

METODY ANALITYCZNE BADANIA PREPARATÓW KOSMETYCZNYCH – WCZORAJ I DZIŚ

ANALITICAL METHODS FOR TESTING COSMETIC
PRODUCTS – IN THE PAST AND NOWADAYS

**Anna Olejnik^{1,*}, Justyna Gornowicz-Porowska²,
Joanna Gościańska¹**

*¹Zakład Technologii Chemicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama
Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań*

*²Katedra i Zakład Kosmetologii Praktycznej i Profilaktyki Chorób Skóry,
Wydział Farmaceutyczny, ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań*

**e-mail: annamar@amu.edu.pl*

Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Techniki chromatograficzne

1.1. Chromatografia cieczowa

1.2. Chromatografia gazowa

2. Spektrometria mas

3. Spektroskopia w podczerwieni

4. Badania stabilności preparatów kosmetycznych

5. Badania aplikacyjne produktów kosmetycznych

6. Badania przenikania produktów kosmetycznych

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

Dr Anna Olejnik jest adiunktem na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Tytuł magistra w zakresie chemii uzyskała w 2008 roku, a w 2009 r. ukończyła studia na specjalności chemia kosmetyczna. Stopień naukowy doktora uzyskała w 2012 r. Odbyła staże naukowe na Westfälische Wilhelms Universität w Münster (Niemcy), w Consejo Superior de Investigaciones Científicas w Madrycie (Hiszpania), w Consiglio Nazionale delle Ricerche w Bolonii (Włochy) oraz na University of Bucharest (Rumunia). Dr Olejnik jest kierownikiem grantu Lider przyznanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju oraz była wykonawcą projektów Narodowego Centrum Nauki. Jest współautorką patentu oraz 32 publikacji w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR w tematyce chemii kosmetycznej i zastosowaniu nanomateriałów.



<https://orcid.org/0000-0002-4202-652X>

Dr hab. n. med. Justyna Gornowicz-Porowska Absolwentka kierunku Biotechnologia, stopień naukowy doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej uzyskała w 2012 r., a doktora habilitowanego w 2018 roku. Laureatka nagród i stypendiów za osiągnięcia naukowe oraz kierownik i wykonawca grantów badawczych, zarówno krajowych, jak i międzynarodowych. Członek the European Society for Dermatological Research. Autorka prac naukowych dotyczących molekularnej patogenezy i nowoczesnej diagnostyki dermatoz oraz badań właściwości biologicznych naturalnych surowców mogących stanowić źródło nowych kosmetyków i optymalizacji ich przenikania przez barierę naskórkową.



<https://orcid.org/0000-0003-3106-064X>

Dr hab. Joanna Gościańska, prof. UAM jest zatrudniona na stanowisku profesora uczelni w Zakładzie Technologii Chemicznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Tytuł magistra w zakresie chemii uzyskała w 2005 roku, z kolei stopnie naukowe doktora i doktora habilitowanego kolejno w latach 2009 i 2019. W trakcie studiów magisterskich i doktoranckich odbyła trzy staże naukowe w Laboratoire Catalyse et Spectrochimie w Caen (Francja), a w ostatnim czasie na University of Alicante (Hiszpania) i University of Bucharest (Rumunia). W swojej karierze naukowej otrzymała szereg prestiżowych nagród m.in. Maxima Cum Laude dla najlepszych absolwentów UAM, stypendium Funduszu Rodziny Kulczyków, Stypendium Naukowe Miasta Poznania dla młodych badaczy, stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla Wybitnych Młodych Naukowców oraz nagrody zespołowe Rektora UAM za osiągnięcia w pracy naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej. W 2018 roku została laureatką stypendium habilitanckiego „L'ORÉAL Polska dla kobiet i nauki”. Dr hab. Joanna Gościańska była kierownikiem grantu SONATA-12 przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki i wykonawcą projektów Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Jej tematyka badawcza koncentruje się na syntezie, modyfikacji i charakterystyce nanoporowatych materiałów węglowych, krzemionkowych oraz struktur metalo-organicznych, posiadających wiele unikatowych właściwości fizykochemicznych, elektrycznych oraz chemicznych, które pozwalają na ich szerokie możliwości aplikacyjne w katalizie, farmacji, magazynowaniu i przetwarzaniu energii oraz w procesach oczyszczania powietrza, wody i gazów przemysłowych. Dodatkowo zajmuje się analitycznymi metodami badania preparatów kosmetycznych. Jej dorobek naukowy obejmuje 71 publikacji w czasopiśmie znajdujących się w bazie JCR, 12 publikacji w recenzowanych czasopiśmie spoza bazy JCR, 7 rozdziałów w książkach, 22 prac pokonferencyjnych oraz 1 skrypt. Jest również współautorką 176 prezentacji na konferencjach.



<https://orcid.org/0000-0002-7409-8333>

ABSTRACT

The safety and quality of each cosmetic product is tested before it is introduced to the market. There are highly regulated requirements that producers should comply with. However, as the cosmetic products are highly complexed mixture of different ingredients, detailed characterization of their composition remains still a challenge. Currently, due to the development of modern technologies, a wide range of analytical methods are available. Scientists are increasingly adapting highly sophisticated and advanced techniques to precisely identify and quantify the components of cosmetic products. The aim of this article is to present the analytical methods applied to examine cosmetics taking into account their advantages and limitations. The progress made in recent years in the design of novel instruments leading to their greater efficiency, selectivity and sensitivity was also considered. The techniques that are commonly used in the quality control laboratories of cosmetic companies were presented. Cosmetics analysis is not only limited to the characterization of product itself. Today, *in vivo* tests are very essential to determine the efficacy of formulations directly on the skin surface. Therefore, in this article modern devices dedicated to these analyses were described in detail.

