمی می‌باشد که آنالیز نمونه‌های پیچیده و اندازه‌گیری مقادیر ناچیز را مقدور می‌سازد. روش‌های پیش‌تغلیظ باعث کاهش عوامل مزاحم می‌شود. ضمن این که به دلیل فاکتور تغلیظ بالا، منجر به کاهش قابل توجه حد تشخیص (Limit of detection یا LOD) می‌شود. به طور کلی، استفاده از یک روش پیش‌تغلیظ مناسب، آنالیز نمونه‌های پیچیده و اندازه‌گیری مقادیر ناچیز را مقدور می‌سازد. همچنین، با استفاده از یک روش استخراج مناسب، آلاینده از نمونه به فاز استخراج‌کننده قابل انطباق با دستگاه اندازه‌گیری منتقل می‌شود (۶، ۵).

امروزه روش‌های استخراج کلاسیک توسعه زیادی پیدا کرده‌اند که این امر منجر به ارایه تکنیک‌های ریز استخراج (میکرواستخراج) شده است. هدف از توسعه این روش‌ها، برطرف کردن معایب روش‌های کلاسیک می‌باشد. این تکنیک‌های مدرن، دارای مزیت‌هایی همچون راندمان استخراج بالا، سرعت زیاد و مصرف کم مواد شیمیایی با خطرات کمتر می‌باشند (۷، ۶). بنابراین، روش‌های استخراج به سمت روش‌های سریع‌تر، ارزان‌تر و دوستدار محیط زیست در حال حرکت هستند. در این راستا، روش‌های ریز استخراج از جمله روش‌های ریزاستخراج فاز مایع (Liquid-phase microextraction یا LPME) و فاز جامد (Solid-phase microextraction یا SPME) توسعه پیدا کرده‌اند. روش‌های میکرواستخراج به کمک حلال با هدف برطرف کردن نقایص استخراج مایع- مایع کلاسیک مانند مصرف زیاد حلال‌های آلی سمی و خطرناک، گران و زمان‌بر بودن آن‌ها، در اواخر دهه ۱۹۹۰ توسعه پیدا کردند. در روش LPME، استخراج در حجم خیلی کمی از یک حلال آلی غیر قابل امتزاج با آب انجام می‌شود (۸، ۶).

از بین روش‌های ریزاستخراج، روش ریز استخراج مایع- مایع‌پخشی (Dispersive liquid-liquid microextraction یا DLLME) توسط رضایی و همکاران در سال ۲۰۰۶ به منظور اندازه‌گیری هیدروکربن‌های آروماتیک چند حلقه‌ای و آفت‌کش‌های ارگانوفسفره در نمونه‌های آبی با استفاده از کروماتوگرافی گازی (Gas chromatography یا GC) معرفی شد. مزایای این روش، سادگی و سهولت، حجم خیلی کم حلال استخراج‌کننده و سرعت بالای آن است که در نهایت، منجر به فاکتور تغلیظ خیلی بالا می‌گردد (۹). DLLME با استفاده از بیرون‌رانی نمک (SA-LLME یا Salting out assisted liquid-liquid microextraction) نوعی از روش DLLME همگن (Homogeneous liquid-liquid microextraction یا HLLME) محسوب می‌شود. در این روش استخراج، مخلوطی از آب و حلال آلی قابل امتزاج با آب مورد استفاده قرار می‌گیرد و با افزودن یک الکترولیت مانند NaCl یا KCl به این مخلوط، جدایی فاز اتفاق می‌افتد. به طور کلی، نمک اضافه شده تمایل زیادی به اتصال با مولکول‌های آب دارد. بنابراین، تعداد زیادی از مولکول‌های آب به یون‌های نمک متصل می‌شوند. در نتیجه، حلالیت حلال آلی در آب کم می‌گردد و جداسازی فاز صورت خواهد گرفت و آنالیت در فاز استخراج‌کننده وارد می‌شود. در این روش، راندمان استخراج به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد و منجر به افزایش حساسیت می‌شود (۱۰). به دلیل این که حلالیت فنوکسی اتانول به شدت تحت تأثیر قدرت یونی قرار دارد، یکی از حلال‌های استخراج‌کننده مناسب برای روش SA-LLME به شمار می‌رود. همچنین، این ماده به دلیل داشتن حلقه آروماتیک، از طریق برهم‌کنش‌های پای- پای، می‌تواند منجر به افزایش راندمان استخراج ترکیبات آلی شود. با توجه به این که نوع حلال استخراج‌کننده نقش مهمی در فرایند LPME دارد و نظر به این که استفاده از فنوکسی اتانول در روش SA-LLME تا به حال گزارش نشده است، استفاده از فنوکسی اتانول در روش SA-LLME، به عنوان نوآوری ارایه شده در پژوهش حاضر می‌باشد.

