

Advanced Techniques for Quantification of N-nitrosodiethanolamine in Cosmetic Products

Zahra Valipناه¹,
Abolghasem Rahmani¹,
Pooria Gill^{2,3},
Adele Rafati^{2,3}

¹ MSc Student in Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Professor, Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ The Health of Plant and Livestock Products Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 5, 2023 ; Accepted June 10, 2023)

Abstract

Cosmetics are daily chemical industrial products used for cleaning, health care, and beauty purposes. Sometimes these products are contaminated by heavy metals, unwanted chemicals, and other dangerous substances that can lead to environmental pollution and cause various diseases and physiological side effects in humans. N-nitrosodiethanolamine compounds are among the unwanted contaminants created during the production of cosmetic products. In recent years, various qualitative and quantitative analytical methods have been used for detection of nitrosamine compounds in many products, and various techniques were developed to address the limitations of previous methods. This study reviewed approaches developed to detect N-nitrosodiethanolamine compounds, including microextraction techniques and application of nanotechnology in order to design accurate analytical methods and high sensitivity nanosensors to overcome the limitations of current methods and designing practical and cost-effective systems.

Keywords: nitrosamines, microextraction, nanosensor, cosmetics

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (222): 214-225 (Persian).

Corresponding Author: Adele rafati - Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: rafati.adele@gmail.com)

تکنیک‌های پیشرفته کمیت سنجی نیتروزو دی اتانول آمین در فرآورده های آرایشی

زهرای ولی پناه^۱
ابوالقاسم رحمانی^۱
پوریا گیل^{۳و۲}
عادله رافتی^{۳و۲}

چکیده

لوازم آرایشی و بهداشتی، محصولات صنعتی شیمیایی هستند که روزانه به منظور پاکسازی و مراقبت از سلامت و زیبایی استفاده می‌شوند. در این فرآورده‌ها احتمال حضور آلودگی‌هایی از جمله فلزات سنگین، مواد شیمیایی ناخواسته و سایر مواد خطرناک وجود دارد، که می‌توانند منجر به آلودگی‌های محیطی و ایجاد انواع بیماری‌ها و عوارض جانبی فیزیولوژیکی در انسان شوند. از جمله آلودگی‌های ناخواسته ایجاد شده در حین تولید محصولات، ترکیبات نیتروزو آمینی می‌باشند. در سال‌های اخیر، انواع روش‌های آنالیز برای تشخیص کیفی و کمی انواع ترکیبات نیتروزو آمینی در محصولات متعدد به کار رفته است و تکنیک‌های مختلفی جهت ساماندهی و حل محدودیت‌های روش‌های پیشین طراحی شده است. لذا مطالعه حاضر با هدف مروری بر روش‌های نوین توسعه یافته برای تشخیص این عامل، از جمله تکنیک‌های میکرو استخراج و کاربرد فناوری نانو جهت طراحی روش‌های آنالیز دقیق و نانو حسگرهای با حساسیت بالا جهت غلبه بر محدودیت‌های روش‌های موجود و طراحی سامانه‌های کاربردی و مقرون به صرفه، انجام شده است.

واژه های کلیدی: نیتروز آمین، میکرو استخراج، نانو حسگر، محصولات آرایشی

مقدمه

منظور افزایش زیبایی ظاهری در یک فرد طراحی شده‌اند. لوازم آرایشی انواع مختلفی دارند و به‌طور معمول از مواد مصنوعی با پایه شیمیایی ساخته می‌شوند. همانند سایر فرآورده‌های سنتزی این ترکیبات نیز از بروز آلودگی‌ها مصون نمانده و احتمال حضور مواد آلاینده در آن‌ها وجود دارد. آلاینده‌ها، می‌توانند به صورت ترکیبات افزودنی غیر مجاز یا مواد ناخواسته‌ای باشند که در حین تولید فرآورده‌ها ایجاد می‌گردند و یا محصول گذر زمان در ترکیب می‌باشند.

در دهه‌های اخیر، نگرانی‌های بسیاری در زمینه آلودگی‌های حاصل از مواد شیمیایی در سراسر جهان ایجاد شده است. با توجه به روند رو به رشد صنایع مختلف و افزایش آگاهی جوامع از پیامدهای منفی ترکیبات آلاینده شیمیایی بر سلامت انسان و محیط زیست، ارزیابی سلامت محصولات به‌منظور کاهش عوارض حاصل از آلودگی‌های شیمیایی، جایگاه ویژه‌ای را در حوزه کنترل کیفی به خود اختصاص داده است (۱). محصولات حوزه صنایع آرایشی و بهداشتی، به

مؤلف مسئول: عادله رافتی - ساری: سه راه جویبار، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، مرکز تحقیقات سلامت فرآورده‌های گیاهی و دامی E-mail: rafati.adele@gmail.com

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد نانوفناوری پزشکی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استاد گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. مرکز تحقیقات سلامت محصولات گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۱/۱۱/۲۵ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۳/۲۰

از جمله این آلودگی ها می توان به انواع ترکیبات آلی، فلزات سنگین و سایر مواد مضر اشاره نمود. وجود این آلودگی ها ممکن است سلامت و ماندگاری محصولات آرایشی را به خطر بیاندازند.