Keywords: cosmetic products, chromatography, mass spectrometry, application tests, stability studies

Słowa kluczowe: produkty kosmetyczne, chromatografia, spektrometria mas, testy aplikacyjne, badania stabilności

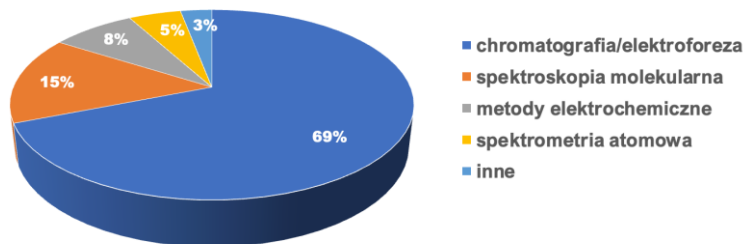
WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW

AED	– detektor emisji atomowej
ATR	– metoda osłabionego całkowitego odbicia
DAD	– detektor z matrycą diodową
DESI	– desorpcja z jonizacją przez elektrorozpylanie
DRS	– spektroskopia rozproszonego odbicia
EESI	– ekstrakcyjna jonizacja przez rozpylanie w polu elektrycznym
EI	– jonizacja strumieniem elektronów
ESI	– jonizacja przez elektrorozpylanie
FID	– detektor płomieniowo-jonizacyjny
GC	– chromatografia gazowa
HPLC	– wysokosprawna chromatografia cieczowa
ITA	– indywidualny kąt typologiczny
LC	– chromatografia cieczowa
LED	– dioda elektroluminescencyjna
LOD	– granica wykrywalności
MA	– ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym
MALDI	– desorpcja laserowa wspomagana matrycą
MLS	– wielokrotne rozpraszanie światła
MS	– spektrometria mas
MSI	– obrazowanie za pomocą spektrometrii mas
R	– współczynnik korelacji
R ²	– współczynnik determinacji
RSD	– względne odchylenie standardowe
PAS	– spektroskopia fotoakustyczna
S.C.	– stratum corneum
SPME	– mikroekstrakcja do fazy stałej
TEWL	– transepidermalna utrata wody
TLC	– chromatografia cienkowarstwowa
TS	– spektroskopia transmisyjna
TSI	– współczynnik stabilności Turbiscan
UAE	– ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami
UPLC	– ultrasprawną chromatografią cieczową

WPROWADZENIE

Dynamiczny rozwój produktów kosmetycznych idzie w parze z rozwojem technik analitycznych, które charakteryzują się obecnie dużą czułością, szybkością i niezawodnością. Mają one na celu przede wszystkim zagwarantowanie bezpieczeństwa produktu i zgodności z bieżącymi przepisami prawnymi, ale także określenie czy receptura kosmetyku jest odpowiednio skomponowana i zgodna z założeniami producenta oraz czy nie posiada substancji negatywnie wpływających na skórę konsumenta. Preparaty kosmetyczne można podzielić na kilka grup - produkty do pielęgnacji skóry, ust, włosów, zębów, higieny intymnej; perfumy; kosmetyki kolorowe oraz produkty do ochrony przeciwsłonecznej. W przypadku analizy kosmetyków należy wziąć pod uwagę kilka aspektów. Próbkę preparatów kosmetycznych to mieszaniny wielu składników. Podczas kontroli jakości jednocześnie analizuje się kilka komponentów, dlatego w tym celu należy wykorzystać zaawansowane metody analityczne. Ponadto, w przemyśle badania przeprowadza się na dużej ilości próbek z różnych partii produkcyjnych, stąd też proces powinien być jak najbardziej zautomatyzowany, stosunkowo prosty, odtwarzalny oraz ekonomiczny pod względem zużycia odczynników chemicznych. Kosmetyk przed wprowadzeniem na rynek musi spełniać wymogi Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30. listopada 2009 r. Jednocześnie obowiązującym polskim aktem prawnym jest Ustawa o produktach kosmetycznych z 4. października 2018 r. Produkt kosmetyczny musi zostać poddany badaniom mikrobiologicznym, fizykochemicznym oraz ocenie bezpieczeństwa. Przeprowadza się następujące analizy: (1) ocenę organoleptyczną mającą na celu określenie zapachu, barwy, stan skupienia produktu; (2) pomiar pH, aby oznaczyć odczyn kwasowy bądź zasadowy preparatu; (3) testy stabilności w różnych temperaturach, aby wykazać, że produkt nie będzie zmieniał właściwości podczas przechowywania; (4) lepkości, aby kontrolować reologię produktu; (5) gęstości; (6) testy kompatybilności produktu z opakowaniem.