Saini و Martini از SPME جهت اندازه‌گیری بیس‌فنول آ در نمونه‌های آب و کاغذ حرارتی با استفاده از سه جاذب مختلف استات سلولز جفت شده با High-performance liquid chromatography-Ultra-violet (HPLC-UV)، کیتین و کیتوزان استفاده نمودند (۱۱). یکی از معایب اصلی این روش، ساخت جاذب می‌باشد که هزینه‌بر و زمان‌بر می‌باشد. Zhou و همکاران از روش میکرواستخراج مایع- مایع به کمک هوا (AALLME یا Air-assisted liquid-liquid microextraction) به منظور تعیین مهاجرت بیس‌فنول آ از ظروف پلاستیکی آب و غذا استفاده نمودند (۱۲). رضایی و همکاران نیز از DLLME همراه با HPLC برای استخراج و اندازه گیری بیس‌فنل آ در آب استفاده کردند (۱۳). از معایب روش فوق، استفاده از حلال پخش‌کننده می‌باشد که تأثیر منفی بر راندمان استخراج دارد.

هدف از انجام پژوهش حاضر، توسعه یک روش SA-LLME برای پیش‌تغلیظ بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب شرب و پساب فاضلاب شهری بود. این روش به دلیل فاکتور تغلیظ بالا، اندازه‌گیری مقادیر ناچیز بیس‌فنل آ را در نمونه‌های مورد بررسی امکان‌پذیر می‌کند.

روش‌ها

مواد: بیس‌فنل آ (Bisphenol A) جهت تهیه ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر محلول استوک (شرکت Sigma-Aldrich، آمریکا) تهیه شد. پتاسیم هگزاسیانو فرات (Potassium hexacyanoferrate) و ۴- آمینوآنتی‌پیرین (4-Aminoantipyrine) جهت مشتق‌سازی بیس‌فنل آ، ۲-فنوکسی اتانول (2-Phenoxyethanol) به عنوان حلال استخراج‌کننده، NaCl جهت افزایش قدرت یونی و متانول (Methanol) به عنوان حلال رقیق‌کننده فاز استخراجی از شرکت Merck (آلمان) تهیه گردید.

دستگاه‌ها: به منظور اندازه‌گیری مشتق بیس‌فنل آ، از HPLC (Agilent 1100) مجهز به دتکتور UV/Vis استفاده شد. اندازه‌گیری‌ها در طول موج ۴۸۰ نانومتر صورت گرفت. ۲۰ میکرولیتر از نمونه به صورت دستی به دستگاه

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]
[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

تزریق شد. جداسازی با استفاده از ستون C18 (۵ میکرومتر، ۴/۶ میلی‌متر× ۲۵۰ میلی‌متر) انجام گردید. شستشوی ستون توسط فاز متحرک متانول/ آب با نسبت ۲۰/۸۰ حجمی- حجمی با دبی ۰/۶ میلی‌لیتر در دقیقه صورت گرفت. طول هر آنالیز ۲۰ دقیقه در نظر گرفته شد. جداسازی فاز استخراج‌کننده به کمک سانتریفوژ مدل ۷-۲ (شرکت Sigma، آلمان) و اندازه‌گیری pH به کمک pHمتر Adwa (مدل AD1000، رومانی- مجارستان) انجام شد.

نمونه آب‌های مورد بررسی: در مطالعه حاضر از آب لوله‌کشی شهری در دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران و آب معدنی برند واتا به عنوان نمونه حقیقی استفاده شد. همچنین، پساب فاضلاب شهری از پساب خروجی تصفیه‌خانه اکباتان تهران در ظروف شیشه‌ای نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های فاضلاب ابتدا با صافی ۰/۴۵ میکرون فیلتر و سپس در یخچال نگهداری شد و قبل از آماده‌سازی به دمای محیط رسانده شدند.

روش SA-LLME ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه آبی حاوی بیس‌فنل آ به لوله‌های آزمایش شیشه‌ای مخروطی ۱۵ میلی‌لیتری انتقال یافت و سپس به آن بافر با pH = ۱۰، عوامل مشتق‌ساز و ۴-آمینوآنتی‌پیرین و پتاسیم هگزاسیانو فرات به ترتیب اضافه گردید. پس از آن، مقدار مشخصی ۲-فنوکسی اتانول در آن حل گردید. در نهایت، نمک کلرید سدیم جهت تنظیم قدرت یونی و دو فازی شدن به محلول نمونه اضافه شد. پس از هم زدن، یک محلول ابری تشکیل شد. سپس لوله‌ها با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از آن، فاز استخراج‌کننده حاوی مشتق بیس‌فنل آ در ته لوله آزمایش ته‌نشین و سپس به منظور کاهش ویسکوزیته، به آن ۲۰ میکرولیتر متانول اضافه شد. اندازه‌گیری با استفاده از دستگاه HPLC و در طول موج ۴۸۰ نانومتر صورت گرفت.