از آنجایی که امکان جذب ترکیبات آرایشی از طریق پوست وجود دارد، تجمع و متابولیزه شدن ترکیبات آلاینده در شرایط فیزیولوژیک بدن می تواند آسیبزا باشد. در اثر متابولیزه شدن این ترکیبات، متابولیت های به وجود آمده از آن ها (حتی در مقادیر پایین) می توانند اثرات نامطلوبی بر سلامتی انسان داشته باشند (۳،۴). علاوه بر این، به دلیل استفاده روز افزون از لوازم آرایشی، برخی از مواد تشکیل دهنده آن ها به محیط زیست وارد و در آنجا انباشته شده و منجر به اثرات مضر در گیاهان و جانوران می گردند (۴). از جمله این مواد آلوده کننده، می توان به انواع نگه دارنده ها (مانند پارابن)، فلزات سنگین، ترکیبات مشتق از دی و تری اتانول آمین (به عنوان تنظیم کننده pH) و غیره اشاره نمود (۵-۷). یکی از مشتقات ناخواسته ایجاد شده توسط دی و تری اتانول آمین که در سال های اخیر توجه زیادی را به خود جلب نمودند، ترکیبات نیتروزامینی می باشند (۸). حضور این ترکیبات در فرآورده های آرایشی (در حین ذخیره و بسته بندی)، علاوه بر اثرات نامطلوبی که بر ماندگاری و کیفیت محصولات می گذارد، می تواند عوارض جانبی بسیاری را در مصرف کننده ایجاد نماید (۹،۱۰). انسان از طریق منابع مختلف از جمله فرآورده های غذایی، آب، لوازم بهداشتی و آرایشی و برخی داروها نیز ممکن است در معرض ترکیبات نیتروزامینی قرار گیرد (۶). تا به امروز انواع روش ها جهت آشکارسازی و اندازه گیری این ترکیبات در محصولات آرایشی و بهداشتی توسعه یافتند، تا بتوان با اختصاصیت و حساسیت قابل قبول، مقادیر این ماده را در محصول آرایشی و بهداشتی ارزیابی نمود. مطالعه حاضر با هدف مروری بر ویژگی های نیتروزامین ها و مطالعات انجام گرفته در زمینه

توسعه انواع روش های کمیت سنجی این ماده در این محصولات انجام شده است.

نیتروزامین ها در محصولات آرایشی

N- نیتروژن دی اتانول آمین (NDELA) یکی از گسترده ترین نیتروزامین های یافت شده در محصولات آرایشی است. این ترکیب اغلب از واکنش بین دی یا تری اتانول آمین (به عنوان یکی از اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون های آرایشی) در حضور عوامل نیتروژه کننده تشکیل می شود (۱۴-۱۱). نیتروژن دی اتانول آمین، ترکیب مایع زرد کم رنگ روغنی و حساس به نور است. ساختار این ترکیب در اثر برخورد نور شکسته شده و در نتیجه بخارهای سمی اکسیدهای نیتروژن از خود ساطع می کند (۱۵). این ترکیب قادر به جذب از طریق پوست بوده و با ورود به بدن انسان و فعال شدن طی مسیرهای متابولیکی، در سلول ها عوارض منفی ایجاد می کند. از اثرات منفی این ماده، ایجاد سرطان زایی در ارگان های مختلف مخصوصا سلول های کبدی می باشد، که در مطالعات متعددی در مدل های حیوانی نشان داده شده است (۱۸-۱۶).

اثرات بیولوژیکی ترکیبات نیتروزامینی

پژوهش های متعددی نشان داده است که ترکیبات N- نیتروژن به طور حاد سمی و جهشزا می باشد و اثر سرطان زایی آن ها به طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۹). مطالعات این حوزه نشان دادند، تومورهای ناشی از نیتروزامین ها در حیوانات آزمایشگاهی، خواص مورفولوژیکی مشابهی با تومورهای موجود در اندام های انسانی مرتبط نشان می دهند (۲۰). در بین ترکیبات نیتروژن آمینی، نیتروژن دی اتانول آمین، توسط آژانس بین المللی تحقیقات سرطان (IARC)، جزء مواد سرطان زای گروه B طبقه بندی شده است، بدین معنا که این ترکیب می تواند اثر سرطان زایی بر انسان داشته باشد. القای اثر سرطان زایی توسط ترکیبات نیتروزامینی به واسطه

متابولیزه شدن آن‌ها توسط آنزیم‌ها در شرایط لازم صورت می‌گیرد. در واقع الکتروفیل‌های تولید شده در این مسیرهای متابولیکی ساده که عموماً توسط آنزیم‌های سیتوکروم کاتالیز می‌شوند فرآیند سرطان‌زایی را آغاز می‌کنند (۲۱، ۲۲).

انواع روش‌های کمیّت سنجی نیتروز آمین‌ها

در سال‌های اخیر انواع روش‌های آنالیز جهت بررسی وجود ترکیبات نیتروز آمینی و تعیین کمیّت آن‌ها طراحی شده است. روش‌های کمیّت سنجی که تاکنون طراحی شده‌اند به شرح زیر می‌باشد:

۱- روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا: در این روش جهت انجام فرآیند، آماده سازی نمونه‌ها بر اساس قابلیت پخش در آب و سپس انجام کروماتوگرافی و کمیّت سنجی لازم می‌باشد. جهت آماده سازی نمونه‌ها، براساس نوع ماتریکس برای نمونه‌های قابل پخش در آب از آماده سازی مبتنی بر روش استخراج فاز جامد با استفاده از محلول متانول و ستون استخراج فاز جامد C_{18} و برای نمونه‌های غیر قابل پخش در آب از استخراج مایع- مایع با دی کلرومتان استفاده می‌شود. اندازه گیری NDELA در فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی توسط روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، فتولیز و سپس مشتق سازی پس از ستون نیز روش استاندارد دیگری است که برای تشخیص این عامل کاربرد یافته است. در این روش، NDELA از ماتریکس آرایشی و بهداشتی توسط کروماتوگرافی مایع با کارایی بالای فاز معکوس جداسازی می‌شود و سپس پیوند N- نیتروزو توسط فتولیز شکسته شده و یون نیتريت آزاد می‌گردد. طبق واکنش با معرف گریس، یون نیتريت در محیط اسیدی با سولفانیل آمید واکنش داده تا ترکیب دی آزو تشکیل گردد و با ترکیب با N-(۱- نفتیل) اتیلن دی آمین دی هیدروکلرید ایجاد ترکیب بنفش رنگ آزو می‌نماید که با اسپکتروفتومتری در ۵۴۰ نانومتر تعیین مقدار انجام می‌گردد.