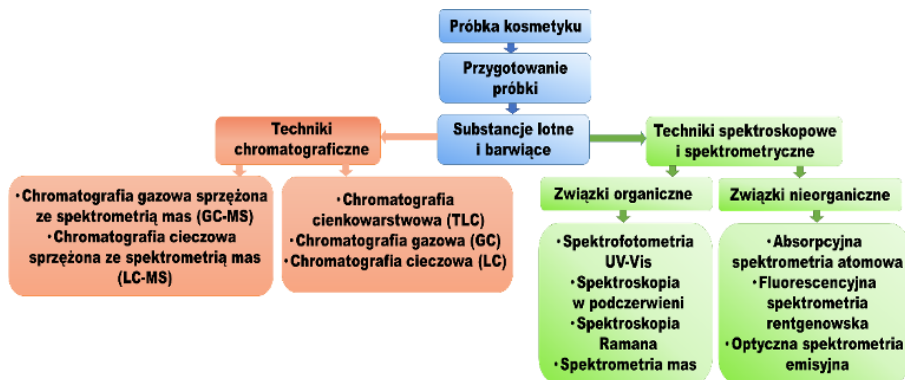
W związku z nieustannym rozwojem metod analitycznych, naukowcy coraz częściej adaptują je do oznaczania składników w preparatach kosmetycznych. Ich udział procentowy w analizie kosmetyków zaprezentowano na rys. 1.



Rysunek 1. Udział procentowy metod analitycznych wykorzystywanych do analizy preparatów kosmetycznych [1]

Figure 1. Percentage of analytical methods applied to analyze cosmetic formulations [1]

Bardziej szczegółowy wykaz technik wykorzystywanych do analizy substancji lotnych i barwiących zawartych w preparatach kosmetycznych przedstawiono na rysunku 2.



Rysunek 2. Techniki stosowane do analizy preparatów kosmetycznych [2]

Figure 2. Techniques applied in analysis of cosmetic products [2]

W dostępnych doniesieniach naukowych można znaleźć informacje na temat oznaczania różnych klas substancji, które zaprezentowano na rys. 3.



Rysunek 3. Grupy substancji kosmetycznych oznaczane za pomocą metod analitycznych

Figure 3. Groups of cosmetic substances determined by analytical methods

Należy również podkreślić, że w ostatnich latach ze względu na trend powrotu do natury coraz częściej składnikami preparatów kosmetycznych są ekstrakty i wyciągi roślinne, których standaryzacja i analiza stanowi duże wyzwanie.

Celem niniejszego artykułu jest omówienie metod analitycznych wykorzystywanych do badania preparatów kosmetycznych z uwzględnieniem ich zalet

i ograniczeń oraz postępu jaki poczyniono w ostatnich latach w projektowaniu odpowiednich aparatów/urządzeń prowadząc do ich większej skuteczności, selektywności oraz czułości. Zaprezentowano przede wszystkim techniki, które powszechnie są stosowane w laboratoriach kontroli jakości firm kosmetycznych. Zwrócono również uwagę na konieczność określania skuteczności działania preparatów kosmetycznych w testach *in vivo* z udziałem ochotników.

1. TECHNIKI CHROMATOGRAFICZNE

Techniki chromatograficzne są obecnie szeroko stosowane w analizie produktów kosmetycznych, farmaceutycznych, spożywczych, jak również próbek środowiskowych i biologicznych. Pozwalają one na jednoczesny rozdział oraz ilościowe oznaczenie składu złożonych mieszanin substancji organicznych o podobnych właściwościach fizykochemicznych. Rozdzielane składniki w różnym stopniu ulegają podziałowi pomiędzy dwie fazy, z których jedna jest fazą ruchomą (mobilną), a druga stanowi wypełnienie kolumny chromatograficznej i jest nazywana fazą nieruchomą (stacjonarną) układu chromatograficznego. Jeśli fazę ruchomą stanowi ciecz, mamy do czynienia z chromatografią cieczową, z kolei w przypadku, gdy faza ruchoma jest w stanie gazowym, mówimy o chromatografii gazowej. Fazą stacjonarną może być zarówno ciało stałe, jak również ciecz na nośniku lub żel [3].

1.1. CHROMATOGRAFIA CIECZOWA

Chromatografia cieczowa (ang. *liquid chromatography*, LC) może być wykorzystywana zarówno jako technika analityczna, jak również metoda wydzielenia określonej substancji chemicznej z wieloskładnikowej mieszaniny. W początkowych stadiach rozwoju detekcja, analityka oraz preparatyka z udziałem chromatografii cieczowej, była oparta na zastosowaniu szklanej kolumny wypełnionej odpowiednio dobranym sorbentem i zbieraniu frakcji eluatu, które następnie analizowano spektrofotometrycznie lub refraktometrycznie [4,5]. Niestety bardzo często wiązało się to z koniecznością użycia do analizy całej ilości wydzielonej substancji charakteryzującej się niską zawartością w mieszaninie. Wynik analizy był tym bardziej rzetelny, im lepsze uzyskano rozdzielenie od składników towarzyszących. Warto zaznaczyć, że na tym etapie rozgraniczenie pomiędzy chromatografią cieczową jako techniką analityczną a metodą stosowaną do otrzymywania czystych substancji chemicznych nie było wyraźne. Dopiero wprowadzenie detektorów przepływowych, rejestratorów, a w późniejszym czasie również komputerów, przyniosło przełom w rozdziale tych dwóch odmiennych obszarów zastosowań chromatografii cieczowej. W przypadku wykorzystania chromatografii cieczowej do celów analitycznych, ważne jest uzyskanie rozdzielenia pożądanych substancji chemicznych z mieszaniny wieloskładnikowej w możliwie jak najkrótszym czasie z rozdzielczością R równą około 1. Już w latach 70' XX wieku rozpoczęto dążenia do zminimalizowania skali procesu i oszczędności zużycia drogich składników eluentów

