

Development of a Solid Phase Microextraction Method WITH Carbon Fiber for Extraction and Preconcentration of 1,4-Dioxane FROM Cosmetic SAMPLES

Behrang Hamze-Khalifani¹, Mohammad Reza Vardast^{2*} 

¹ Ph. D. in Pharmacy, School of Pharmacy, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

² Assistant Professor of Medicinal Chemistry, School of pharmacy, Urmia University of Medical Science, Urmia, Iran

(Corresponding Author)

ARTICLE INFO

Article History:

Received:

24-Apr-2025

Revised:

18-May-2025

Accepted:

21-May-2025

Available online:

26-May-2025

Keywords:

Solid-phase
microextraction (SPME);
1,4-Dioxane; Cosmetics
samples; Carbon fiber

Abstract

Background & Aims: 1,4-Dioxane, a cyclic ether commonly employed in chemical and syntheses processes as a solvent, is now a probable human carcinogen. It is frequently found as a byproduct of detergents and personal care products, so reliable analytical methods to locate and quantify it in cosmetics are important for compliance, regulatory, and public health reasons.

Materials & Methods: We developed an optimized headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) method that has the modified carbon fiber as the extraction phase when coupled with GC-FID. The analytical method also allows us to take the best of liquid-liquid extraction and HS-SPME together for better sensitivity in cosmetic matrices.

Results: The method provided adequate sensitivity, detection limit (LOD) of 0.4 µg/kg and quantitation limit (LOQ) of 1.2 µg/kg. The linear dynamic range was 1.5-300 µg/kg, $R^2 > 0.999$, precision of 5.8% as RSD at 25 µg/kg, n=6. The carbon fiber modified with aniline/pyrrole/graphene oxide extraction phase had longer extraction times, but was more efficient than conventional fibers due to its π - π modified interactions as well as more areas of contact and surface hydrophobicity.

Conclusion: This method for the headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-flame ionization detection (HS-SPME-GC-FID) provides a sensitive, reliable, and solvent free method for monitoring, locating, and quantifying 1,4-dioxane in cosmetics to comply with regulatory standards of monitoring carcinogens. The modified carbon fiber exhibits exceptional performance for trace-level extraction of this challenging analyte.

How to cite this article: Hamze-Khalifani B, Vardast MR. Rare gastric schwannoma presenting with severe gastrointestinal bleeding: a case report.. *Studies in Medical Sciences*. 2025;36(1):63-77. (Persian)

*Corresponding Author; Email: mrvardast@gmail.com, vardast.mr@umsu.ac.ir Tel: +984432754990 (152)



This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copying and redistributing the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

1,4-Dioxane ($C_4H_8O_2$) is a cyclic ether byproduct of ethoxylation in surfactant manufacturing, and chronic contaminant in personal care products like lotions, shampoos and liquid soaps. 1,4-Dioxane is a classified "likely human carcinogen" in the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) (1), and Group 2B ("possibly carcinogenic") chemical according to the International Agency for Research on Cancer (IARC) (2). The identification of 1,4-dioxane in cosmetics raises immediate public health concerns. It is a moderately volatile organic compound (38 mmHg at 25°C) and highly soluble in water, which means it is very absorbable through the skin with the potential for systemic exposure (4). Agencies require ultra-sensitive analysis approaches because 1,4-dioxane concentrations below $\mu\text{g/kg}$ have been shown to be harmful (10). Conventional analysis methods such as liquid-liquid extraction (LLE) have the disadvantages of high solvent and sample consumption, poor reproducibility, and inefficiencies due to the complexity of the matrix sample problems (9,13). In contrast, solid-phase microextraction (SPME) methods developed by Arthur et. al. (18), offer a solid state, low cost and simple alternative to traditional analysis methods that also increase sensitivity. This study introduces a new SPME method using graphene oxide functionalized carbon fibers in a procedure designed to optimize and increase extraction efficiencies of liquid matrix samples whilst addressing the complex interferences caused by the matrix of cosmetic samples in general.

Methods

High-purity nitrogen gas (99.99%), 1,4-dioxane, methanol, graphene oxide, pyrrole, and aniline (Merck, Germany) were utilized. Analysis samples were subjected to a Shimadzu GC-FID with an Rtx-5 column (30 m $\times$ 0.25 mm ID, 0.25 μm film), while the fibers

were electrochemically coated using an electrochemical coating system.

Fiber Modification: Carbon fibers were electrochemically coated with polyaniline, polypyrrole, and graphene oxide over 50 cycles, taking advantage of the large surface area and chemical stability of graphene (15,16). **HS-SPME Optimization:** The HS-SPME parameters included extraction temperature (25–55°C), length of fiber (0.5–2 cm), time (2–12 min), and stirring speed (100–1,000 rpm), according to SPME method development (23). **GC-FID:** The temperature program of the oven was from 40°C (2 min) to 120°C (2 min), at 35°C/min, with FID detector at 250°C, with methods for volatile organic compounds (5).

Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ) were determined using spiked samples. Matrix effects in shampoos and liquid soaps were assessed by standard addition, addressing the matrix complexities noted in environmental matrices (4).

Results

Analytical Performance

The method exhibited very high sensitivity, with LOD and LOQ values of 0.4 $\mu\text{g/kg}$ and 1.2 $\mu\text{g/kg}$, respectively, which were better than previous SPME approaches for 1,4-dioxane (e.g., LOD = 1.0 $\mu\text{g/kg}$, Shirey and Linton (21)). A range of linearity from 1.5–300 $\mu\text{g/kg}$ ($R^2 = 0.9993$) was demonstrated as well as precision (RSD = 5.8%, $n = 6$) and recovery (87–103%) that also at least met requirements established by the FDA guidelines. These results also demonstrate better reproducibility when compared to SPE methods, which are frequently cited as having RSD >10% (22).

Optimized Parameters

Fiber Length: 1.5 cm allow for the maximum area without sacrificing mechanical stability of the fiber (20). **Extraction Time:** The 8 minute extraction time at 35°C was a good balance of efficiency and practicality as opposed to earlier studies which instructed for longer

extraction times (15 to 30 min) for SPME (24). Solvent: The dichloromethane/n-hexane (1:1, v/v) combined solvent gave the best desorption efficiency. Reuse: The fiber maintained >90% efficiency over five cycles. This is in part attributable to the durability of graphene oxide as well as the adsorbent strength of the coating (16). The high adsorption capacity and chemically inert nature of the graphene oxide coating also helped to minimize matrix interference resulting from surfactants and fragrances common during analysis of cosmetic products (17). This is inline with graphene oxide's recent developments for carbon-based sorbents and analysis of volatile organic compounds (15). With the solvent-free composition, the overall nature of the method reduces environmental concerns associated with LLE and is in line with green chemistry (9). Jones and Munch's SPE-GC/MS method using GC/MS, would likely require more complicated pretreatment of samples, whereas this workflow allows scientists to clearly retain sensitivity (22).

Conclusion

This study develops a reliable HS-SPME/GC-FID method to detect 1,4-dioxane in cosmetics with high sensitivity (LOD = 0.4 µg/kg) and precision (RSD <6%) and improved eco-efficiency. The functionalized carbon fibers showed excellent reusability with validity established using independent spaghetti design experiments, thus their reusability will minimize the cost related to the frequency of analysis. Future work

will apply many of the features of this methodology (e.g. HS-SPME) on solid matrices (e.g. powders) using adaptations to the extraction of magnetic carbon nanotubes (17) and assess cross-sensitivity to similar contaminants like epichlorohydrin (6).

Acknowledgments

The authors acknowledge Urmia University of Medical Sciences for infrastructure support, building on prior microextraction research.

Authors' Contributions

Behrang Hamzeh Khalifani: experimentation, methodology, and data analysis.

Mohammadreza Vardast: Manuscript editing, supervision, and validation.

Data Availability

Data are available upon request from the corresponding author.