۲- کروماتوگرافی لایه نازک و استفاده از رنگ فلئورسنت: از کروماتوگرافی لایه نازک و از رنگ فلئورسنت برای کمیّت سنجی نیتروز دی اتانول آمین استفاده شده است. در این روش با استفاده از صفحه سلیکاژل یا آلومینیوم هیدروکسید و تابش اشعه فرابنفش، ترکیب نیتروز آمینی شکسته شده و آمین نوع اول یا دوم آزاد می‌گردد. در ادامه با اسپری کردن رنگ فلئورسنت فلورسکامین (Fluorescamine) بر روی صفحه و استفاده از اسپکتروفتومتر توانایی شناسایی نیتروز آمین با حد تشخیص ۱۰ تا ۱۵ نانوگرم فراهم می‌گردد. ماده فلورسکامین به خودی خود ماده فلئورسنت نبوده و در واکنش با آمین‌های نوع اول و دوم خاصیت فلئورسنت را از خود بروز می‌نماید (۲۳).

۳- روش کمیّت سنجی مبتنی بر رنگ سنجی: در این روش برای تعیین مقدار نیتروز دی اتانول آمین از روش رنگ سنجی استفاده شده است. در این مطالعه معرف دینیتروزه کننده والترز (اسید هیدروبرومیک ۳ درصد و استیک اسید گلاسیال) بهینه سازی شده است. محلول استاندارد تهیه شده، تحت تیمار اسیدی با هیدروکلریک اسید قرار می‌گیرد تا نیتروژن اکسید جذب شده خارج گردد (۱۳). هم چنین برای تشخیص نیتروز آمین‌ها می‌توان از یک عامل دینیتروزه کننده استفاده نمود. معرف استفاده شده پیوند N-NO را شکسته، اکسید نیتریک تولید شده در اثر این شکست، مورد آنالیز قرار گیرد. در این روش، ابتدا نیتروز آمین توسط ستون و حلال مناسب استخراج شده و سپس فرآیند جداسازی در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا انجام می‌گیرد. در مرحله بعد، پیوند نیتروزو توسط معرف اسیدی همراه با ترکیبات برومو و ید شکسته شده تا گاز نیتریک اکسید تولید گردد. در ادامه محلول حاوی نیتریک اکسید گاز زدایی می‌گردد و سپس در مرحله آخر نیتریک اکسید توسط دستگاه Bendix nitrogen analyzer مورد آنالیز و تعیین مقدار قرار می‌گیرد (۲۴، ۲۵). لزوم کمیّت سنجی، آماده سازی

نمونه مورد آنالیز است. یک روش آماده سازی برای آنالیز NDELA به عنوان یک آلاینده در لوازم آرایشی استفاده از رزین های تبادل یونی است. در این روش نمونه NDELA روی یک رزین تبادل آنیونی قوی در حضور اتانول جذب می شود و با شستشو با اسید استیک / اتانول بازیابی می گردد. نمونه ها در حضور ترکیبات قطبی مختلف یونی و غیر یونی مورد استفاده در فرمولاسیون های رایج آرایشی مورد بررسی قرار گرفتند و حد تشخیص روش برای نیتروزو دی اتانول آمین، با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی- آنالیز حرارتی سنجیده شد و مقدار 10^{-9} گزارش گردید (۲۶). یک روش نسبتاً سریع و ساده برای تشخیص NDELA در محصولات آرایشی مختلف، براساس تشکیل N- نیتروزودی متیل آنیلین بوده که یک محلول بازی زرد روشن می باشند. در این روش، پس از شستشو با کلروفرم، ذغال فعال به محلول اضافه می گردد و سپس محلول فیلتر شده و نهایتاً یک محلول شفاف و بی رنگ حاصل می شود، سپس به محلول هیدروکلریک اسید اضافه گردیده و به مدت ۴۵ دقیقه در $25\pm 3^\circ\text{C}$ نانو متر تخت فتولیز قرار می گیرد. پس از فتولیز محلول N,N دی متیل آنیلین اضافه شده و به مدت ۳۰ دقیقه حرارت می بیند. پس از سرد کردن سدیم هیدروکسید به ترکیب اضافه می گردد. ایجاد رنگ زرد معرف حضور نیتروزو دی اتانول آمین در محلول است (۲۷). با مطالعات مشترک توسط سازمان های عضو انجمن لوازم آرایشی بهداشتی و عطری بریتانیا (CTPA)، روشی برای تعیین نیتروزو دی اتانول آمین در لوازم آرایشی و بهداشتی مبتنی بر تغییرات رنگ سنجی طراحی و پیشنهاد شد. در این روش مواد آرایشی براساس نوع ماتریکس، توسط محلول های مشخصی پیش آماده سازی می شوند. ترکیبات پایه آبی در آب حل شده و توسط استخراج فاز جامد جدا می گردند و ترکیبات پایه روغنی و امولسیون ها توسط دی کلرومتان و آب استخراج می شوند. در مرحله بعد نیتروزو دی اتانول آمین توسط