poprzez stosowanie kolumn o coraz mniejszych średnicach. Jednakże gwałtowny rozwój nastąpił w latach 90', w których zanotowano największy postęp w technologii wytwarzania kapilar kwarcowych stanowiących materiał na mikrokolumny. W analizach chromatograficznych stosuje się niewielkie objętości dozowanej próbki w celu obniżenia tzw. rozmycia poza-kolumnowego. Jest to również możliwe dzięki wysokiej czułości współczesnych detektorów. Z kolei, w przypadku chromatografii cieczowej stosowanej do efektywnego rozdzielania wieloskładnikowych mieszanin, aby uzyskać czyste substancje chemiczne do mikrosyntez, bardzo często wykorzystuje się kolumny o dużych średnicach oraz wysokie natężenie przepływu eluentu [6]. W skali procesowej można otrzymać interesujące substancje w ilości nawet do kilkudziesięciu kilogramów na dobę. Obecnie, w nowoczesnym przemyśle farmaceutycznym i coraz częściej również kosmetycznym, zakłady dysponują halami produkcyjnymi wyposażonymi wyłącznie w kolumny chromatograficzne i ich oprzyrządowanie takie jak: pompy eluentów, pompy dozujące wsad, kolektory frakcji, membranowe wymienniki masy czy urządzenia do izolacji substancji w postaci krystalicznej z frakcji eluatu [4,5].

Należy zaznaczyć, że chromatografia cieczowa jest techniką pozwalającą na łatwe przeprowadzenie zarówno analiz jakościowych, jak i ilościowych składników preparatów kosmetycznych w relatywnie krótkim czasie. Zapewnia wysoką odtwarzalność otrzymywanych wyników i wykorzystanie różnych typów detekcji. Możliwe jest wielokrotne stosowanie kolumn chromatograficznych do efektywnego rozdzielenia składników złożonych mieszanin bez konieczności ich regeneracji. W związku z tym większość firm kosmetycznych jest wyposażonych w nowoczesne chromatografy cieczowe, które dzięki nowym rozwiązaniom, skracającym czas analizy oraz zwiększającym zdolność rozdzielczą przeżywają swój renesans.

Chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz jest wykorzystywana do analizy związków zapachowych, których nie można oznaczyć za pomocą chromatografii gazowej ze względu na ich niską lotność i/lub termostabilność [7]. W opracowanych metodach zazwyczaj stosuje się kolumny typu C18 (wypełnione żel krzemionkowym związanym z niepolarnym łańcuchem oktadecylowym) o różnych średnicach, długości, granulacji oraz wielkości porów. Ze względu na złożony skład formułacji kosmetycznych, rozdzielenie poszczególnych składników wymaga użycia faz ruchomych stanowiących mieszaniny wody i innych rozpuszczalników organicznych np. acetonitrylu, kwasu octowego, kwasu mrówkowego czy też metanolu [8–11]. Do detekcji związków zapachowych najczęściej stosowane są detektory spektrofotometryczne z matrycą diodową (ang. *Diode Array Detector*, DAD) [8,10,12], detektory fluorescencyjne [9] oraz detektory mas (MS) [11,13,14]. Przykładowo, 24 związki zapachowe (z wyłączeniem ekstraktów naturalnych), charakteryzujące się różną polarnością, takie jak: alkohol amylocynamonowy, alkohol anizylowy, alkohol benzylowy, alkohol cynamylowy, citronellol, farnesol, geraniol, linalol, cytral, alfa-izometylojonon, Lyral®, Lilial®, benzoesan benzylu, cynamonian benzylu, salicylan benzylu, kumaryna, węglan metyloheptyny, limonen, eugenol, izoeugenol, heksylocyna-

mon, aldehyd cynamonowy, aldehyd heksylocynamonowy, hydroksycytronellal, poddano jednocześnie analizie jakościowej i ilościowej za pomocą chromatografii cieczowej w odwróconym układzie faz z zastosowaniem elucji gradientowej (acetonitryl/woda) i detekcji spektrofotometrycznej przy długości fali 210, 254 i 280 nm. Wszystkie anality zostały skutecznie rozdzielone w ciągu 40 minut na kolumnie C18 przy szybkości przepływu fazy ruchomej w zakresie 0,7 do 1,0 mL/min. Opracowaną metodę oznaczania zastosowano z powodzeniem do wykrywania potencjalnych alergenów w czterech dostępnych na rynku produktach zapachowych: mieszance olejków eterycznych odstrasżających owady do stosowania miejscowego, „naturalnym” olejku do masażu zawierającym olejki eteryczne, uniwersalnym kremie nawilżającym oraz odżywcze do włosów [10].