Conflict of Interest

The authors have no competing financial or personal interests.

Ethical Statement

Approved by the Ethics Committee of Urmia University of Medical Sciences (Code: IR.UMSU.REC.1401.210).

Funding/Support

Supported by Urmia University of Medical Sciences.

توسعه روش میکرو استخراج فاز جامد با فیبر کربنی برای استخراج و پیش تغلیظ ۱ و ۴-دی اکسان از نمونه‌های آرایشی بهداشتی

بهرنگ حمزه خلیفانی^۱، محمدرضا وردست^{۲*} 

^۱ دکتری عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

^۲ استادیار گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: ۱ و ۴-دی اکسان یک ترکیب اتر حلقوی است که به‌عنوان حلال در واکنش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. با توجه به خاصیت سرطان‌زایی این ترکیب، کنترل و اندازه‌گیری آن در محصولات آرایشی-بهداشتی و شوینده‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است.

مواد و روش کار: در این پژوهش، یک روش میکرواستخراج فاز جامد (SPME) بر پایه فیبر کربنی اصلاح‌شده برای استخراج و پیش تغلیظ ۱ و ۴-دی اکسان از نمونه‌های آرایشی-بهداشتی توسعه داده شد. این روش با استخراج از فضای فوقانی (HS-SPME) تلفیق شد و آنالیز نهایی توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (GC-FID) انجام گرفت.

یافته‌ها: حد تشخیص (LOD) و حد اندازه‌گیری (LOQ) روش به ترتیب ۰/۴ و ۱/۲ میکروگرم بر کیلوگرم بود. محدوده خطی روش ۱/۵ تا ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم را پوشش داد. انحراف استاندارد نسبی (RSD%) برای غلظت ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم (n=6) برابر با ۵/۸ درصد بود که نشان‌دهنده دقت و تکرارپذیری مطلوب روش است. فیبر کربنی اصلاح‌شده با آنیلین، پیرول و گرافن اکسید کارایی بالایی در استخراج ۱ و ۴-دی اکسان نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری: روش پیشنهادی HS-SPME/GC-FID با استفاده از فیبر کربنی اصلاح‌شده، یک روش حساس، سریع و کم‌هجم برای اندازه‌گیری ۱ و ۴-دی اکسان در نمونه‌های آرایشی-بهداشتی است. این روش از کروماتوگرام‌های مطلوب، حد تشخیص پایین و انتخاب‌گری مناسب برخوردار بوده و می‌تواند برای پایش این آلاینده در محصولات مصرفی مورد استفاده قرار گیرد.

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله

تاریخ دریافت:

۱۴۰۴/۰۲/۰۴

تاریخ بازنگری:

۱۴۰۴/۰۲/۲۸

تاریخ پذیرش:

۱۴۰۴/۰۲/۳۱

تاریخ انتشار:

۱۴۰۴/۰۳/۰۵

کلیدواژه‌ها

میکرواستخراج فاز جامد (SPME)، ۱ و ۴-دی اکسان، محصولات آرایشی-بهداشتی، فیبر کربنی

بخار ۳۸ mmHg در ۲۵ درجه سانتی‌گراد، این ترکیب می‌تواند به راحتی از طریق پوست جذب شود (۴).

روش‌های تحلیلی متعددی برای اندازه‌گیری ۱ و ۴-دی اکسان گزارش شده است که به دلیل فراریت این ماده عمدتاً بر پایه کروماتوگرافی گازی (GC) با انواع دتکتورها از جمله دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و دتکتور اسپکتروسکوپی جرمی (MS) هستند (۵-۷). با این حال، به دلیل غلظت‌های بسیار پایین (در حد میکروگرم بر لیتر ppb) در محصولات نهایی و ماتریکس‌های پیچیده، توسعه روش‌های استخراج کارآمد ضروری است (۸).

مقدمه

۱ و ۴-دی اکسان ($C_4H_8O_2$) به‌عنوان یک ترکیب اتری حلقوی، به‌طور گسترده در محصولات آرایشی-بهداشتی مانند شامپوها، صابون‌ها و لوسیون‌ها وجود دارد که می‌تواند از فرایند اتوکسیلاسیون سورفکتانت‌ها و پلیمرها و یا باقیمانده در انواع حلال‌های مورد استفاده به‌عنوان ناخالصی وجود دارد (۱). این ترکیب به دلیل پتانسیل سرطان‌زایی و سمیت کبدی، توجه سازمان‌های نظارتی مانند EPA و IARC را به خود جلب کرده است (۲،۳). با توجه به حلالیت بالا در آب (حلالیت کامل) و فراریت متوسط (فشار

Memmont _ UF B400 هیتر و همزن مغناطیسی مدل Heidolph، سرنگ SPME، دستگاه GC مدل shimadzu با مشخصات (دتکتور FID، ستون Rtx-5، $L=30$ meter، ID = 0.25، Film thickness = 0.25 و نرم‌افزار labsolution). تمامی دستگاه‌های مورداستفاده قبل از انجام آزمایش‌ها کالیبره شده و تحت شرایط استاندارد مورد بهره‌برداری قرار گرفتند.

روش کار:

در این پژوهش، به‌منظور افزایش کارایی فیبرهای کربنی، ابتدا سطح آن‌ها با استفاده از پیرو، آنیلین و گرافن اکساید به روش الکتروشیمیایی پوشش‌دهی شد. در این فرآیند، پیرو و آنیلین به‌صورت پلیمرهای پلی‌آنیلین و پلی‌پیرو همراه با گرافن اکساید بر روی فیبر کربنی تثبیت شدند. با تکرار ۵۰ باره این پوشش‌دهی، ضخامت مناسبی از جاذب روی فیبر تشکیل گردید.

در مرحله بعد، شرایط کروماتوگرافی گازی و استخراج مایع-مایع موردبررسی و بهینه‌سازی قرار گرفت. پس از بهینه‌سازی این شرایط، روش استخراج از فضای فوقانی (HS) برای آنالیز ۱ و ۴-دی اکسان در نمونه‌های شامپو و صابون مایع به کار گرفته شد. همچنین، پارامترهای مؤثر در استخراج از فضای فوقانی نیز بهینه گردید.

فرآیند استخراج آنالیت از نمونه در دو مرحله انجام شد: الف) استخراج مایع-مایع (LLE) برای جداسازی آنالیت از ماتریس پیچیده نمونه‌های شامپو و صابون مایع. ب) جذب آنالیت بر روی فیبر کربنی اصلاح‌شده به روش استخراج از فضای فوقانی (HS-SPME). درنهایت، آنالیت‌های استخراج‌شده با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

شرایط بهینه کروماتوگرافی گازی:

به‌منظور دستیابی به نتایج قابل اعتماد، شرایط مختلف در کروماتوگرافی گازی برای آنالیز ۱ و ۴-دی اکسان موردبررسی قرار گرفت و برنامه‌ریزی دمایی مختلف، بهینه‌سازی دمای دریچه تزریق، دتکتور و سایر پارامترها بهینه گردید و نتایج حاصل در جدول ۱ خلاصه شده است.

روش‌های سنتی استخراج مانند استخراج مایع-مایع (LLE) و استخراج فاز جامد (SPE) دارای محدودیت‌هایی ازجمله مصرف بالای حلال‌های آلی، زمان‌بر بودن و بازدهی متغیر هستند (۹،۱۰). در مقابل، روش‌های میکرواستخراجی مانند میکرواستخراج فاز جامد (SPME) به دلیل مزایای منحصربه‌فردی مانند مصرف کم نمونه، عدم نیاز به حلال و امکان اتوماسیون، گزینه‌های مناسبی محسوب می‌شوند (۱۱،۱۲).