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا فاز معکوس جداسازی گردیده، پیوند نیتروزو توسط فتولیز شکسته شده و نیتريت آزاد می شود، سپس نیتريت آزاد شده با واکنشگر سولفانیل آمید در محیط اسیدی واکنش می دهد تا ترکیب دی آزونوم تشکیل گردد، سپس یون دی آزونوم با معرف N (۱- نفتیل) اتیلن دی آمین بر همکنش داده تا رنگ بنفش آزو تشکیل شود. شدت تغییرات رنگی حاصل، توسط روش اسپکتروفتومتری در 540 nm آنالیز می گردد (۲۸). از جمله تکنیک های آنالیز دستگاهی که اختراع مرتبط با آن برای اندازه گیری NDELA در لوازم آرایشی ثبت شد، دستگاه کروماتوگرافی گازی- آنالیز گر حرارتی می باشد. در این روش استخراج NDELA موجود در لوازم آرایشی تحت شرایط اولتراسونیک و با استفاده از نمونه با محلول مخلوط آب و تری کلرومتان انجام می گردد، در مرحله بعدی پس از انجام سانتریفیوژ سرد با سرعت بالا، خالص سازی توسط ستون سیلیکاژل انجام گرفته و با استفاده از استون برای شستشو، می توان محلول به دست آمده از انحلال و فیلتر متیل الکل را با روش ترکیبی کروماتوگرافی گازی و آنالیز انرژی حرارتی تشخیص داد. باتوجه به روش تشخیص، NDELA موجود در لوازم آرایشی محلول در آب یا محلول در چربی را می توان به طور موثر تشخیص داد. هم چنین میزان تداخل در ماتریس نمونه کم است، دقت و حساسیت بالا است و روش تشخیص می تواند با تشخیص N-nitrosodiethanolamine در انواع مختلف لوازم آرایشی مورد استفاده قرار گیرد (۲۹).

چالش های روش های تشخیص نیتروزو آمین ها

تاکنون انواع تکنیک های دستگاهی جهت تشخیص و کمیت سنجی نیتروزو آمین ها به کار برده شده است. با توجه به مطالعات صورت گرفته، تشخیص و کمیت سنجی نیتروزو آمین ها، طی سه مرحله آماده سازی، جداسازی (تخلیص) و در نهایت تعیین مقدار صورت می پذیرد. روش هایی از جمله کروماتوگرافی گازی یا

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، علی‌رغم مزایایی که در آنالیز شیمیایی اتوماتیک نمونه‌ها دارند، از نظر زمان آنالیز، نیازمند بودن به تجهیزات پیشرفته، هزینه بالا، لزوم پیش‌آماده‌سازی نمونه و مراحل طولانی محدودیت دارند. بنا به این محدودیت‌ها، لازم است تا روش تشخیص سریع، مقرون به صرفه و با اختصاصیت و حساسیت بالا جایگزین این روش‌ها گردد. هم‌چنین ترکیبات نیتروژن‌آمینی غالباً ترکیبات با وزن مولکولی پایینی بوده و به صورت ضعیفی یونیزه می‌گردند که این مورد می‌تواند در روش آنالیز محدودیت ایجاد نماید (۳۰).

انواع روش‌های نوین توسعه یافته

روش‌های بر پایه تکنیک میکرواستخراج

نمونه‌های بیولوژیکی یا نمونه‌هایی که از منابع طبیعی گرفته می‌شوند، اغلب حاوی ترکیبات بسیار پیچیده بوده که به عنوان عوامل مزاحم در فرایند تجزیه و اندازه‌گیری دخالت می‌نمایند و یا مقادیر ترکیبات آلاینده مورد نظر به قدری ناچیز هستند که ممکن است با قوی‌ترین سیستم‌های آشکارسازی نیز قابل اندازه‌گیری نباشد و یا با فرایندهای تجزیه ناسازگار باشند. همان‌طور که مشخص است، بعضی از آلاینده‌های خطرناک در همان مقادیر کم دارای آثار زیانبار زیستی می‌باشند. لذا ضرورت دارد که روش‌های بسیار حساس و اختصاصی را بررسی و تدوین نمود تا بتوان چنین مقادیری از آلاینده‌ها را در نمونه به‌طور دقیق و با صحت بالا اندازه‌گرفت. همان‌طور که در بالا هم بدان اشاره گردید، تکنیک‌های دستگاهی مانند روش‌های کروماتوگرافی، اسپکتروفتومتری، میکروسکوپی و ابزارها و حسگرهای میکرو برای این که بتوانند کمیت سنجی دقیقی از آنالیت مورد هدف داشته باشند محدودیت نوع نمونه و آماده‌سازی را دارند. آماده‌سازی نمونه در یک فرآیند تجزیه‌ای عمده‌تاً شامل مرحله استخراج است که منجر به تغلیظ و جداسازی گونه‌های مورد نظر از بافت نمونه می‌گردد. انتخاب روش استخراج به شرایط کار، نوع نمونه و نوع فاز

استخراج‌کننده وابسته است. تعیین راهکارهایی برای کاهش مصرف حلال، خودکار نمودن و امکان اندازه‌گیری مقادیر بسیار کم و پیدا کردن روش‌های سازگار با محیط زیست از جمله اهداف مهم اصلاح روش‌های آماده‌سازی نمونه می‌باشد. به علت غلظت بسیار کم آلاینده‌ها و پیچیدگی بافت نمونه‌های طبیعی، اهمیت مرحله آماده‌سازی نمونه بیش‌تر جلوه می‌کند. علی‌رغم پیشرفت‌های وسیع تکنولوژی، اغلب دستگاه‌های تجزیه‌ای نمی‌توانند به صورت مستقیم مقادیر ناچیز آنالیت را در نمونه‌های حقیقی (بافت‌های پیچیده) آنالیز نمایند، بنابراین برای حل این مسئله مراحل آماده‌سازی نمونه قبل از آنالیز به کار برده می‌شود، که علاوه بر جداسازی گونه از ماتریکس پیچیده آن، می‌تواند به صورت هم‌زمان تغلیظ آنالیت را نیز فراهم نماید. در نتیجه امکان اندازه‌گیری آنالیت در غلظت‌های خیلی پایین وجود دارد. امروزه رویکرد در شیمی آنالیز به سمت ساده‌سازی و مینیاتوری شدن آماده‌سازی نمونه و هم‌چنین کاهش مصرف حلال آلی است. بنابراین چندین روش میکرواستخراج برای کاهش مراحل آنالیز، پیش‌تغلیظ نمونه و بهبود کیفیت و حساسیت روش‌های تجزیه‌ای معرفی شده است. از مزایای مینیاتوری شدن، می‌توان به استفاده از نمونه‌های اولیه با ابعاد کوچک‌تر جهت تجزیه مقادیر بسیار کم، انتخاب‌گری بیش‌تر در استخراج، افزایش توانمندی بالقوه جهت خودکار نمودن روش و یافتن روش‌هایی سازگار با محیط زیست که کم‌تر از مواد شیمیایی آلاینده و حلال‌های آلی استفاده می‌کند، اشاره نمود.