Chromatografia cieczowa jest również wykorzystywana do oznaczeń parabenów oraz innych związków antybakteryjnych dodawanych do produktów kosmetycznych, spożywczych i farmaceutycznych w celu ich konserwacji. Zainteresowanie rozwojem metod ich oznaczania w kosmetykach sięga lat 60' XX wieku, ale dopiero w latach 80' temat ten zaczął pojawiać się coraz częściej w literaturze. Analizy tych związków przeprowadzane są za pomocą chromatografii cieczowej z detekcją spektrofotometryczną przy długości fali 254 nm, a także z wykorzystaniem chromatografii cienkowarstwowej z detekcją fluorescencyjną czy strefowej elektroforezy kapilarnej [15]. W metodach opartych na HPLC stosuje się zazwyczaj kolumny C18, z kolei fazy ruchome stanowią mieszaniny roztworów buforowych z odpowiednimi polarnymi rozpuszczalnikami organicznymi. Dotychczas oznaczono w ten sposób 4-hydroksybenzoesan metylu, etylu, propylu, butylu i benzylu (należące do parabenów) oraz inne konserwanty takie jak: 2-fenoksyetanol i 1-fenoksypropan-2-ol w szamponach i mleczkach do ciała [16]. Fazą ruchomą była mieszanina woda: acetonitryl: metanol: tetrahydrofuran (60:25:10:5), dostarczana z szybkością przepływu 1,5 ml/min. Za pomocą micelarnej chromatografii cieczowej analizowano kwas benzoesowy, kwas p-hydroksybenzoesowy oraz estry metylowe, etylowe, propylowe, izopropylowe i butylowe kwasu p-hydroksybenzoesowego w próbkach szamponów, mydeł w płynie do rąk, kremach oraz piankach do kąpieli. Po rozcieńczeniu próbek kosmetycznych w n-propanolu wstrzykiwano je bezpośrednio do kolumny i wymywano 2% roztworem środka powierzchniowo-czynnego Brij-35, którego pH obniżono do 3,0 za pomocą mieszaniny kwasu ortofosforowego(V) i propanolu (80: 30). Liniową krzywą kalibracyjną uzyskano w zakresie 50–500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dla kwasu benzoesowego i 5–150 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dla pozostałych składników. Granice wykrywalności mieściły się w zakresie 25–250 ng mL^{-1} [17]. Youngvises i wsp. [18] wykorzystali metodę chromatografii cieczowej zgodnej z zasadami zielonej chemii do oznaczenia metyloparabenu, etyloparabenu, propyloparabenu oraz butyloparabenu w próbkach kosmetycznych w formie kremów, lotionów, szamponów, odżywek oraz mydeł w płynie. Koncepcja ta zakłada minimalizację zużycia odczynników i wytwarzania odpadów oraz wymianę toksycznych odczynników na mniej szkodliwe substancje. Ponadto w ramach zasad zielonej chemii

należy wydajnie wykorzystywać energię i w miarę możliwości prowadzić procesy w temperaturze i ciśnieniu otoczenia. Do analizy parabenów Youngvises i wsp. [18] zastosowali krótką przedkolumnę C18 w połączeniu z bardziej przyjazną dla środowiska micelną fazą ruchomą zawierającą dodecylosiarczan sodu. Liniowe krzywe kalibracyjne dla poszczególnych parabenów otrzymano w zakresie 1–100 $\mu\text{mol L}^{-1}$ przy $R^2 > 0,9990$. Precyzyjne rozdzielanie składników osiągnięto w ciągu 7 min., z użyciem fazy ruchomej o niskiej zawartości rozpuszczalnika organicznego (0,5% n-pentanolu), a granica wykrywalności wynosiła 0,04–0,10 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Zastosowany układ analityczny jest nie tylko bardziej ekologiczny, ale także szybszy i wykorzystuje łatwiejsze przygotowanie próbki niż w przypadku konwencjonalnej chromatografii cieczowej. Pozwala również na separację mieszanin innych związków organicznych np. środków miejscowo znieczulających i przeciwhistaminowych oraz leków na przeziębienie.

Do oznaczania parabenów i innych konserwantów w produktach kosmetycznych zastosowano również ultrasprawną chromatografię cieczową (ang. *Ultra-Performance Liquid Chromatography*, UPLC) z detekcją UV [19–22]. Do rozdzielania poszczególnych składników zazwyczaj wykorzystuje się krótkie kolumny C18 o wielkości cząstek w zakresie 1–2 μm . Efektywną separację można osiągnąć w bardzo krótkim czasie: 5 minut jeśli tylko analizowane są parabeny i mniej niż 9 minut w przypadku oznaczania parabenów wraz z innymi środkami konserwującymi [20]. Warto zaznaczyć, że w metodzie tej wymagane są mniejsze objętości fazy ruchomej niż w przypadku konwencjonalnej chromatografii cieczowej, dzięki czemu minimalizuje się generowanie odpadów – zużytych rozpuszczalników organicznych. Jednakże UPLC wymaga stosowania wyższych ciśnień prowadząc do wzrostu kosztów analizy [15].

Oznaczanie metyloparabenu, etyloparabenu, propyloparabenu oraz benzyloparabenu w kosmetykach zmywalnych przeprowadzono również za pomocą HPLC sprzężonej z detektorem chemiluminescencyjnym. Procedura opierała się na wzmocnieniu chemiluminescencyjnym układu cer(IV)-rodamina 6G przez parabeny w środowisku kwasu siarkowego(VI). Skuteczne rozdzielanie poszczególnych parabenów uzyskano poprzez elucję izokratyczną z wykorzystaniem mieszaniny metanolu z wodą 60: 40 w ciągu 8,5 min [23].

Wysokosprawną chromatografię cieczową z detekcją amperometryczną przy użyciu elektrody diamentowej domieszkowanej borem (BDD) może być z powodzeniem stosowana do analizy metyloparabenu, etyloparabenu oraz propyloparabenu w próbkach szamponów. W trakcie pomiarów do elektrody przyłożono kolejno potencjały +1,2 V, -0,5 V i -2,0 V, co prowadziło do utlenienia parabenów. Metoda oznaczania została zoptymalizowana oraz zwalidowana. Wykazała odpowiednią liniowość ($>0,999$) w zakresie 0,0125–0,500% (w/w), wykrywalność 0,01% (w/w), precyzję (RSD 2,3–9,8%) i dokładność (93,1–104,4%). Główną wadą elektrody BDD jest możliwość pasywacji powierzchni, w związku z tym konieczne jest stosowanie wzorca wewnętrznego - 4-hydroksybenzoenu benzyłu. Metoda ta również wymaga oczyszczania próbki, a rozdział musi być prowadzony w warunkach izokratycznych [24].