شاخص‌های تأثیرگذار و اثرات متقابل بین آن‌ها در فرایند ریزاستخراج بیس‌فنل آ توسط طراحی Box-Behnken در نرم‌افزار Design Expert نسخه 12.0.2.0 مورد بررسی قرار گرفت. Box-Behnken طراحی بسیار کارامدی است که اطلاعاتی را منحصراً در مورد تأثیر متغیرهای آزمایش در حداقل تعداد اجزای مورد نیاز با حداکثر اطلاعات ارایه می‌دهد. طراحی Box-Behnken به دلیل مزایایی همچون پیدا کردن عوامل مؤثر بر آزمایش، بررسی اثر فاکتور بر فرایند، بررسی برهم‌کنش بین شاخص‌ها و به دست آوردن شرایط بهینه آزمایش، امروزه به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. تعداد کل آزمایش‌های انجام شده (N) از طریق رابطه ۱ محاسبه گردید که در آن، K تعداد شاخص‌های اصلی و C0 تعداد تکرار نقطه مرکزی می‌باشد. تعداد فاکتورها از ۳ تا ۲۱ عدد قابل استفاده می‌باشد (۱۵، ۱۴).

$$N = 2K(K-1) + C0 \qquad \text{رابطه ۱}$$

در تحقیق حاضر، عوامل مشتق‌ساز (پتاسیم هگزاسیانوفرات و ۴-آمینوآنتی‌پرین)، بافر ۱۰ و مقدار نمک کلرید سدیم به عنوان متغیرهای مستقل انتخاب گردید. سطوح شاخص‌های مستقل در جدول ۱ ارایه شده است. سیگنال تجزیه‌ای جذب نور به عنوان متغیر وابسته در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که در قسمت بهینه‌سازی فرایند، از دستگاه اسپکتروفتومتر (HACH 2800، آمریکا) و برای محاسبه ارقام شایستگی و آنالیز نمونه‌های حقیقی از دستگاه HPLC استفاده گردید.

تعداد تکرار نقطه مرکزی در طراحی آزمایش ۵ در نظر گرفته شد. ماتریس طراحی آزمایش مشتمل بر ۳۱ آزمایش و نتایج آزمایش و مقادیر پیش‌بینی شده در جدول ۲ ارایه شده است.

جدول ۱. سطوح متفاوت عامل‌های اصلی در طراحی Box-Behnken

متغیر	سطوح		
	+۱	۰	-۱
بافر ۱۰ (میکرولیتر)	۱۵۰	۸۰	۱۰
کلرید سدیم (گرم)	۱/۰	۰/۶	۰/۲
٤-آمینو آنتی پیرین (میکرولیتر)	۱۰۰	۵۵	۱۰
پتاسیم هگزاسیانوفرات (میکرولیتر)	۱۰۰	۵۲/۵	۵

یافته‌ها

با استفاده از طراحی آزمایش Box-Behnken، معادله درجه ۲ (رابطه ۲) به دست آمد. این معادله، رابطه پارامترهای مستقل مقدار بافر، آمینوآنتی پیرین، هگزاسیانوفرات و کلرید سدیم را با مقدار جذب نشان می‌دهد.

رابطه ۲

$$\text{جذب} = 0.240 + 0.00253A + 0.61586B + 0.005111C - 0.003599D - 0.000071AD + 0.004111BC + 0.015934BD + 0.015934CD - 1.18505B^2 - 0.000032C\text{^}2$$

آزمون ANOVA به منظور بررسی اعتبار مدل و اهمیت متغیرها و برهم‌کنش آن‌ها استفاده شد و نتایج در جدول ۳ ارایه شده است. مقدار P برای عدم انطباق ۰/۴۸۵۹ به دست آمد که نشان می‌دهد نتایج پیش‌بینی شده توسط مدل با داده‌های تجربی انطباق خوبی دارد. مقدار شاخص‌های F و P برای مدل به ترتیب ۳۱/۷ و ۰/۰۵ > گزارش گردید که اهمیت مدل را نشان می‌دهد. اختلاف قابل قبولی بین Predicted R^2 و Adjusted R^2 مشاهده شد که تأییدکننده صحت مدل می‌باشد. بنابراین، مدل پیشنهادی را می‌توان برای پیش‌بینی مقدار جذب به کار برد.

مقدار P برای تمام شاخص‌ها کمتر از ۰/۰۵ می‌باشد که نشان می‌دهد تمام پارامترها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشند. علاوه بر این، از بین برهم‌کنش‌ها، فقط برهم‌کنش بین بافر و هگزاسیانوفرات و برهم‌کنش بین کلرید سدیم و هگزاسیانوفرات معنی‌دار می‌باشد.

نمودار باقی‌مانده‌ها و نمودار مقادیر پیش‌بینی شده نسبت به مقادیر تجربی به ترتیب در شکل ۱ (قسمت‌های الف و ب) نشان داده شده است. همان‌گونه که در شکل ۱ (قسمت الف) مشاهده می‌شود، باقی‌مانده‌ها از توزیع نرمال پیروی می‌کند. همچنین در شکل ۱ (قسمت ب) مشاهده می‌شود، تمام نتایج نزدیک خط ۴۵ درجه توزیع شده‌اند که نشان می‌دهد تمام نتایج توسط مدل به خوبی قابل پیش‌بینی است.