انواع روش‌های میکرواستخراج شامل موارد زیر می‌باشد:

- میکرواستخراج مایع-مایع
 - میکرواستخراج فاز مایع با تک قطره
 - میکرواستخراج فاز مایع-مایع پخشی
 - میکرواستخراج فاز مایع با هالوفایبر
- میکرواستخراج با فاز جامد

○ میکرواستخراج فاز جامد با فایبر پلیمرهای قالب مولکولی
○ الکترو- میکرواستخراج با فاز جامد

میکرواستخراج فاز جامد (Solid Phase Micro-Extraction: SPME)، یک تکنیک پیشرفته، جهت آماده سازی نمونه های دارای ساختار پیچیده می باشد. در این تکنیک، آماده سازی، پیش تغلیظ و استخراج نمونه در یک مرحله انجام می گیرد. این روش در زمینه های مختلفی از انواع صنایع شیمیایی استفاده می گردد. از مزایای این تکنیک می توان به سادگی، مصرف کم ترین مقدار حلال آلی (بدون حلال یا به حداقل رساندن حلال)، سرعت و دقت بالا، بهبود پاکسازی نمونه اشاره کرد (۳۱، ۳۲). هم چنین روش کاربردی دیگر در انجام میکرو استخراج، فرآیند میکرو استخراج فاز مایع می باشد. این فرآیند مدل تسهیل شده استخراج مایع-مایع می باشد و سادگی، سرعت و دقت در تمام مراحل آن لحاظ شده است (۳۳، ۳۴).

کمیت سنجی نیتروژن آمین با استفاده از روش های بر پایه تکنیک میکرو استخراج

از روش های مبتنی بر تکنیک میکرو استخراج نیز می توان برای کمیت سنجی ترکیبات نیتروژن آمینی بهره گرفت. مبتنی بر این تکنیک، یک روش آنالیز جدید برای تعیین (NDELA)، ارائه گردید. روش مبتنی بر رویکرد میکرو استخراج مایع-مایع پراکنده (DLLME) است که برای استخراج ترکیبات بسیار قطبی مفید است. تعیین مقدار نیتروژن دی اتانول آمین توسط روش کروماتوگرافی مایع توسط دتکتور فرابنفش/مرئی (LC-UV/Vis) صورت می گیرد. در این روش، تحت شرایط بهینه، مخلوطی از استون (حلال پخش کننده) و آب (حلال استخراج) به سرعت به محلول تولوئن تزریق می گردد. حلال ها با استفاده از استات آمونیوم به عنوان فاز متحرک به سیستم LC-UV/Vis تزریق شده و پس از جداسازی کروماتوگرافی، محلول شستشو از یک واحد فتولیز عبور کرده و سپس با معرف Griess ادغام

شده و در یک راکتور پس از ستون عبور داده می شود، تا نیتريت به یک رنگ آزو مشتق شود. در نهایت با روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه گیری می شود (۱۲). هم چنین تاکنون چند مورد ثبت اختراع برای تشخیص نیتروژن آمین ها انجام گردید، که در یک مورد روش میکرواستخراج مایع-مایع پراکنده خودکار برای تشخیص و تعیین کمیت N- نیتروژن آمین ها گزارش شده است. این روش شامل استخراج یک محلول آبی شامل N- نیتروژن آمین ها با مخلوط کردن یک حلال استخراج و یک حلال پراکنده با محلول آبی است، به طوری که N- نیتروژن آمین ها یا بخشی از آن، دوباره از محلول آبی به حلال استخراج جذب می گردند و سپس به محلول زمان داده می شود تا تشکیل یک مخلوط دو فازي حاوی یک فاز آبی حاوی محلول آبی با مقادیر کاهش یافته N- نیتروژن آمین و یک فاز آلی شامل حلال استخراج با N- نیتروژن آمین دهد. نیتروژن آمین استخراج شده و توسط کروماتوگرافی گازی- طیف سنج جرمی مورد آنالیز و کمیت سنجی قرار می گیرد و صحت سنجی روش بدین گونه تایید می گردد (۳۵).

کاربرد نانوذرات در تکنیک میکرو استخراج

تاکنون انواع نانو ذرات در تکنیک میکرو استخراج کاربرد پیدا کرده اند. با توجه به این که پارامترهایی مانند سطح ویژه، اندازه منافذ و حجم منافذ جاذب های مورد استفاده ویژگی های مهمی هستند که بر عملکرد جذب آنالیت هدف در تکنیک میکرواستخراج تأثیر می گذارند، استفاده از نانوجاذب ها به عنوان عامل جداسازی آنالیت هدف از نمونه مورد آنالیز، می تواند تأثیر مهمی در افزایش حساسیت و بهبود حد تشخیص در روش های کمیت سنجی نیتروژن آمین ها داشته باشد. هم چنین فاکتورهای مهم و تأثیرگذار دیگر در تایید اثرگذاری مثبت نانو جاذب ها در بهبود کمیت سنجی، گزینش پذیری نانو جاذب نسبت به آنالیت ها، نحوه عملکرد جاذب، ماندگاری طولانی، استفاده آسان و