در سال‌های اخیر، استفاده از جاذب‌های اصلاح‌شده با نانومواد در روش‌های میکرواستخراجی توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۱۳،۱۴). فیبرهای کربنی اصلاح‌شده به دلیل ویژگی‌های منحصربه‌فردی ازجمله:

- مساحت سطح بالا (۱۵).
- پایداری حرارتی مناسب (تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد) (۱۶).
- امکان اصلاح سطح با گروه‌های عاملی مختلف (۱۷).
- گزینه‌های ایده آلی برای استخراج ترکیبات آلی فرار محسوب می‌شوند.

در این مطالعه، یک روش میکرواستخراج فاز جامد مبتنی بر فیبر کربنی اصلاح‌شده با گرافن اکساید، پیرو و آنیلین برای استخراج و پیش تغلیظ ۱ و ۴-دی اکسان از محصولات آرایشی-بهداشتی توسعه داده شده است (۱۸-۲۸).

مواد و روش کار

مواد شیمیایی مورد استفاده:

مواد شیمیایی بکار رفته شامل: گاز نیتروژن با درجه خلوص ۹۹/۹۹ درصد، ۱ و ۴-دی اکسان، متانول، اتانل، استون، سیکلو هگزانون، n- هگزان، تتراهیدرو فوران، دی متیل فرمالدهید، کربن، پیرو، آنیلین، نمک NaCl، آب دیونیزه که همگی از شرکت مرک تهیه گردید. فیبر کربن هم از الیاف کربنی موجود در بازار تهیه شد.

تجهیزات آزمایشگاهی:

حمام اولتراسونیک مدل Nohand Parsonic، اتولب مدل Electo Analyzer system SAMA، فور الکتریکی مدل

جدول ۱: شرایط بهینه GC به‌منظور آنالیز ۱ و ۴-دی اکسان

پارامتر	شرایط انتخابی
برنامه دمایی ستون	۴۰ درجه سانتی‌گراد (۲ دقیقه) با شیب ۳۵ درجه سانتی‌گراد تا ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد (۲ دقیقه)
نوع ستون	5 Rtx به طول ۳۰ متر و قطر داخلی و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میلی‌متر
دریچه تزریق	۱۵۰ درجه سانتی‌گراد با شکافتگی ۱ به ۲۰
آشکارساز	یونیزاسیون شعله‌ای با دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد

پارامتر	شرایط انتخابی
گاز حامل	نیتروژن با خلوص ۹۹/۹۹۹ درصد
سوخت	هیدروژن با سرعت ۴۰ میلی لیتر بر دقیقه
اکسیدان	هوا با سرعت ۴۰۰ میلی لیتر بر دقیقه

پوشش دهی فیبر کربنی:

به منظور بررسی تأثیر پوشش های مختلف بر عملکرد فیبر کربنی، پنج نوع فیبر با پوشش های متفاوت تهیه و مقایسه شدند:

فیبر ۱: شستشو با استون، متانول و آب دیونیزه، سپس پوشش دهی الکتروشیمیایی با آنیلین و سدیم دودسیل بنزن سولفات در ۵۰ چرخه و خشک کردن در ۱۵۰ درجه سانتی گراد.

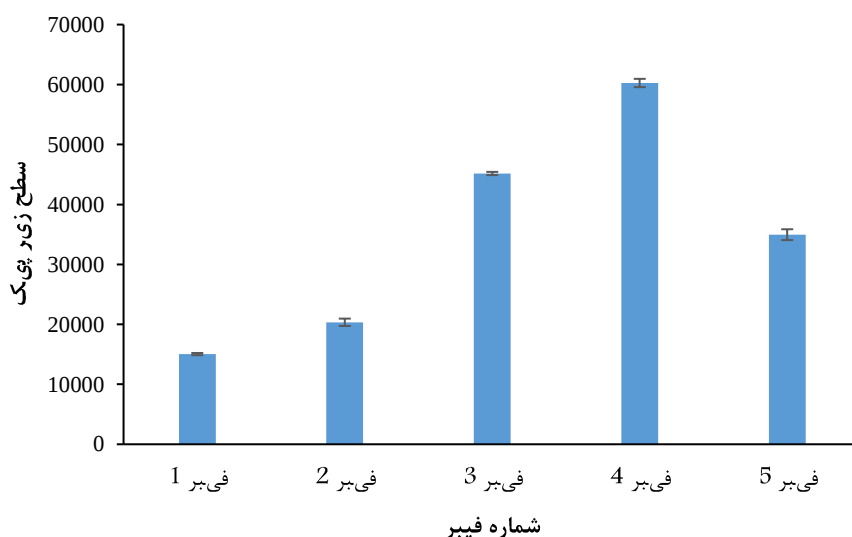
فیبر ۲: آماده سازی مشابه فیبر ۱، سپس پوشش دهی با آنیلین و اگزالیک اسید به روش اولتراسونیک و الکتروشیمیایی.

فیبر ۳: پوشش دهی الکتروشیمیایی با گرافن و سدیم دودسیل بنزن سولفات پس از آماده سازی.

فیبر ۴: پوشش دهی الکتروشیمیایی با گرافن اکساید، پیرول و آنیلین.

فیبر ۵: آماده سازی پیچیده شامل تیمار با آب اکسیژنه و پوشش دهی با آنیلین، تارتاریک اسید و آسپارتیک اسید در دمای پایین.

با توجه به نتایج حاصل از کاربرد این فیبرهای اصلاح شده، فیبر شماره ۴ (حاوی گرافن اکساید، پیرول و آنیلین) بالاترین کارایی جذب را نشان داد و برای مطالعات بعدی انتخاب شد. هرکدام از این فیبرها به سرنگ SPME توسط مخلوط THF و PVC متصل شدند و برای انجام جذب، به مدت ۱۵ دقیقه در فضای فوقانی ویال حاوی محلول ۵۰۰ ppm از ۱ و ۴- دی اکسان در متانول قرار گرفتند و سپس برای واجذب در وضعیت بهینه شده دستگاه کروماتوگرافی گازی به دستگاه تزریق شد. در ادامه، شکل ۲-۳، یک فیبر کربن پوشش داده شده متصل به یک سرنگ SPME را نمایش می دهد.

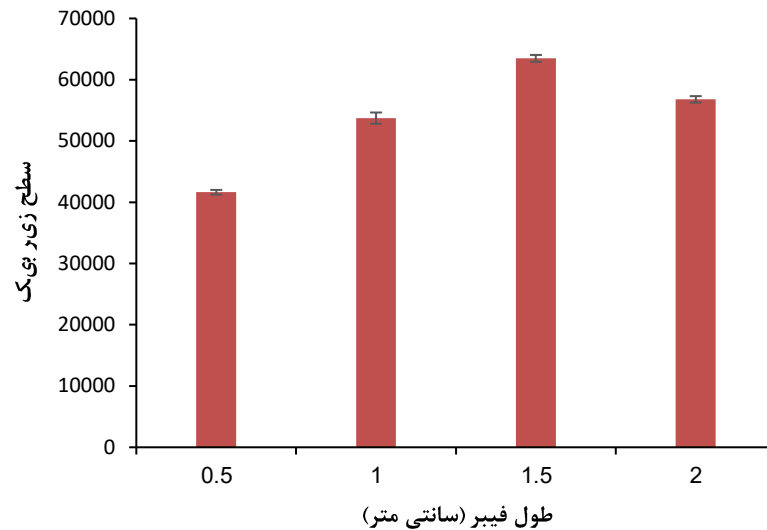


نمودار (۱). بررسی اثر نوع پوشش فیبر کربن بر میکرواستخراج فاز جامد

بهینه سازی طول فیبر

طول فیبر به علت تغییر در سطح جذب، اثر مستقیمی بر میزان استخراج آنالیت ها دارد. بعد از اتصال فیبر انتخاب شده به سرنگ SPME طول های ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ سانتی متری از فیبر طی چهار مرحله مجزا برش داده و بررسی قرار گرفتند. منظور از این طول،

طولی از فیبر است که بعد از اتصال، خارج از نیدل سرنگ باقی می ماند و قابل رؤیت است. طی این بررسی، تمام متغیرها به جز طول فیبر ثابت بودند و فقط تغییر طول فیبر بر میزان استخراج و مساحت زیر پیک آنالیت ها اثر گذار بود. نتایج این بررسی در نمودار ۲ آورده شده است. که نشان می دهد ۱/۵ سانتی متر بیشترین جذب را دارد.