بحث

بررسی اثر شاخص‌های مؤثر بر روی راندمان استخراج و بهینه‌سازی روش: نمودارهای سطح پاسخ منتج از رابطه ۲ در شکل ۲ ارایه شده است. اثر بافر و هگزانوسیانوفرات روی میزان جذب در شکل ۲ (قسمت الف) نشان داده شده است.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

جدول ۲. ماتریس طراحی شده توسط Box-Behnken و پاسخ‌ها

آزمایش	بافر (میکرولیتر)	کلرید سدیم (گرم)	۴-آمینوآنتی پیرین (میکرولیتر)	پتاسیم هگزاسیانوفرات (میکرولیتر)	مقدار واقعی	مقدار پیش‌بینی شده
۱	۸۰	۰/۶	۱۰۰	۵/۰	۰/۸۴۷	۰/۸۴۲
۲	۸۰	۰/۲	۵۵	۱۰۰/۰	۰/۳۹۹	۰/۳۴۵
۳	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۸۵۰	۰/۸۲۸
۴	۱۵۰	۱/۰	۵۵	۵۲/۵	۰/۶۶۹	۰/۶۵۸
۵	۱۰	۰/۲	۵۵	۵۲/۵	۰/۵۲۷	۰/۶۱۹
۶	۸۰	۰/۲	۱۰	۵۲/۵	۰/۳۱۴	۰/۲۷۵
۷	۸۰	۱/۰	۱۰۰	۵۲/۵	۰/۹۵۵	۱/۰۲۰
۸	۸۰	۰/۲	۵۵	۵/۰	۰/۶۸۵	۰/۷۲۷
۹	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۷۷۷	۰/۸۲۸
۱۰	۱۵۰	۰/۶	۵۵	۱۰۰/۰	۰/۵۴۹	۰/۶۲۱
۱۱	۸۰	۰/۲	۱۰۰	۵۲/۵	۰/۶۰۰	۰/۶۶۷
۱۲	۸۰	۱/۰	۵۵	۱۰۰/۰	۱/۱۷۵	۱/۱۶۰
۱۳	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۸۷۰	۰/۸۲۸
۱۴	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۷۰۰	۰/۸۲۸
۱۵	۸۰	۰/۶	۱۰۰	۱۰۰/۰	۱/۲۷۰	۱/۲۲۰
۱۶	۱۰	۰/۶	۱۰۰	۵۲/۵	۱/۲۵۰	۱/۱۲۰
۱۷	۱۰	۰/۶	۱۰	۵۲/۵	۰/۵۴۰	۰/۵۷۶
۱۸	۸۰	۰/۶	۱۰	۱۰۰/۰	۰/۵۵۰	۰/۵۲۵
۱۹	۱۵۰	۰/۲	۵۵	۵۲/۵	۰/۵۶۳	۰/۴۵۳
۲۰	۱۵۰	۰/۶	۵۵	۵/۰	۰/۹۳۴	۰/۸۶۹
۲۱	۱۰	۰/۶	۵۵	۱۰۰/۰	۱/۱۵۶	۱/۲۶۰
۲۲	۱۵۰	۰/۶	۱۰۰	۵۲/۵	۰/۹۰۰	۰/۹۵۰
۲۳	۸۰	۱/۰	۱۰	۵۲/۵	۰/۳۷۳	۰/۳۳۲
۲۴	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۹۳۳	۰/۸۲۸
۲۵	۸۰	۱/۰	۵۵	۵/۰	۰/۲۵۰	۰/۳۲۷
۲۶	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۸۶۷	۰/۸۲۸
۲۷	۸۰	۰/۶	۱۰	۵/۰	۰/۴۴۵	۰/۴۶۱
۲۸	۱۰	۱/۰	۵۵	۵۲/۵	۰/۸۹۷	۰/۸۲۴
۲۹	۱۰	۰/۶	۵۵	۵/۰	۰/۶۰۰	۰/۵۶۷
۳۰	۱۵۰	۰/۶	۱۰	۵۲/۵	۰/۳۶۰	۰/۴۱۰
۳۱	۸۰	۰/۶	۵۵	۵۲/۵	۰/۷۹۴	۰/۸۲۸