توسعه نانو حسگرهای تشخیصی

امروزه نانومواد به طور گسترده در بسیاری از زمینه‌های صنعت، پزشکی، محیط زیست و بیوتکنولوژی استفاده می‌شود و این نانومواد، به علت ویژگی‌های منحصر به فرد خود، از جمله نسبت سطح به حجم بالا، دارای پتانسیل بالایی جهت کاربرد در آنالیز مواد مختلف می‌باشند (۳۹). هم‌چنین امکان ایجاد ساختارهای کوچک در مقیاس میکرو و نانو با استفاده از فناوری مواد جدید راه را به سوی ظهور فناوری‌های نوین در ساخت حسگرها گشوده است. روند فعلی بازار حسگرها و تجهیزات به سوی افزایش کارایی و استفاده هم‌زمان از حسگرهای مختلف و هم‌چنین کاهش اندازه، وزن و هزینه و توان مصرفی به همراه توسعه استفاده از ارتباطات بی‌سیم است. با پیشرفت‌های نانوتکنولوژی و به دنبال آن توسعه انواع حسگرهای بر پایه نانو ذرات (۴۰-۴۳)، در سال‌های اخیر تلاش‌هایی برای طراحی سامانه‌های تشخیصی نیتروز آمین‌ها بر این اساس صورت گرفته که می‌توان به DNA بیوسنسور مبتنی بر واکنش الکتروشیمیایی با استفاده از نانو نقاط کربنی برای تشخیص نیتروز آمین‌های موثاژن نیتروزو دی متیل آمین و نیتروزو دی اتانول آمین اشاره نمود. در این روش الکتروود کربن شیشه‌ای که سابقاً برای اندازه‌گیری نیتروز آمین‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفت (۴۴، ۴۵) با استفاده از نانو ذرات بهینه‌سازی گردید. فرآیند بهینه‌سازی توسط تثبیت نقاط کربنی پوشش دار شده با کیتوزان روی الکتروود کربن شیشه‌ای صورت گرفت. در نهایت الکتروود موردنظر تحت تکنیک ولتامتری پالس دیفرانسیل قرار گرفته و اختلاف جریان حاصل از حضور DNA بر روی الکتروود قرائت می‌گردد (۴۶).

بحث

در این مطالعه، مروری بر انواع ترکیبات نیتروز آمینی و روش‌های تشخیصی مورد استفاده برای ترکیب نیتروزو دی اتانول آمین، به عنوان نیتروز آمین بیش تر

مقرون به صرفه بودن می‌باشند. در یک روش، تکنیک میکرو استخراج برای تشخیص نیتروزودی اتانول آمین در لوازم آرایشی و سپس تعیین مقدار با کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی به کار گرفته شده است. با استفاده از فیبر بر پایه سیلیکا و استفاده از ترکیب آلومینیوم تری تری بوتوکسید و محلول‌های تولوئن و سدیم هیدروکسید، استخراج نیتروزو دی اتانول آمین از ماتریکس لوازم آرایشی انجام می‌گیرد. ترکیب آلومینیوم تری تری بوتوکسید در این روش به عنوان اسید لوویس عمل نموده و سبب افزایش سایت‌های فعال روی نانوفیبر شده تا جذب و استخراج نیتروزو دی اتانول آمین به مقدار بیش تر انجام گیرد (۳۶). نمونه‌ای دیگر از کاربرد نانوجاذب‌ها در جداسازی نیتروز آمین‌ها، استفاده از کامپوزیت‌های سیلیکا می‌باشد. براساس برهمکنش‌های خاص میان پیوند N-NO در نیتروز آمین و گروه آلومینیوم، کامپوزیت آمورف از سیلیکا با آلومینیوم اصلاح شده تا علاوه بر برهمکنش با ایجاد سایت‌های جذبی بیش تر، سیلیکا بتواند به عنوان جاذب نیتروز آمین‌های فرار عمل نماید و با دستگاه‌هایی مانند FT-IR تشخیص با حساسیت و دقت بالای این عامل فراهم گردد (۳۷). در مسیر توسعه این روش، تکنیک آنالیز نیتروز آمین‌ها مبتنی بر تکنیک میکرواستخراج جذبی-پراکنش با استیرر (Stirrer-Based Sorption-Dispersion Micro-Extraction-SBSDME)، برای تعیین هشت نوع از آنالیت N- نیتروز آمین در محصولات آرایشی و بهداشتی توسعه داده شد. در این روش برای آماده‌سازی نمونه، ابتدا یک پاکسازی ساده با هگزان انجام می‌شود تا آن دسته از ترکیبات بسیار چربی دوست که مرحله SBSDME را مختل می‌کنند، حذف شود. متعاقباً، SBSDME با استفاده از کامپوزیت نانوذرات مغناطیسی و ترکیب آلی فلز برای جداسازی، ۱۰۱-CoFe/MIL (Fe)، به عنوان جاذب برای به دام انداختن آنالیت‌های هدف استفاده شده و سپس توسط کروماتوگرافی مایع- طیف سنجی جرمی پشت سر هم اندازه‌گیری انجام می‌گردد (۳۸).

جداسازی دستگاهی همواره نیازمند دستگاه‌های ثانویه‌ای می‌باشند که امر تشخیص را فراهم سازد که این مورد از نظر هزینه‌های تحمیل شده بر اثر تهیه و نگهداری آن‌ها، مورد نگرانی می‌باشد. بدین منظور امروزه جهت سهولت فرآیند، انواع فناوری‌های نوین در حال توسعه می‌باشد که می‌توان به فرآیند میکرو استخراج به عنوان روشی ساده در جداسازی، پیش تغلیظ و استخراج اشاره نمود. هم‌چنین با پیشرفت و توسعه فناوری نانو، امید بر آن است که بتوان برای تشخیص و اندازه‌گیری ترکیبات نیتروزآمینی حسگرهای ویژه‌ای را براساس خصوصیات انواع نانو ذرات طراحی نمود تا به روش آنالیز ساده و دقیق، بر پایه این نانو حسگرها دست یافت.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت علوم تحقیقات و فناوری و مرکز تحقیقات فرآورده‌های گیاهی و دامی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، بواسطه حمایت مادی و علمی تشکر می‌نمایند.