Stabilność substancji aktywnych będących składnikami produktów kosmetycznych warunkuje efektywność ich działania. Jedną z najczęściej stosowanych technik, w celu oznaczania jakościowego oraz ilościowego substancji aktywnych formułacji kosmetycznych jest również wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją spektrofotometryczną. W przypadku oznaczania związków depigmentujących takich jak: arbutyna, kwas kojowy, niacynamid, glikozyd askorbylu, hydrochinon, kwas glikolowy, kwas askorbinowy w kremach wybielających i rozjaśniających skórę zazwyczaj stosuje się kolumny typu C18 [25,26], rzadziej wypełnione żelom krzemionkowym związanym z grupami pentafluorofenylowymi [27–29]. Jako fazy ruchome wykorzystuje się mieszaniny buforów fosforanowych z metanolem lub wody z metanolem [27,29]. Technika HPLC stosowana jest również do rozdzielania różnych składników pochodzenia roślinnego (np. katechin, aloiny, kwercetyny), które dodawane są do preparatów kosmetycznych po wcześniejszej ekstrakcji w układzie ciecz–ciało stałe lub maceracji [30,31]. Należy dodać, że do rozdzielania związków naturalnych stosowanych w kosmetykach można również wykorzystać chromatografię kolumnową. Polega ona na umieszczeniu w kolumnie specjalnie dobranej fazy rozdzielczej, przez którą przepływa się roztwór zawierający analizowaną mieszaninę. Badany roztwór może przepływać przez kolumnę grawitacyjnie lub wykorzystać można również różnicę ciśnień na wejściu i wyjściu z kolumny. Chromatografia kolumnowa jest najskuteczniejszą techniką stosowaną do rozdzielania ekstraktów roślinnych [32].

1.2. CHROMATOGRAFIA GAZOWA

Chromatografia gazowa (ang. *gas chromatography*, GC) stosowana jest w przemyśle kosmetycznym przede wszystkim do szybkiej analizy jakościowej i ilościowej różnego typu formułacji kosmetycznych. Wykorzystuje się ją m.in. do określania składu surowców, kompozycji zapachowych wyrobów perfumeryjnych oraz olejków eterycznych, identyfikacji zanieczyszczeń występujących w produktach kosmetycznych stanowiących pozostałości rozpuszczalników oraz oznaczania substancji aktywnych będących składnikami preparatów nieoryginalnych/zamiennych celem wykrycia zafałszowań kosmetyków markowych.

Rozdział składników mieszaniny jednorodnej w chromatografii gazowej polega na przeniesieniu analitów w postaci pary za pomocą gazu nośnego stanowiącego fazę ruchomą przez odpowiednio dobraną kolumnę wypełnioną fazą stacjonarną. Biorąc pod uwagę rodzaj stosowanej fazy stacjonarnej rozróżnia się chromatografię w układzie gaz–ciało stałe zwaną chromatografią adsorpcyjną, w której fazą nieruchomą jest adsorbent oraz chromatografię w układzie gaz–ciecz (podziałową) gdzie fazą nieruchomą jest ciecz naniesiona na nośnik. Zatem podstawą tych metod jest zjawisko odmiennego oddziaływania substancji obecnych w fazie ruchomej z fazą stacjonarną. Wykazano, że składniki o większym powinowactwie do fazy nieruchomej przechodzą wolniej przez kolumnę niż substancje charakteryzujące się większym powinowactwem do fazy ruchomej.

W dzisiejszych czasach, znaczący postęp w rozwoju chromatografii gazowej związany jest przede wszystkim ze wzrostem szybkości analizy, a co za tym idzie skróceniem jej czasu z kilkudziesięciu do kilku minut, a w niektórych przypadkach nawet do kilku sekund, miniaturyzacją aparatury, wprowadzeniem dwuwymiarowej chromatografii gazowej (GC × GC) sprzężonej ze spektrometrią mas pokonującej większość ograniczeń konwencjonalnej chromatografii gazowej związanych z rozdzielaniem złożonych mieszanin, wykorzystaniem chiralnej selektywności pochodnych cyklodekstryn stanowiących fazę stacjonarną w enancjoselektywnej metodzie GC pozwalającej na rozdział enancjomerów z lotnych mieszanin racemicznych.

Bardzo ważną kwestią jaką należy wziąć pod uwagę w przypadku analizy składników preparatów kosmetycznych za pomocą chromatografii gazowej jest przygotowanie próbki. Zastosowanie tej techniki wymaga wprowadzenia do układu tylko analitów, które po zadozowaniu łatwo przechodzą w stan gazowy i w takiej formie są rozdzielane na odpowiednio dobranej kolumnie chromatograficznej.

Perfумы, olejki eteryczne oraz inne próbki ciekłe zazwyczaj są nastrzykiwane bezpośrednio lub po uprzednim rozcieńczeniu rozpuszczalnikami organicznymi (np. metanolem, etanolem, acetonem, acetonitrylem) przez dozownik z dzieleniem strumienia gazu na kolumnę. Takie rozwiązanie pozwala uniknąć przeładowania kolumny próbkami z większym stężeniem analitów, ponieważ tylko mała ich część jest wprowadzana do kolumny. Dozowniki z dzieleniem strumienia gazu cechują się dużą sprawnością i są idealne dla kolumn chromatograficznych o małych średnicach.