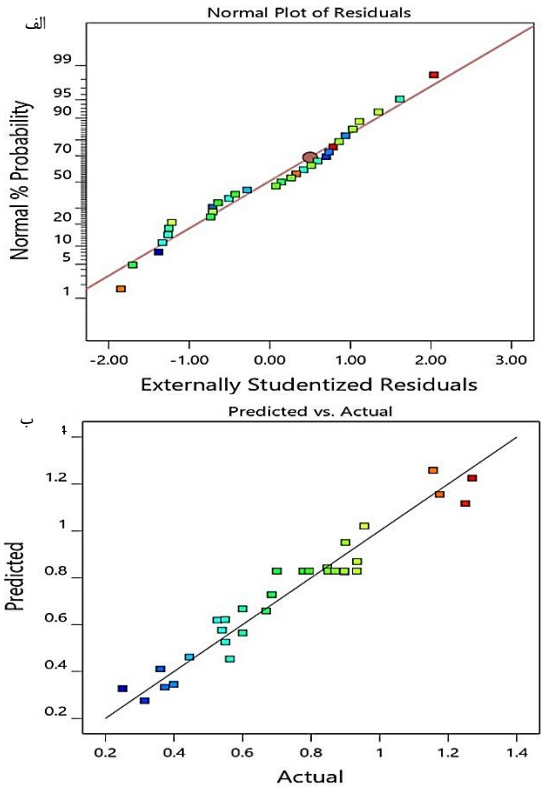
در غلظت‌های کم بافر، با افزایش مقدار هگزاسیانوفرات، مقدار جذب افزایش می‌یابد، اما در مقادیر زیاد بافر، با افزایش مقدار هگزاسیانوفرات، تغییر معنی‌داری در جذب مشاهده نشد که این امر نشان دهنده برهم‌کنش بین این دو شاخص می‌باشد. همچنین، با افزایش بافر، کاهش جذب مشاهده شد. این کاهش می‌تواند به دلیل افزایش pH در مقادیر زیاد بافر باشد؛ چرا که تشکیل مشتق رنگی حاصل شده به pH وابستگی زیادی دارد. اثر بافر و ۴-آمینوآنتی‌پیرین روی میزان جذب در شکل ۲ (قسمت ب) نشان داده شده است. بر این اساس، با افزایش غلظت نمک، میزان جذب افزایش می‌یابد که دلیل این امر، افزایش حجم فاز استخراجی می‌باشد. در غلظت‌های زیاد نمک، راندمان استخراج به میزان کمی کاهش می‌یابد که دلیل آن، رقیق شدن فاز استخراجی به دلیل افزایش بیش از حد حجم آن می‌باشد. با افزایش ۴-آمینوآنتی‌پیرین، میزان جذب افزایش می‌یابد که دلیل آن، تشکیل بیشتر مشتق رنگی می‌باشد.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]
[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

جدول ۳. نتایج آزمون ANOVA

منبع تغییرات	مجموع مربعات	درجه‌های آزادی	میانگین مربعات	مقدار F	مقدار P
Model	۲/۱۵۰۰	۱۰	۰/۲۱۴۸	۳۱/۷۰	*< ۰/۰۰۰۱
A–بافر	۰/۰۸۲۵	۱	۰/۰۸۲۵	۱۲/۱۸	۰/۰۰۲۳
B-NaCl	۰/۱۲۶۳	۱	۰/۱۲۶۳	۱۸/۶۴	۰/۰۰۰۳
C–آمینوآنتی پیرین	۰/۸۷۴۸	۱	۰/۸۷۴۸	۱۲۹/۱۳	< ۰/۰۰۰۱
D–هگزاسیانوفرات	۰/۱۴۹۲	۱	۰/۱۴۹۲	۲۲/۰۲	۰/۰۰۰۱
AD	۰/۲۲۱۴	۱	۰/۲۲۱۴	۳۲/۶۸	۰/۰۰۰۱
BC	۰/۰۲۱۹	۱	۰/۰۲۱۹	۳/۲۳	۰/۰۸۷۳
BD	۰/۳۶۶۶	۱	۰/۳۶۶۶	۵۴/۱۲	< ۰/۰۰۰۱
CD	۰/۰۲۵۳	۱	۰/۰۲۵۳	۳/۷۳	۰/۰۶۷۷
B^2	۰/۲۶۲۴	۱	۰/۲۶۲۴	۳۸/۷۳	< ۰/۰۰۰۱
C^2	۰/۰۳۰۸	۱	۰/۰۳۰۸	۴/۵۵	۰/۰۴۵۵
Residual	۰/۱۳۵۵	۲۰	۰/۰۰۶۸		
Lack of fit	۰/۰۹۷۴	۱۴	۰/۰۰۷۰	۱/۱۰	۰/۴۸۵۹
Pure error	۰/۰۳۸۱	۶	۰/۰۰۶۳		
Cor total	۲/۲۸۰۰	۳۰			

Adeq Precision = ۲۰/۰۴۶۱، Predicted R^2 = ۰/۸۵۰۲، Adjusted R^2 = ۰/۹۱۱، R^2 = ۰/۹۴۰۷، CV = ۱۱/۲۸ (درصد)، = ۰/۷۳۰۰ میانگین، ۰/۰۸۲۳ = انحراف معیار



شکل ۱. توزیع نرمال داده (الف) و نمودار مقادیر واقعی نسبت به مقدار پیش‌بینی شده توسط مدل (ب)

طبق شکل ۲ (قسمت‌های ج و د)، با افزایش مقدار هگزاسیانوفرات، میزان جذب افزایش پیدا می‌کند که دلیل آن تشکیل بیشتر مشتق رنگی است.