یافت شده در لوازم آرایشی و بهداشتی صورت گرفت. با توجه به پیشرفت روز افزون این صنعت و نقش و کاربرد وسیع آن در ابعاد مختلف زندگی انسان‌ها و اهمیت سلامت این محصولات و از سوی دیگر برخی چالش‌ها و محدودیت‌های استفاده از ابزارهای آزمایشگاهی به ویژه در مناطق توسعه یافته، جهت تایید سلامت و کیفیت این مواد، نیاز به طراحی و توسعه تکنیک جایگزین برای این دستگاه‌ها وجود دارد. نکته قابل ملاحظه این است که تکنیک پیشنهادی، علاوه بر صرفه جویی در زمان و هزینه باید از دقت و اختصاصیت بالایی برخوردار باشد و برای محیط زیست نیز بی خطر باشد، تا بتوان با تکیه بر آن به نتایج موثری در آنالیز و تعیین مقدار ترکیب دست یافت. تکنیک‌های رایج و استاندارد شامل روش‌های کروماتوگرافی مایع و گازی می‌باشد. این تکنیک‌ها، علی‌رغم اعطای مزایایی از جمله انجام اتوماتیک فرآیند و دقت و اختصاصیت بالا، غالباً روش‌های زمان بر، پرهزینه و گاهی غیرقابل دسترسی می‌باشند. هم‌چنین قابل توجه است که تکنیک‌های

References

1. Mohamed HM. Green, environment-friendly, analytical tools give insights in pharmaceuticals and cosmetics analysis. *TrAC Trends Anal Chem* 2015; 66: 176-192.
2. Chen X, Li X. The impact of hazardous substances in cosmetics, and treatment measures. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2022; 1011(1): 012024.
3. Lavilla I, Cabaleiro N, Bendicho C. Chapter 14-Main Chemical Contaminants in Cosmetics: Regulatory Aspects and Analytical Methods. In: Salvador A, Chisvert A, editors. *Analysis of Cosmetic Products*. 2th ed. Boston: Elsevier; 2018. p. 331-383.
4. Grau J, Benedé JL, Chisvert A. Use of Nanomaterial-Based (Micro) Extraction Techniques for the Determination of Cosmetic-Related Compounds. *Molecules* 2020; 25(11): 2586.
5. Collier SW, Milstein SR, Orth DS, Jayasimhulu K. Quantitative assay of volatile and non-volatile N-nitrosamines by gas chromatography with an electrolytic conductivity detector. I. Method development and assay of N-nitrosodiethanolamine(NDELA) in creams and lotions. *J Soc Cosmet Chem* 1988; 39: 329-346.
6. Fernández-Alba AR, Agüera A. Nitrosamines. In: Worsfold P, Townshend A, Poole C, editors. *Encyclopedia of Analytical Science*. 2th ed. Oxford: Elsevier; 2005. p. 197-202.
7. Danish Khan A, Alam M. Cosmetics And

- Their Associated Adverse Effects: A Review. *Journal Of Applied Pharmaceutical Sciences And Research* 2019; 2(1): 1-6.
8. Beard JC, Swager TM. An Organic Chemist's Guide to N-Nitrosamines: Their Structure, Reactivity, and Role as Contaminants. *J Org Chem* 2021; 86(3): 2037-2057.
 9. Lim DS, Roh TH, Kim MK, Kwon YC, Choi SM, Kwack SJ, et al. Risk assessment of N-nitrosodiethylamine (NDEA) and N-nitrosodiethanolamine (NDELA) in cosmetics. *J Toxicol Environ Health A* 2018; 81(12): 465-480.
 10. Aqeel A, Lim HJ. Role of various factors affecting the photochemical treatment of N-nitrosamines related to CO(2) capture. *Environ Technol* 2020; 41(11): 1391-1400.
 11. Loeppky Rn. The Mechanism Of Bioactivation Of N-Nitrosodiethanolamine*. *Drug Metab Rev* 1999; 31(1): 175-193.
 12. Chisvert A, Benedé JL, Peiró M, Pedrón I, Salvador A. Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products by reversed-phase dispersive liquid-liquid microextraction followed by liquid chromatography. *Talanta* 2017; 166: 81-86.
 13. Bronaugh RL, Congdon ER, Scheuplein RJ. The effect of cosmetic vehicles on the penetration of N-nitrosodiethanolamine through excised human skin. *J Invest Dermatol* 1981; 76(2): 94-96.
 14. Matyska MT, Pesek JJ, Yang L. Screening method for determining the presence of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics by open-tubular capillary electrochromatography. *J Chromatogr A* 2000; 887(1-2): 497-503.
 15. National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 14223, N-Nitrosodiethanolamine. Retrieved July 4, 2023. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/N-Nitrosodiethanolamine>.
 16. Franz TJ, Lehman PA, Franz SF, North-Root H, Demetrulias JL, Kelling CK, et al. Percutaneous penetration of N-nitrosodiethanolamine through human skin (in vitro): comparison of finite and infinite dose applications from cosmetic vehicles. *Fundam Appl Toxicol* 1993; 21(2): 213-221.
 17. Lethco EJ, Wallace WC, Brouwer E. The fate of N-nitrosodiethanolamine after oral and topical administration to rats. *Food Chem Toxicol* 1982; 20(4): 401-406.
 18. Airolidi L, Bonfanti M, Benfenati E, Tavecchia P, Fanelli R. Identification of an acidic metabolite of N-nitrosodiethanolamine isolated from rat urine. *Biomed Mass Spectrom* 1983; 10(5): 334-337.
 19. Magee PN. Metabolism Of Nitrosamines: An Overview. In: Coon MJ, Conney AH, Estabrook RW, Gelboin HV, Gillette JR, O'Brien PJ, editors. *Microsomes, Drug Oxidations and Chemical Carcinogenesis*. Cambridge: Academic Press; 1980. p. 1081-1092.
 20. Scanlan RA. Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Cancer Res* 1983; 43(5 Suppl): 2435s-2440s.
 21. Li Y, Hecht SS. Metabolic Activation and DNA Interactions of Carcinogenic N-Nitrosamines to Which Humans Are Commonly Exposed. *Int J Mol Sci* 2022; 23(9): 4559.
 22. Barnes JL, Zubair M, John K, Poirier MC, Martin FL. Carcinogens and DNA damage. *Biochem Soc Trans* 2018; 46(5): 1213-1224.
 23. Young JC. Detection and determination of n-nitrosamines by thin-layer chromatography using fluoescamine. *J Chromatogr* 1976; 124(1): 17-28.
 24. Cox RD, Frank CW, Nikolaisen LD, Caputo RE. Screening procedure for determination