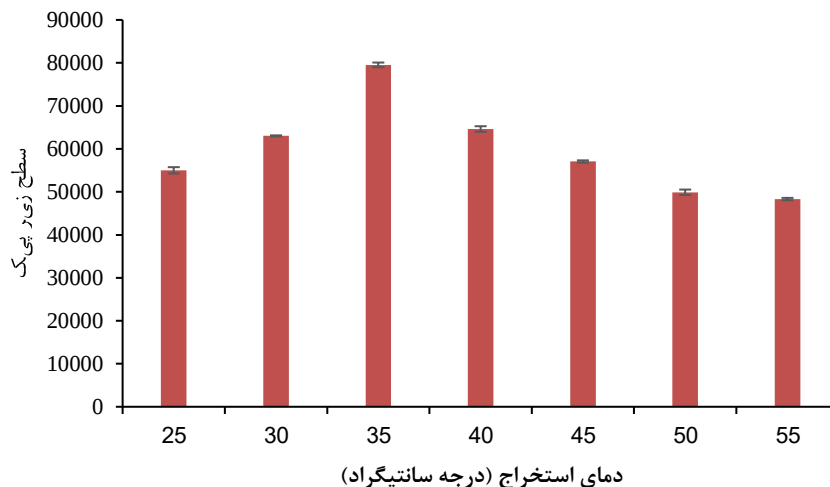


نمودار ۲: بررسی تأثیر طول فیبر بر میکرواستخراج فاز جامد

حدی بالا رود که اولاً سبب تخریب نمونه‌ها نشود و ثانیاً از کمترین دمای جوش مربوط به آنالیت‌ها کمتر باشد. با توجه به این نکات، دماهای ۲۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد با حدفصل ۵ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. با ثابت نگه‌داشتن سایر پارامترها، نمونه‌ها داخل حمام آب با دماهای مذکور قرار گرفتند و نتایج مطابق نمودار ۳ حاصل شدند.

بهینه‌سازی دمای استخراج

دمای نمونه با تأثیر بر حرکات ذرات نمونه، می‌تواند بر استخراج و جذب آنالیت‌ها توسط فیبر جاذب اثر بگذارد. با افزایش دما، تعداد حرکات مولکول‌های نمونه و همچنین انرژی جنبشی آن‌ها افزایش می‌یابد و در نتیجه احتمال برخورد مولکول‌های آنالیت با فیبر و جذب آن‌ها توسط فیبر افزایش پیدا می‌کند. اما دما بایستی تا



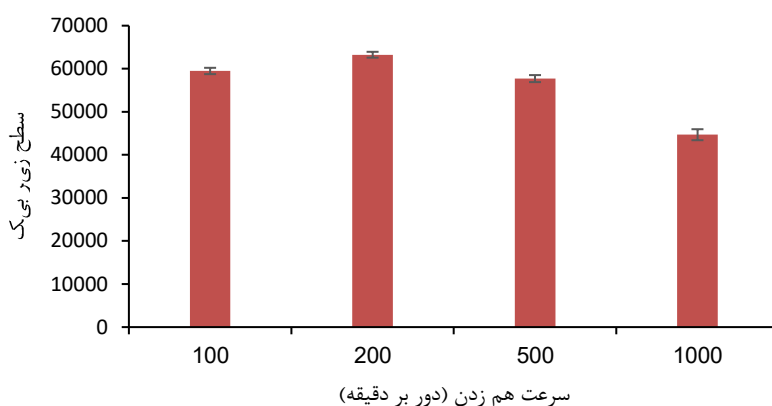
نمودار ۳: تأثیر دمای نمونه بر میکرواستخراج فاز جامد

فیبر می‌شود. برای هم زدن نمونه‌ها ابتدا مگنت کوچکی داخل نمونه‌ها قرار گرفت و سپس سر ویال‌ها محکم بسته شد و فرایند جذب و استخراج روی همزن مغناطیسی با سرعت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ دور بر دقیقه انجام گرفت. نتایج حاصل از این فرایند در نمودار ۴ ثبت شده است. نتایج ۲۰۰ دور بر دقیقه را مناسب از سایر موارد نشان می‌دهد.

با توجه به نمودار بالا، دمای ۳۵ درجه سلسیوس به عنوان دمای ایدئال نمونه جهت میکرو استخراج فاز جامد در این مطالعه انتخاب شد.

بهینه‌سازی سرعت هم زدن نمونه

هم زدن نمونه حین جذب، سبب ایجاد برهم‌کنش یکنواخت ذرات آنالیت‌ها و نیز افزایش احتمال برخورد آن‌ها با سطح جذب

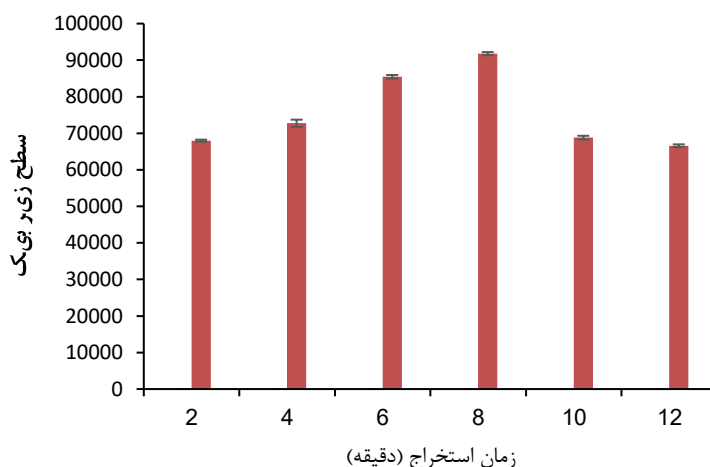


نمودار ۴: بررسی تأثیر سرعت هم زدن بر میکرواستخراج فاز جامد

کرده و سیستم ورود و خروج گاز را وصل کردیم. حدود ۵ میکرولیتر جاذب را در قسمت فوقانی سیستم اضافه کرده و بعد از گذشت زمان‌های ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰ و ۱۲ دقیقه تزریق به GC در شرایط بهینه صورت گرفت. نتایج به دست آمده به صورت زیر شد:

بررسی تأثیر زمان استخراج

برای بررسی زمان استخراج مشابه مراحل قبل مایع شفاف رویی را جدا کرده، دمای هیتر را روی ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم

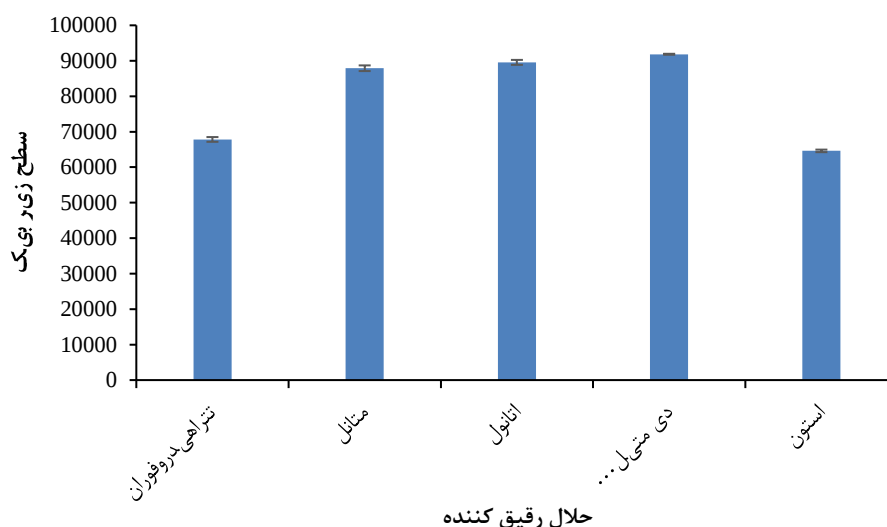


نمودار ۵: بررسی تأثیر زمان استخراج بر میکرواستخراج

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، زمان بهینه استخراج در این روش، ۸ دقیقه است. از این‌رو زمان ۸ دقیقه برای آزمایش‌های بعدی انتخاب می‌گردد.