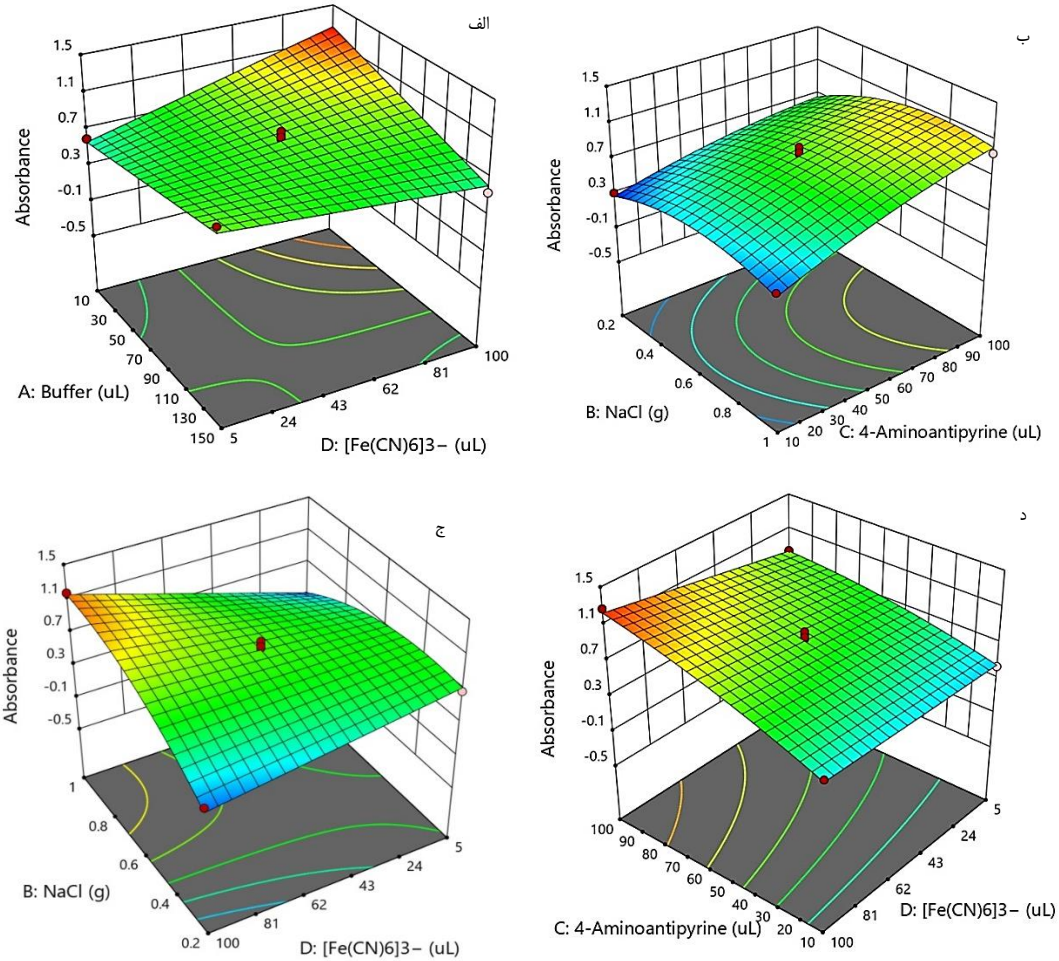
در شرایط بهینه، آزمایش تکرار گردید و میزان جذب در این شرایط، ۱/۲۸۵ بود که در محدود ۱/۳۹۵–۱/۱۹۷ با سطح اطمینان ۹۵ درصد قرار گرفت. بنابراین، اعتبار مدل مورد تأیید قرار گرفت.

ارقام شایستگی روش: تحت شرایط بهینه (۲–فنوکسی اتانول: ۲۵۰ میکرولیتر، ۴–آمینوآنتی‌پیرین ۱ درصد: ۱۰۰ میکرولیتر، پتاسیم هگزاسیانوفرات ۱۰ درصد: ۸۰ میکرولیتر و بافر ۱۰ = pH: ۱۰ میکرولیتر و سدیم کلرید ۰/۷ گرم بر ۱۰ میلی‌لیتر نمونه)، فاکتور تغلیظ (EF یا Enrichment factor) = ۱۰۶، LOD = ۰/۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر، حد کمی‌سازی = ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر و انحراف معیار نسبی (RSD یا Relative standard deviation) درون‌روزی و برون‌روزی به ترتیب ۳/۲ و ۵/۱ درصد به دست آمد. برای محاسبه انحراف معیار برون‌روزی، آزمایش‌ها در روزهای مختلف تکرار گردید. ضمن این که ضریب همبستگی (CC یا Correlation coefficient) منحنی کالیبراسیون، ۰/۹۹۸۵ گزارش شد. تعداد تکرارها برای محاسبه انحراف معیار، ۱۰ بود. فاکتور تغلیظ از نسبت شیب منحنی کالیبراسیون بعد از پیش‌تغلیظ به شیب منحنی کالیبراسیون بدون پیش‌تغلیظ به دست آمد. برای به دست آوردن LOD، سیگنال به نویز ۳ و برای حد کمی‌سازی سیگنال به نویز ۱۰ در نظر گرفته شد.