- of total N-nitroso content in urine. *Anal Chem* 1982; 54(2): 253-256.
25. Frank CW, Nord PJ, Cox RD. Method and composition for determination of n-nitrosamines. U. o. I. R. Foundation. United States of America. (1979). Available from: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=US37238205&_cid=P10-LJPCLE-57903-1.
 26. Fukuda Y, Morikawa Y, Matsumoto I. Ion-exchange chromatographic separation of N-nitrosodiethanolamine in cosmetics. *Anal Chem* 1981; 53(13): 2000-2003.
 27. Tunick M, Veale HS, Harrington GW. Qualitative detection of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products. *Food Chem Toxicol* 1982; 20(4): 473-474.
 28. Flower C, Carter S, Earls A, Fowler R, Hewlins S, Lalljie S, et al. A method for the determination of N-nitrosodiethanolamine in personal care products-collaboratively evaluated by the CTPA Nitrosamines Working Group. *Int J Cosmet Sci* 2006; 28(1): 21-33.
 29. Joo KM, Shin MS, Jung JH, Kim BM, Lee JW, Jeong HJ, et al. Determination of N-nitrosodiethanolamine, NDELA in cosmetic ingredients and products by mixed mode solid phase extraction and UPLC-tandem mass spectrometry with porous graphitic carbon column through systemic sample pre-cleanup procedure. *Talanta* 2015; 137: 109-119.
 30. Lu S, Wu D, Li G, Lv Z, Gong P, Xia L, et al. Facile and sensitive determination of N-nitrosamines in food samples by high-performance liquid chromatography via combining fluorescent labeling with dispersive liquid-liquid microextraction. *Food Chem* 2017; 234: 408-415.
 31. Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A. A comprehensive look at solid-phase microextraction technique: A review of reviews. *Microchem J* 2020; 152: 104319.
 32. Spietelun A, Marcinkowski Ł, de la Guardia M, Namieśnik J. Recent developments and future trends in solid phase microextraction techniques towards green analytical chemistry. *J Chromatogr A* 2013; 1321: 1-13.
 33. Yamini Y, Rezazadeh M, Seidi S. Liquid-phase microextraction-The different principles and configurations. *TrAC Trends Anal Chem* 2019; 112: 264-272.
 34. Sarafraz-Yazdi A, Amiri A. Liquid-phase microextraction. *TrAC Trends Anal Chem* 2010;29(1):1-14.
 35. AMAYREH, C.B.Y. (2017). N-nitrosamine determination in aqueous samples with sonication and microextraction. United States, King Fahd University of Petroleum and Minerals. Available from: https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=US205086280&_cid=P10-LJPDZG-93228-1.
 36. Davarani SSH, Masoomi L, Banitaba MH, Zhad HRLZ, Sadeghi O, Samiei A. Determination of N-nitrosodiethanolamine in cosmetic products by headspace solid phase microextraction using a novel aluminum hydroxide grafted fused silica fiber followed by gas chromatography-mass spectrometry analysis. *Talanta* 2013; 105: 347-53.
 37. Cao Y, Shi LY, Zhou CF, Yun ZY, Wang Y, Zhu JH. Novel Amorphous Functional Materials for Trapping Nitrosamines. *Environ Sci Technol* 2005; 39(18): 7254-7259.
 38. Miralles P, van Gemert I, Chisvert A, Salvador A. Stir bar sorptive-dispersive microextraction mediated by magnetic nanoparticles-metal organic framework composite: Determination of N-nitrosamines in cosmetic products. *J Chromatogr A* 2019; 1604: 460465.

39. Ahmadi M, Elmongy H, Madrakian T, Abdel-Rehim M. Nanomaterials as sorbents for sample preparation in bioanalysis: A review. *Anal Chim Acta* 2017; 958: 1-21.
40. Semyari M, Gill P, Kenari SA, Rafati A. A Label-Free Optical Nanobiosensor for Measurement of HbA1c via Portable Reader. *Biointerface Res Appl Chem* 2022; 13(3): 291.
41. Rafati A, Zarrabi A, Abediankenari S, Aarabi M, Gill P. Sensitive colorimetric assay using insulin G-quadruplex aptamer arrays on DNA nanotubes coupled with magnetic nanoparticles. *R Soc Open Sci* 2018; 5(3): 171835.
42. Mohammadi A, Gill P, Ebrahimnejad P, Abediankenari S, Kashi Z. DNA-based Nanostructures as Novelty in Biomedicine. *Novelty in Biomedicine* 2022; 10(1): 43-75 (Persian).
43. Dorosti N, Gill P, Rafati A. Aptamer-based hybrid nanomaterials for food safety assay. *Int J Bio-Inorg Hybr Nanomate* 2020; 9(3): 149-177 (Persian).
44. Gorski W, Cox JA. Amperometric Determination of N-Nitrosamines in Aqueous Solution at an Electrode Coated with a Ruthenium-Based Inorganic Polymer. *Anal Chem* 1994; 66(17): 2771-2774.
45. Mentana A, Palermo C, Iammarino M, Chiaravalle AE, Centonze D. Electroanalytical characterisation of nitrosamines in different mobile phases as supporting electrolytes. *Microchem J* 2021; 171(2): 106885.
46. Majumdar S, Thakur D, Chowdhury D. DNA Carbon-Nanodots based Electrochemical Biosensor for Detection of Mutagenic Nitrosamines. *ACS Appl Bio Mater* 2020; 3(3): 1796-1803.