Analiza próbek stałych takich jak: kremy, balsamy, podkłady, pomadki, pasty do zębów jest znacznie bardziej skomplikowana ze względu na fakt, że substancje lotne w nich zawarte należy w pierwszej kolejności wyekstrahować i zateżyc, w przeciwnym razie może dojść do zanieczyszczenia układu chromatograficznego.

Ekstrakcja rozpuszczalnikowa jest powszechnie stosowana do wydzielania substancji aktywnych lub zapachowych z preparatów kosmetycznych [7]. Rastogi [33] wykorzystał tą metodę do wyekstrahowania substancji zapachowych z mydła w kostce przy użyciu octanu etylu. Wydajność ekstrakcji wynosiła około 80–100% dla większości substancji. Wyjątek stanowiły cytral, aldehyd cynamonowy oraz dihydrokumaryna. Z kolei, Reiner i wsp. [34] zastosowali prostą ekstrakcję rozpuszczalnikową do wyodrębnienia piżm policyklicznych, w tym galaksolidu i tonalidu z perfum, balsamów do ciała oraz dezodorantów za pomocą heksanu. Obecnie opracowuje się szybsze i bardziej ekologiczne metody ekstrakcji w porównaniu z metodami konwencjonalnymi. Dąży się do pełnej automatyzacji, miniaturyzacji, a jednocześnie obniżenia objętości zużywanych rozpuszczalników organicznych. Bardzo często ekstrakcja w układzie ciało stałe–ciecz jest wspomagana ultradźwiękami (ang. *ultrasound-assisted extraction*, UAE) lub promieniowaniem mikrofalowym (ang. *microwave-assisted extraction*, MAE), co czyni ją znacznie bardziej skuteczną. W przypadku mikroekstrakcji do fazy stałej (ang. *solid phase microextraction*, SPME) wykorzystuje się włókno o grubości kilkudziesięciu mikrometrów pokryte odpowiednim sorbentem, na którym adsorbują się substancje lotne

uwalnianie z próbki. Proces ten może zachodzić z fazy ciekłej poprzez zanurzenie włókna przez określony czas w roztworze próbki (ang. *direct immersion*, DI-SPME) lub pobieranie próbki z fazy nadpowierzchniowej (ang. *headspace*, HS-SPME). Kluczowy jest dobór czynnika ekstrakcyjnego stosowanego do pokrycia włókna urządzenia do SPME, ponieważ wpływa on znacząco na wydajność i selektywność ekstrakcji analitu. Obecnie wprowadza się nowe klasy sorbentów polimerowych wykorzystywanych do pokrycia włókna, które charakteryzują się rozwiniętą powierzchnią wewnętrzną, wysokim powinowactwem do analitów, niską ceną, dużą odpornością termiczną i chemiczną, a także szerokimi możliwościami modyfikacji struktury wewnętrznej lub powierzchni. Włókno urządzenia do SPME pokryte polianiliną, polipirolelem i poli(styreno sulfonianem) sodu zostało zastosowane do oznaczania metyloparabenu, etyloparabenu oraz propyloparabenu w nawilżających tonikach do twarzy metodą chromatografii gazowej. Zbadano parametry wpływające na ekstrakcję analitów, takie jak: czas ekstrakcji, dodatek soli NaCl, temperatura i czas desorpcji. Zoptymalizowaną ekstrakcję prowadzono w temperaturze pokojowej przez 30 min. w obecności $0,4 \text{ g mL}^{-1}$ NaCl w roztworze próbki, a desorpcję analitów w temperaturze 280°C przez 15 min. [35].

Metoda chromatografii gazowej jest najczęściej stosowana do analizy związków zapachowych ze względu na ich niskie temperatury wrzenia. Po odpowiednim przygotowaniu próbki, za pomocą odpowiednich dozowników wprowadza się ją w strumień gazu nośnego, który następnie przenosi ją do kolumny. Obecnie najczęściej stosuje się dozowniki z dzieleniem strumienia gazu (ang. *split*), bez dzielenia gazu (ang. *splitless*) oraz dozujące bezpośrednio na kolumnę [36–38]. Działanie dwóch pierwszych dozowników polega na odparowaniu próbki, która zostaje wprowadzona przez specjalną membranę za pomocą strzykawki. Ich obudowa jest zazwyczaj ogrzewana do temperatury $200\text{--}250^\circ\text{C}$, dzięki czemu lotne składniki próbki odparowują, przy czym należy zaznaczyć, że związki o dużej lotności będą odparowywać szybciej niż mniej lotne związki. Dozowanie bezpośrednio na kolumnę o temperaturze $20\text{--}60^\circ\text{C}$ jest najprostszym sposobem wprowadzania próbki ciekłej. Ogrzewanie kolumny powoduje odparowanie rozpuszczalnika.

Do oznaczania związków zapachowych za pomocą chromatografii gazowej najczęściej stosuje się kolumny o przekroju otwartym zwane kapilarnymi, ponieważ charakteryzują się wysoką zdolnością rozdzielczą oraz lepszą czułością w porównaniu z kolumnami pakowanymi. Kluczowa jest również możliwość wytworzenia w nich dużej ilości pólek teoretycznych, przy niewielkim ciśnieniu gazu na wejściu do kolumny. Kolumny przeznaczone do analizy związków zapachowych mają długość w zakresie $10\text{--}60 \text{ m}$ i średnicę wewnętrzną $0,10\text{--}0,32 \text{ mm}$ [7]. Fazę stacjonarną w kolumnach nisko- i średniopolarnych stanowią zazwyczaj dimetylopolisiloksan (CP-Sil 5 CB, DB-1, HP-1, SPB-1) [39–41] oraz difenylo-dimetylopolisiloksan (HP-5, DB-5, SLB-35, DB-17, DB-35, CP-Sil 8 CB) [42–44]. Z kolei kolumny charakteryzujące się wysoką polarnością są wypełnione glikolem polietylenowym (CP-Wax 52 CB, BP20) [45,46].