آنالیز نمونه‌های حقیقی: نمونه‌های آب لوله‌کشی شهری در دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران و آب معدنی برند واتا به عنوان نمونه حقیقی استفاده شد. همچنین، پساب فاضلاب شهری از پساب خروجی تصفیه‌خانه اکباتان شهرک اکباتان تهران تهیه گردید.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]



شکل ۲. سطوح پاسخ سه بعدی و اثرات تعاملی بافر با سیانوهگزافرات(الف)، نمک با آمینوآنتی‌پرین (ب)، نمک با سیانوهگزافرات (ج)، آمینوآنتی‌پرین با سیانوهگزافرات (د)

نقاط بهینه گزارش شده توسط نرم‌افزار شامل ۴-آمینوآنتی‌پیرین ۱ درصد: ۱۰۰ میکرولیتر، پتاسیم هگزاسیانوفرات ۱۰ درصد: ۸۰ میکرولیتر، بافر pH = ۱۰: ۱۰ میکرولیتر و سدیم کلرید ۰/۷ گرم بر ۱۰ میلی‌لیتر نمونه

نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی و نمونه‌های اسپایک شده در سطح غلظتی ۵۰ نانوگرم در میلی‌لیتر در جدول ۴ نشان داده شده است. بر این اساس، راندمان استخراج در تمام نمونه‌ها در محدوده ۵ ± ۱۰۰ درصد قرار داشت. بنابراین، می‌توان نتیجه گیری کرد که روش پیشنهاد شده برای اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های واقعی قابل استفاده می‌باشد.

مقایسه روش تحقیق پیشنهادی با روش‌های دیگر: برای مقایسه این روش با روش‌های دیگر، جدول ۵ تهیه گردید. در روش پیشنهادی در مقایسه با روش‌های SPME ذکر شده، نیاز به ساخت و سنتز جاذب نمی‌باشد.

جدول ۴. اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های حقیقی

نمونه	غلظت (نانوگرم در میلی‌لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)	مقدار اضافه شده	مقدار اندازه‌گیری شده (نانوگرم در میلی‌لیتر) (میانگین ± انحراف معیار)	راندمان بازیافت (درصد)
آب معدنی	۱/۱ ± ۰/۵	۵۰/۰	۴۹/۳ ± ۱/۷	۹۶/۴
آب شبکه آب‌رسانی	ND	۵۰/۰	۵۱/۹ ± ۱/۲	۱۰۳/۸
پساب فاضلاب شهری	۴/۵ ± ۰/۳	۵۰/۰	۵۶/۹ ± ۳/۲	۱۰۴/۸

ND: Not detected

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]
[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

جدول ۵. مقایسه روش تحقیق حاضر با روش‌های دیگر برای تشخیص بیس‌فنل آ

روش	LOD (نانوگرم در میلی‌لیتر)	فاکتور تغلیظ	منبع
Air-assisted liquid-liquid microextraction (AALLME)	۰/۲۰	–	(۱۲)
microextraction (Bio-DLLME) Biosorption based dispersive liquid liquid	۰/۳۳	۱۸۳	(۱۶)
Hollow-fiber-supported liquid-phase microextraction	۰/۰۳	۴۲۰۳	(۱۷)
Dispersive liquid-liquid microextraction	۰/۷۰	۸۹	(۱۸)
Solid phase microextraction	۱/۱۰	–	(۱۹)
Assisted Liquid-Liquid Microextraction Salting out	۰/۱۰	۱۰۶	پژوهش حاضر