بررسی نوع حلال رقیق‌کننده

حلال‌های مختلف رقیق‌کننده مورد بررسی قرار گرفت و همه شرایط بهینه رعایت شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، دی متیل فرمالدهید، به‌عنوان حلال رقیق‌کننده انتخاب شد.

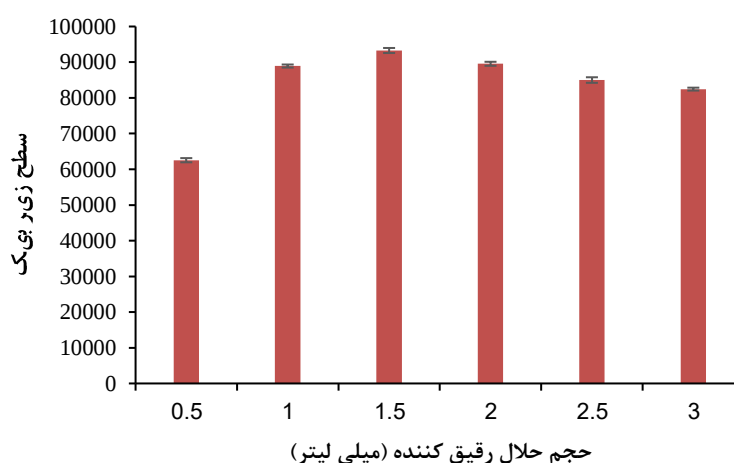


نمودار ۶: بررسی تأثیر نوع حلال رقیق‌کننده بر روی استخراج

بررسی حجم حلال رقیق‌کننده

با تغییر حجم حلال رقیق‌کننده و ثابت نگه‌داشتن سایر پارامترها نتایج نشان می‌دهد که تا حجم ۱/۵ میلی‌لیتر رلندمان استخراج افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. که احتمالاً به خاطر آن است که در حجم‌های پایین‌تر به دلیل ویسکوزیته بالا انتقال

آنالیت به فضای فوقانی به‌طور کامل صورت نمی‌گیرد و در حجم‌های بالاتر از ۱/۵ میلی‌لیتر هم به دلیل رقیق شدن محلول غلظت آن در فضای فوقانی کمتر است. لذا با نتایج حاصله حجم ۱/۵ میلی‌لیتر به‌عنوان حجم بهینه حلال رقیق‌کننده انتخاب و در آزمایش‌ها استفاده شده است.

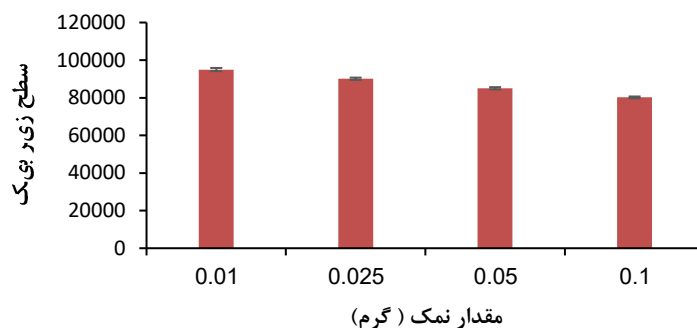


نمودار ۷: بررسی تأثیر حجم حلال رقیق‌کننده بر روی استخراج

بررسی اثر نمک زنی

نمک زنی چندان تأثیرگذار نبود و اضافه کردن نمک در بهبود استخراج در این روش تأثیرگذار نبوده است که می‌تواند به دلیل افزایش ویسکوزیته باشد. لذا آزمایش‌های بعدی بدون افزودن نمک انجام گرفت و اثر نمک زنی ناچیز در نظر گرفته شده است.

نتایج حاصل از افزودن مقادیر وزنی متفاوت از نمک NaCl نشان داد که در مقادیر بالا نمک اضافه‌شده به‌خوبی حل نشده و در ۰/۰۱ گرم بهترین نتیجه حاصل شد. البته نسبت به حالت بدون

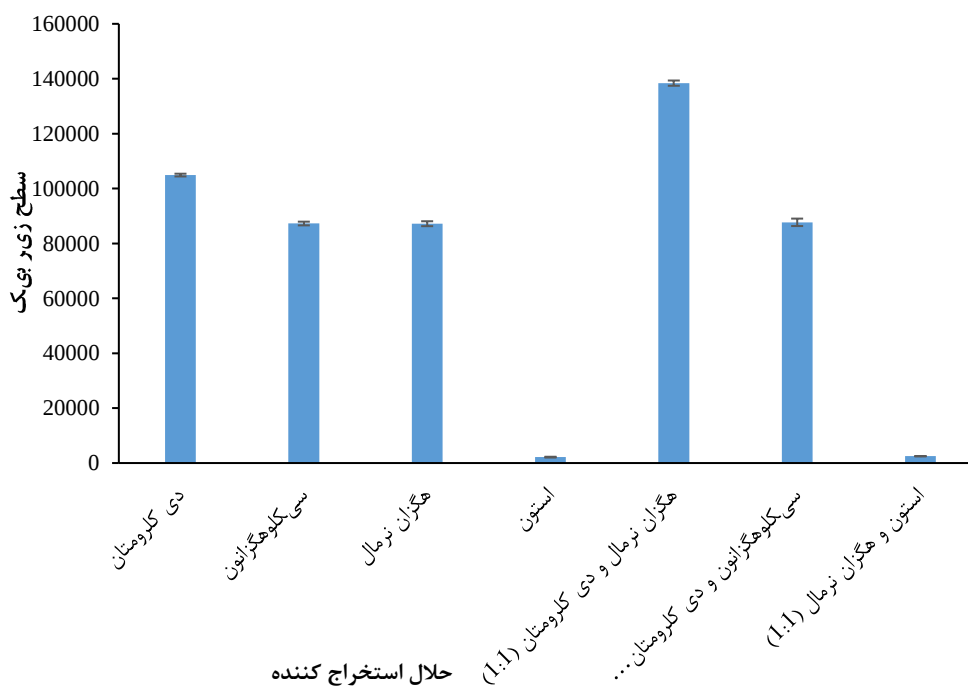


نمودار ۸: بررسی اثر نمک زنی بر روی استخراج

محیط‌زیست، ارزان‌قیمت و دارای رفتار مناسب کروماتوگرافیکی باشد. از این‌رو حلال‌های مورد استفاده به‌عنوان حلال استخراج‌کننده که شامل n-هگزان، دی‌کلرومتان، استون و سیکلو هگزانون و ترکیب ۱:۱ آن‌ها بودند انتخاب و نتایج حاصل از نتایج در نمودار زیر نشان داده شده است.

بررسی تأثیر نوع حلال استخراج‌کننده

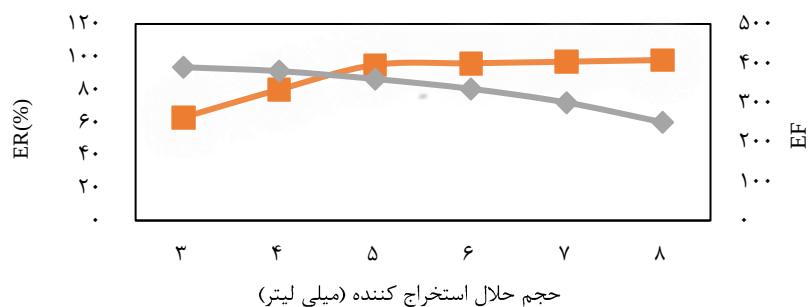
با توجه به اینکه انتخاب حلال یکی از مهم‌ترین مراحل استخراج LLE است لذا در این استخراج لازم است خود حلال دارای برخی خصوصیتی چون حلالیت بسیار کم در داخل نمونه آرایشی - بهداشتی، قابلیت استخراج ۴ و ۱- دی‌اکسان، سازگار با



نمودار ۹: بررسی تأثیر نوع حلال استخراج‌کننده بر روی استخراج

همان‌طور که از نتایج مشخص است مخلوط حلال‌های دی کلرومتان و n - هگزان به نسبت ۵۰:۵۰ حجمی/حجمی به‌عنوان استخراج‌کننده نتایج بهتری داشته لذا این ترکیب به‌عنوان حلال استخراج‌کننده در این روش مورد استفاده قرار گرفت. در مورد مخلوط استون و n - هگزان و استون تنها، بعد از سانتریفیوژ محلول حاصل دو فاز نشد.

بررسی تأثیر حجم حلال استخراج‌کننده

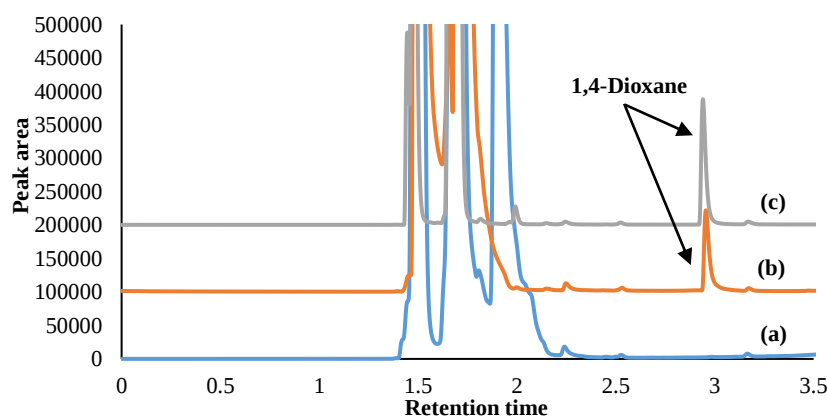


نمودار ۱۰: تأثیر حجم حلال استخراج‌کننده بر روی استخراج

است. انحراف استاندارد نسبی (RSD) برای غلظت ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم ($n=6$) ۵/۸ درصد محاسبه شد که بیانگر دقت مطلوب روش است. فیبر کربنی مورد استفاده در این روش تا ۵ بار مصرف، کارایی استخراج بالای ۹۰ درصد را حفظ کرد؛ اما پس از آن کاهش کارایی و تخریب جاذب مشاهده شد. کروماتوگرام‌های به‌دست‌آمده از نمونه‌های فاقد آنالیت، نمونه‌های حاوی آنالیت، و نمونه‌های اسپایک شده (نمودار ۱۱) نشان‌دهنده پاسخ‌های تجزیه‌ای مناسب و عدم وجود پیک‌های مزاحم بودند.

یافته‌ها

تکرارپذیری روش با انجام شش آزمایش مستقل بر روی شش محلول استاندارد مشابه (غلظت ۲۵ میکروگرم بر کیلوگرم از ۱ و ۴-دی اکسان) در نمونه‌های عاری از آنالیت ارزیابی شد. نتایج نشان داد که روش استخراج از فضای فوقانی دارای حد تشخیص (LOD) و حد اندازه‌گیری (LOQ) به ترتیب ۰/۴ و ۱/۲ میکروگرم بر کیلوگرم است. همچنین، محدوده خطی روش ۱/۵ تا ۳۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم با ضریب تعیین (R^2) برابر با ۰/۹۹۹۳ به دست آمد که نشان‌دهنده رابطه خطی قوی بین سیگنال تجزیه‌ای و غلظت آنالیت



نمودار ۱۱: کروماتوگرام نمونه‌های حقیقی استخراج‌شده به روش HS-SPME. (a) نمونه شامپو فاقد ۱ و ۴-دی اکسان (بلانک)، (b) نمونه شامپو بدون اسپایک، (c) نمودار نمونه شامپو با اسپایک ($30 \mu\text{g/kg}$)

روش توسعه‌یافته بر روی هفت نمونه شامپو و پنج نمونه صابون
مایع اعمال شد. برای بررسی اثر ماتریکس، از روش افزایش استاندارد
با چهار غلظت متفاوت استفاده گردید. نتایج نشان‌دهنده کارایی
خوب متد استخراجی مورد استفاده بود.

جدول ۲: مطالعه اثر ماتریکس در نمونه‌های حقیقی آرایشی بهداشتی (صابون مایع) استخراج‌شده به روش استخراج از فضای فوقانی

مقدار مشاهده‌شده محصول آرایشی بهداشتی (صابون مایع) μg/kg	مقادیر مشاهده‌شده بعد از اسپایک و درصد بازیابی ER% (با سه تکرار)	۵۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
A	۱۴۵ ± ۳/۸	۴۳/۸ ± ۳/۱	۲۴۴ ± ۶/۱	۴۸۶ ± ۱۰/۲	۹۸۲ ± ۸/۴
		۸۷/۶ ± ۱/۶	۹۷/۶ ± ۲/۴	۹۷/۲ ± ۲/۱	۹۸/۲ ± ۰/۹
B	۸۵/۷ ± ۲/۹	۴۸/۶ ± ۱/۸	۲۳۲ ± ۴/۲	۴۷۷ ± ۷/۵	۹۷۴ ± ۱۲/۷
		۹۷/۲ ± ۱/۱	۹۲/۸ ± ۱/۷	۹۵/۴ ± ۱/۵	۹۷/۴ ± ۱/۴
C	۵۷/۱ ± ۱/۵	۴۳/۵ ± ۱/۳	۲۳۹ ± ۳/۴	۴۹۰ ± ۶/۳	۹۴۲ ± ۱۵/۲
		۸۷ ± ۰/۸	۹۵/۶ ± ۱/۴	۹۸ ± ۱/۳	۹۴/۲ ± ۱/۵
D	۷۸/۴ ± ۲/۴	۴۴/۸ ± ۱/۶	۲۴۶ ± ۵/۵	۵۰۱ ± ۹/۱	۹۵۹ ± ۱۷/۳
		۸۹/۶ ± ۰/۹	۹۸/۴ ± ۲/۲	۱۰۰/۲ ± ۱/۸	۹۵/۹ ± ۱/۷
E	۹۳/۵ ± ۳/۱	۴۳/۹ ± ۲/۳	۲۴۰ ± ۴/۳	۴۷۰ ± ۸/۷	۹۶۱ ± ۱۸/۹
		۹۶/۸ ± ۱/۲	۹۶ ± ۱/۷	۹۴ ± ۱/۷	۹۶/۱ ± ۱/۹

جدول ۳: مطالعه اثر ماتریکس در نمونه‌های حقیقی آرایشی بهداشتی (شامپو) استخراج‌شده به روش استخراج از فضای فوقانی