LOD: Limit of detection

همچنین، سادگی روش در مقایسه با بعضی از روش‌های مندرج در جدول ۵، از دیگر مزایای این روش می‌باشد که نیاز به تجهیزات زیادی ندارد. ضمن این که LOD این روش در مقایسه با سایر روش‌ها به نسبت پایین‌تر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر روش SA-LLME برای اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب آشامیدنی لوله‌کشی، آب معدنی و پساب تصفیه‌خانه شهری بهینه گردید. در این روش، از فنوکسی اتانول به عنوان حلال استخراج‌کننده استفاده شد. با توجه به این که حلالیت فنوکسی اتانول خیلی تحت تأثیر قدرت یونی محیط می‌باشد، این ماده شرایط مناسبی برای استفاده در روش SA-LLME را دارد. در شرایط بهینه (۲-فنوکسی اتانول: ۲۵۰ میکرولیتر، ۴- آمینوآنتی‌پیرین ۱ درصد: ۱۰۰ میکرولیتر، پتاسیم هگزا سیانوفرات ۱۰ درصد: ۸۰ میکرولیتر و بافر pH = ۱۰: ۱۰ میکرولیتر و سدیم کلرید: ۰/۷ گرم بر ۱۰ میلی‌لیتر نمونه)، فاکتور تغلیظ ۱۰۶ و LOD = ۰/۱ و حد کمی‌سازی ۰/۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. این روش برای ریزاستخراج بیس‌فنل آ از آب آشامیدنی لوله‌کشی، آب معدنی و پساب فاضلاب مورد استفاده قرار گرفت. راندمان استخراج در تمام نمونه‌ها در محدوده ۵ ± ۱۰۰ درصد بود. بنابراین، روش توسعه یافته عملکرد مناسبی جهت اندازه‌گیری بیس‌فنل آ در نمونه‌های با ماتریکس واقعی دارد. در مقایسه با دیگر روش‌های میکرواستخراج، این روش دارای LOD پایین و فاکتور تغلیظ بالا می‌باشد. با توجه به عملکرد مناسب این روش در نمونه‌های واقعی، می‌توان از آن به عنوان یک روش حساس و کارامد جهت اندازه‌گیری مقادیر بسیار پایین بیس‌فنل آ در نمونه‌های آب و پساب استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکتری تخصصی با شماره ۱۲۱۴۸۰۰۶۶۷۶۵۶۹۲۱۴۰۰۱۶۲۴۱۲۱۳۶، مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک می‌باشد. بدین وسیله ازگروه شیمی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک و دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران به جهت پشتیبانی از انجام این مطالعه، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Huelsmann RD, Will C, Carasek E. Determination of bisphenol A: Old problem, recent creative solutions based on novel materials. J Sep Sci 2021; 44(6): 1148-73.
2. Almeida S, Raposo A, Almeida-Gonzalez M, Carrascosa C. Bisphenol A: Food exposure and impact on human health. Compr Rev Food Sci Food Saf 2018; 17(6): 1503-17.
3. Bodur S, Erarpat S, Dalgıç Bozyigit G, Selali Chormey D, Oz E, Ozdogan N, et al. A sensitive determination method for trace bisphenol A in bottled water and wastewater samples: Binary solvent liquid phase microextraction-quadrupole isotope dilution-gas chromatography-mass spectrometry. Microchem J 2020; 159: 105532.
4. Parto M, Aazami J, Shamsi Z, Zamani A, Savabieasfahani M. Determination of bisphenol-A in plastic bottled water in markets of Zanjan, Iran. Int J Environ Sci Technol 2022; 19(4): 3337-44.
5. Yamini Y, Rezazadeh M, Seidi S. Liquid-phase microextraction - The different principles and configurations. TrAC Trends Anal Chem 2019; 112: 264-72.
6. Pedersen-Bjergaard S, Rasmussen KE. Liquid-phase microextraction with porous hollow fibers, a miniaturized and highly flexible format for liquid-liquid extraction. J Chromatogr A 2008; 1184(1-2): 132-42.
7. Sarafraz-Yazdi A, Amiri A. Liquid-phase microextraction. TrAC Trends Anal Chem 2010; 29(1): 1-14.
8. Dadfarnia S, Haji Shabani AM. Recent development in liquid phase microextraction for determination of trace level concentration of metals--a review. Anal Chim Acta 2010; 658(2): 107-19.
9. 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(1-2): 1-9.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

10. Wang Dx, Wang Xc, Hu Qj, Zhang Cx, Li F, Wang Fl, et al. Salting-out assisted liquid-liquid extraction coupled to dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of bisphenol a and six analogs (B, E, F, S, BADGE, BFDGE) in canned coffee drinks by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Food Anal Methods 2021; 14(3): 441-52.
11. Saini SS, Martini MF. A green hybrid microextraction for sensitive determination of bisphenol A in aqueous samples using three different sorbents: Analytical and computational studies. Microchemical Journal 2021; 160: 105612.
12. Zhou Q, Jin Z, Li J, Wang B, Wei X, Chen J. A novel air-assisted liquid-liquid microextraction based on in-situ phase separation for the HPLC determination of bisphenols migration from disposable lunch boxes to contacting water. Talanta 2018; 189: 116-21.
13. Rezaee M, Yamini Y, Shariati S, Esrafili A, Shamsipur M. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-UV detection as a very simple, rapid and sensitive method for the determination of bisphenol A in water samples. J Chromatogr A 2009; 1216(9): 1511-4.
14. Czyrski A, Sznura J. The application of Box-Behnken-Design in the optimization of HPLC separation of fluoroquinolones. Sci Rep 2019; 9(1): 19458.
15. Latif A, Maqbool A, Zhou R, Arsalan M, Sun K, Si Y. Optimized degradation of bisphenol A by immobilized laccase from Trametes versicolor using Box-Behnken design (BBD) and artificial neural network (ANN). J Environ Chem Eng 2022; 10(2): 107331.
16. Haeri SA. Bio-sorption based dispersive liquid-liquid microextraction for the highly efficient enrichment of trace-level bisphenol A from water samples prior to its determination by HPLC. J Chromatogr B Biomed Appl 2016; 1028: 186-91.
17. Zou Y, Zhang Z, Shao X, Chen Y, Wu X, Yang L, et al. Hollow-fiber-supported liquid-phase microextraction using an ionic liquid as the extractant for the pre-concentration of bisphenol A, 17-beta-estradiol, estrone and diethylstilbestrol from water samples with HPLC detection. Water Sci Technol 2014; 69(5): 1028-35.
18. Lopez-Darias J, German-Hernandez M, Pino V, Afonso AM. Dispersive liquid-liquid microextraction versus single-drop microextraction for the determination of several endocrine-disrupting phenols from seawaters. Talanta 2010; 80(5): 1611-8.
19. Nerin C, Philo MR, Salafranca J, Castle L. Determination of bisphenol-type contaminants from food packaging materials in aqueous foods by solid-phase microextraction-high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A 2002; 963(1-2): 375-80.

[Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502]

[DOI: 10.48305/jhsr.v19i3.1502] [Downloaded from hsr.mui.ac.ir on 2026-11-25]