مقدار مشاهده‌شده محصول آرایشی بهداشتی (شامپو) μg/kg	مقادیر مشاهده‌شده بعد از اسپایک و درصد بازیابی ER% (با سه تکرار)	۵۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
بچه جانسون	<LOD	-	-	-	-
A	۱۴۹ ± ۱/۵	۴۸/۳ ± ۱/۴	۲۴۵ ± ۴/۱	۴۸۷ ± ۸/۵	۹۵۶ ± ۱۲/۱
		۹۶/۶ ± ۲/۸	۹۸ ± ۱/۶	۹۷/۴ ± ۱/۷	۹۵/۶ ± ۱/۲
B	۱۲۶ ± ۲/۲	۴۶/۷ ± ۲/۹	۲۴۶ ± ۴/۷	۴۹۰ ± ۷/۲	۹۶۱ ± ۱۰/۸
		۹۳/۴ ± ۵/۸	۹۸/۴ ± ۱/۹	۹۸ ± ۱/۴	۹۶/۱ ± ۱/۱
C	۱۴۲ ± ۳/۱	۴۹/۱ ± ۲/۴	۲۴۸ ± ۵/۵	۴۷۵ ± ۶/۵	۹۷۴ ± ۱۴/۲
		۹۸/۲ ± ۴/۸	۹۹/۲ ± ۲/۲	۹۵ ± ۱/۳	۹۷/۴ ± ۱/۴
D	۱۲۱ ± ۴/۶	۵۱/۵ ± ۱/۷	۲۴۳ ± ۴/۶	۴۶۹ ± ۷/۸	۹۸۷ ± ۱۵/۶
		۱۰۳ ± ۳/۴	۹۷/۲ ± ۱/۸	۹۳/۸ ± ۱/۶	۹۸/۷ ± ۱/۶
E	۹۳/۷ ± ۴/۱	۵۰/۶ ± ۱/۵	۲۴۷ ± ۳/۳	۴۶۲ ± ۹/۳	۹۴۵ ± ۲۰/۴
		۱۰۱ ± ۳/۱	۹۸/۸ ± ۱/۳	۹۲/۴ ± ۱/۹	۹۴/۵ ± ۲/۰
F	۴۸/۳ ± ۳/۵	۴۸/۱ ± ۱/۳	۲۴۱ ± ۲/۹	۴۸۶ ± ۶/۷	۹۵۳ ± ۱۹/۳
		۹۶/۲ ± ۲/۶	۹۶/۴ ± ۱/۲	۹۷/۲ ± ۱/۳	۹۵/۳ ± ۱/۹
G	۶۶/۳ ± ۳/۰	۴۷/۸ ± ۱/۶	۲۴۳ ± ۳/۵	۴۸۰ ± ۶/۴	۹۴۹ ± ۲۲/۷
		۹۵/۶ ± ۳/۲	۹۷/۲ ± ۱/۴	۹۶ ± ۱/۳	۹۴/۹ ± ۲/۳

کروماتوگرافی گازی است. این روش از نظر حساسیت، دقت، و کارایی با مطالعات پیشین مقایسه شده است.
در خصوص حساسیت، حد تشخیص (LOD) و حد اندازه‌گیری (LOQ) روش حاضر به ترتیب ۰/۴ و ۱/۲ μg/kg است که در

بحث

روش توسعه‌یافته در این پژوهش برای اندازه‌گیری ۱ و ۴-دی اکسان در محصولات آرایشی-بهداشتی (شامپو و صابون مایع) مبتنی بر استخراج از فضای فوقانی (HS) به همراه آنالیز

در مقایسه با پژوهش‌های قبلی، روش فعلی دارای مزایای زیر است:

۱. حساسیت بالا ($LOD=0.4 \mu\text{g/kg}$) نسبت به بسیاری از روش‌های مبتنی بر HPLC-UV.
۲. دامنه خطی وسیع‌تری در مقایسه با روش‌های مشابه مانند GC-MS که فقط محدوده (ng/mL) را پوشش می‌دهد.
۳. سادگی و سرعت به دلیل حذف مراحل پیچیده پیش تغلیظ برخلاف روش (SPE).
۴. اقتصادی بودن با قابلیت استفاده مجدد از فیبر کربنی.
۵. عدم تأثیرپذیری از ماتریکس نمونه‌های آرایشی-بهداشتی.

نقاط ضعف و پیشنهادهای برای مطالعات آینده

با توجه به نتایج به دست آمده، روش فعلی در آنالیز نمونه‌های مایع مانند شامپو و صابون عملکرد مناسبی دارد، اما برای نمونه‌های جامد، به ویژه پودرهای آرایشی، نیاز به اصلاحاتی وجود دارد. این موضوع می‌تواند زمینه‌ای برای بهینه‌سازی‌های آینده باشد. همچنین بررسی تأثیر ترکیبات مشابه، مانند اتراهای گلیکولی، در کارایی روش پیشنهادی امری ضروری به نظر می‌رسد که می‌تواند در مطالعات بعدی مورد توجه قرار گیرد. در مجموع، مقایسه‌های انجام شده نشان می‌دهد که این روش توانسته است تعادل مناسبی بین حساسیت لازم، دقت بالا و کاربردی بودن در آنالیز نمونه‌های آرایشی-بهداشتی ایجاد کند.

تشکر و قدردانی

از تمامی افرادی که ما را در این مطالعه یاری نمودند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

مشارکت پدیدآوران

در این مطالعه نویسندگان در ایده‌پردازی اولیه، طراحی مطالعه، جمع‌آوری داده‌ها و تهیه پیش‌نویس مقاله مشارکت داشتند. همه نویسندگان نسخه نهایی را مطالعه و تأیید کرده‌اند. همچنین، در مورد بخش‌های مختلف آن هیچ اختلافی ندارند.

تعارض منافع

بدین وسیله نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی در این مطالعه نداشته‌اند.

منابع مالی

هزینه مالی این پژوهش توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه تأمین شده است.

ملاحظات اخلاقی

این مطالعه حاصل از نتایج پایاننامه دکتری عمومی داروسازی با کد اخلاق IR.UMSU.REC.1401.210 است که در دانشکده داروسازی ارومیه ثبت و به انجام رسیده است.

مقایسه با اکثر روش‌های گزارش شده (به‌ویژه روش‌های مبتنی بر GC-MS و HPLC-UV از حساسیت بالاتری برخوردار است. برای مثال Zhou et al. (2019) : با استفاده از GC-MS به $LOD=0.2 \text{ ng/mL}$ رسیدند، اما محدوده خطی آن‌ها $15/3-0/23 \text{ ng/mL}$ بسیار محدودتر از روش حاضر $1/5-300 \mu\text{g/kg}$ بود Scalia et al. (1990) با RP-HPLC-UV به $LOD=5.2 \text{ ng/mL}$ دست یافتند که حساسیت کمتری نسبت به روش این پژوهش دارد. همچنین در مورد محدوده خطی وسیع $1/5-300 \mu\text{g/kg}$ این روش امکان اندازه‌گیری غلظت‌های مختلف ۱، ۴-دی اکسان را در نمونه‌های واقعی فراهم می‌کند، درحالی‌که برخی روش‌های قدیمی‌تر مانند (Black et al. (2001) با محدوده $10-500 \text{ ng/mL}$ تنها برای غلظت‌های پایین مناسب بودند.

دقت و تکرارپذیری روش بررسی شد و انحراف استاندارد نسبی ($RSD=5.8\%$) برای غلظت $25 \mu\text{g/kg}$ نشان‌دهنده دقت مطلوب روش است. این مقدار با دقت گزارش شده در سایر مطالعات (مثلاً ۵ درصد در (۲۹) و ۴/۴ درصد در (۳۰)) قابل مقایسه است. ضریب تعیین ($R^2=0.9993$) نشانگر رابطه خطی قوی بین سیگنال و غلظت آنالیت است که از برتری‌های روش حاضر نسبت به برخی روش‌های قدیمی مانند HPLC-UV با R^2 پایین‌تر محسوب می‌شود.

کارایی استخراج و اثر ماتریکس هم بررسی شد و راندمان استخراج $>90\%$ و قابلیت استفاده مجدد از فیبر کربنی تا ۵ بار، این روش را از نظر اقتصادی و عملیاتی بهینه می‌سازد در مقایسه، برخی روش‌ها (مانند SPE در (۳۱)) نیاز به مراحل پیچیده‌تری دارند.

بررسی اثر ماتریکس با روش افزایش استاندارد در نمونه‌های واقعی (شامپو و صابون مایع) تأیید کرد که روش حاضر تحت تأثیر ترکیبات ماتریکس قرار نمی‌گیرد و پیک‌های مزاحمی در کروماتوگرام مشاهده نشد. این مزیت در مقایسه با روش‌های مبتنی بر GC-FID (که ممکن است با تداخل ترکیبات ماتریکس مواجه شوند) حائز اهمیت است.

نتیجه‌گیری

متد پیشنهادی با کارایی استخراج ۹۰ درصد، حساسیت مناسب و حد شناسایی (LOD) و حد کمترین مقدار قبل از اندازه‌گیری (LOQ) پایین، به‌عنوان گزینه‌ای مطلوب برای سنجش ۱، ۴-دی اکسان در محصولات آرایشی و بهداشتی مانند شامپو و صابون مایع شناخته می‌شود.

جمع‌بندی و مزیت‌های روش پیشنهادی

References

1. US Environmental Protection Agency. Technical fact sheet - 1,4-dioxane. Washington, DC: US EPA; 2017.
2. International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Volume 110: 1,4-dioxane. Lyon: IARC; 2014.
3. Negahban AR, Shahna FG, Rahimpour R, Jalali M, Rahiminejad S, Soltanian A, et al. Evaluating occupational exposure to carcinogenic volatile organic compounds in an oil-dependent chemical industry: a case study on benzene and epichlorohydrin. *J Occup Hyg Eng* 2014;1(1):36-42.
4. Zenker MJ, Borden RC, Barlaz MA. Occurrence and treatment of 1,4-dioxane in aqueous environments. *Environ Toxicol Chem* 2003;22(11):2765-75.
<https://doi.org/10.1089/109287503768335913>
5. Kawata K, Ibaraki T, Tanabe A, Yagoh H, Shinoda A, Suzuki H. Gas chromatographic determination of 1,4-dioxane in water at sub-ppb levels. *J Chromatogr A* 2001;911(1):75-83.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)01252-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)01252-8)
6. Gaca J, Wejnerowska G. Determination of epichlorohydrin in water and sewage samples. *Talanta* 2006;70(5):1044-50.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.02.017>
7. Loda C, Bernabe E, Nicoletti A, Bacchi S, Dams R. Determination of epichlorohydrin in active pharmaceutical ingredients by gas chromatography-mass spectrometry. *Org Process Res Dev* 2011;15(6):1388-91.
<https://doi.org/10.1021/op200203t>
8. Yan N, Wan X-F, Chai X-S, Chen R-Q. Determination of chlorinated volatile organic compounds in polyamine epichlorohydrin solution by headspace gas chromatography. *J Chromatogr A* 2017;1496:163-6.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.046>
9. Psillakis E, Kalogerakis N. Developments in liquid-phase microextraction. *Trends Anal Chem* 2003;22(9):565-74. [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(03\)01007-0](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01007-0)
10. Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J Chromatogr A* 2000;880(1-2):35-62.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00309-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00309-5)
11. Lord H, Pawliszyn J. Evolution of solid-phase microextraction technology. *J Chromatogr A* 2000;885(1-2):153-93.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00535-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00535-5)
12. Ouyang G, Pawliszyn J. Recent developments in SPME for on-site analysis and monitoring. *Anal Bioanal Chem* 2006;386(4):1059-73.
<https://doi.org/10.1007/s00216-006-0460-z>
13. Sarafraz-Yazdi A, Amiri A. Liquid-phase microextraction. *Trends Anal Chem* 2010;29(1):1-14. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2009.10.003>
14. Wu J, Pawliszyn J. Solid-phase microextraction coupled to capillary electrophoresis. *Anal Chem* 2001;73(1):55-63.
<https://doi.org/10.1021/ac000885x>
15. Chen J, Sheng K, Luo P, Li C, Shi G. Graphene hydrogels deposited in nickel foams for high-rate electrochemical capacitors. *Carbon* 2016;99:79-89.
16. Terrones M, Botello-Méndez AR, Campos-Delgado J, López-Urías F, Vega-Cantú YI, Rodríguez-Macías FJ. Graphene and graphite nanoribbons: morphology, properties, synthesis, defects and applications. *Mater Today* 2011;14(7-8):308-15.
17. Herrero-Latorre C, Barciela-García J, García-Martín S, Peña-Creciente RM, Otárola-Jiménez J. Magnetic solid-phase extraction using carbon nanotubes as sorbents: A review. *Anal Chim Acta* 2015;892:10-26.
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.07.046>

18. Arthur CL, Pawliszyn J. Solid-phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers. *Anal Chem* 1990;62(19):2145-8.
<https://doi.org/10.1021/ac00218a019>
19. Lord HL, Grant RP, Walles M, Incledon B, Fahie B, Pawliszyn J. Development and evaluation of a solid-phase microextraction probe for in vivo pharmacokinetic studies. *J Chromatogr A* 2003;985(1-2):153-9.
20. Bagheri H, Piri-Moghadam H, Naderi M. Towards greater mechanical, thermal and chemical stability in solid-phase microextraction. *Trends Anal Chem* 2012;43:34-9.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2011.11.004>
21. Shirey RE, Linton CM. The extraction and analysis of 1,4-dioxane from water using solid-phase microextraction coupled with gas chromatography and gas chromatography mass spectrometry. *J Chromatogr Sci* 2006;44(7):444-50. <https://doi.org/10.1093/chromsci/44.7.444>
22. Grimmer PE, Munch JW. Method development for the analysis of 1,4-dioxane in drinking water using solid-phase extraction and gas chromatography mass spectrometry. *J Chromatogr Sci* 2009;47(1):31-9.
<https://doi.org/10.1093/chromsci/47.1.31>
23. Risticvic S, Lord H, Górecki T, Arthur CL, Pawliszyn J. Protocol for solid-phase microextraction method development. *Nat Protoc* 2010;5(1):122-39.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2009.179>
24. Souza Silva EA, Risticvic S, Pawliszyn J. Recent trends in SPME concerning sorbent materials, configurations and in vivo applications. *Trends Anal Chem* 2013;43:24-36.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.10.006>
25. Vuckovic D, de Lannoy I, Gien B, Yang Y, Musteata FM, Shirey RE, et al. In vivo solid-phase microextraction: capturing the elusive portion of metabolome. *Angew Chem Int Ed Engl* 2011;50(23):5344-8.
<https://doi.org/10.1002/anie.201006715>
26. Vardast MR, Ranjkeshzadeh N, Ghasemlu K, Ranjkeshzadeh H. Evaluation of acrylamide in some fried products marketed in Urmia city by high performance liquid chromatography with experimental method. *Stud Med Sci* 2019;30(3):207-16.
27. Eskandari Azar M, Vardast MR. Measurement of oxytocin in human serum and pharmaceutical products available in the Iranian market by microextraction method. *Stud Med Sci* 2024;35(12):1035-44.
<https://doi.org/10.61186/umj.35.12.1035>
28. Vardast MR, Ranjkeshzadeh N. New method for determination of amiodarone in serum with dispersive liquid-liquid microextraction by high-performance liquid chromatography with experimental method. *Stud Med Sci* 2020;31(1):7-14.
29. Zhou W. The determination of 1,4-dioxane in cosmetic products by gas chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2019;1607:460400.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460400>
30. Scalia S, Guarneri M, Menegatti E. Determination of 1,4-dioxane in cosmetic products by high-performance liquid chromatography. *Analyst* 1990;115(7):929-31.
<https://doi.org/10.1039/an9901500929>
31. Black RE, Hurley FJ, Havery DC. Occurrence of 1,4-dioxane in cosmetic raw materials and finished cosmetic products. *J AOAC Int* 2001;84(3):666-70.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/84.3.666>