Mimo, że detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) [40,46,47] oraz detektor emisji atomowej (AED) [48] powszechnie wykorzystuje się do oznaczania związków zapachowych w kosmetykach, to chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (MS) stanowi potężne narzędzie do jednoczesnego przeprowadzania analiz jakościowych oraz ilościowych lotnych i półlotnych związków organicznych [39,49,50]. Jednocześnie umożliwia ona precyzyjne określenie zawartości zanieczyszczeń kosmetyków, które mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie konsumenta.

W przypadku analizy parabenów w tonikach do twarzy za pomocą GC-FID wymagane jest wcześniejsze acetylowanie analitów bezwodnikiem octowym przez 10-20 minut w środowisku zasadowym w obecności KH_2PO_4 , które prowadzi do lepszych rozdzielczości chromatogramów [51]. Jako alternatywę do acetylowania zastosowano alkilowanie pochodnymi butylowymi oraz izobutylowymi (np. chloromrówczanem butylu [52] lub chloromrówczanem izobutylu [53]) w celu oznaczania parabenów w kosmetykach metodą GC-FID.

2. SPEKTROMETRIA MAS

Spektrometria mas (MS) to zaawansowana technika analityczna umożliwiająca precyzyjne określenie masy oznaczanego związku organicznego, jego budowy chemicznej oraz ilości w badanej próbce. Pierwszy spektrometr mas został skonstruowany przez Josepha Johna Thomsona na początku XX wieku [54]. Wykorzystano działanie pola elektromagnetycznego, które powodowało różny stopień odchylenia toru lotu jonów w zależności od ich stosunku masy do ładunku (m/z). Rolę detektora pełniła wówczas płyta fotograficzna lub ekran fluorescencyjny. W latach 20' XX wieku Francis William Aston stworzył spektrometr mas, który umożliwił obserwację izotopów [55]. Natomiast Arthur Jeffrey Dempster opracował metodę jonizacji substancji wykorzystując strumień elektronów. Od tego czasu nastąpił intensywny rozwój spektrometrii mas, która jest obecnie wykorzystywana w wielu dziedzinach do analizy ilościowej i jakościowej związków organicznych. Spektrometria mas znalazła również zastosowanie do oznaczaniu składników w produktach kosmetycznych. Może być wykorzystana do kontroli jakości i testowania stabilności komponentów preparatów do pielęgnacji ciała [56]. Technika ta umożliwia potwierdzenie struktury związków organicznych oraz służy do oznaczenia wybranej substancji w mieszaninach jakie stanowią kosmetyki. W tabeli 1 przedstawiono przykłady składników kosmetyków oznaczanych za pomocą spektrometrii mas.

Tabela 1. Zastosowanie spektrometrii mas do oznaczania składników w preparatach kosmetycznych
 Table 1. Application of mass spectrometry to detect ingredients in cosmetic formulations

Analit	Preparat kosmetyczny	Spektrometria mas	Ref.
Tetrapeptyd	krem	MALDI-TOF	[57]
Heksapeptyd	krem	MALDI-TOF	[58]
Oksybenzon	krem	ND-EESI-MS	[59]
Kwas 4-aminobenzoesowy	krem	ND-EESI-MS	[59]
Rezorcyna, metyloparaben	krem	DESI-MS	[60]
Etanoloamina, rezorcyna, Fenylendiamina	farba do włosów	DESI-MS	[60]
Sudan III	lakier do paznokci	MS/MS	[61]
Glikol dietylenowy	pastą do zębów	ND-EESI-MS	[62]
Metoksycynamonian etyloheksylu	krem	DESI	[63]

Aby określić skład próbki preparatu kosmetycznego (po uprzednim jej przygotowaniu – np. mieszanii z rozpuszczalnikiem i dodaniu matrycy wspomagającej jonizację), musi przejść ona do fazy gazowej. Następnie poddana jest jonizacji w celu nadania ładunku elektrycznego, co pozwala na oddziaływanie na nią pola elektrycznego lub magnetycznego. Wygenerowane jony ulegają rozdzieleniu i zliczana jest ich liczba w funkcji stosunku ich masy do ładunku. Głównymi składowymi każdego spektrometru mas są cztery elementy. Pierwszy stanowi układ wprowadzania próbki. Drugi to źródło jonów, gdzie analizowana substancja poddana jest jonizacji. Trzeci element to analizator masy, gdzie następuje rozdział jonów ze względu na stosunek masy do ładunku. Natomiast czwartą składową jest detektor, dzięki któremu rejestrowane są jony wyselekcjonowane przez analizator mas [64].

Obecnie dostępnych jest szereg technologii, które różnią się sposobem jonizacji próbki, separacji oraz techniką wykrywania powstałych jonów. Jonizacja strumieniem elektronów (ang. *electron ionization*, EI-MS) jest jedną z najstarszych metod generowania jonów. Jednakże, powoduje ona rozpad cząsteczek na fragmenty i niemożliwe jest zarejestrowanie masy całego analizowanego związku. Na widmie masowym zidentyfikować można tylko fragmenty badanej cząsteczki [65]. W związku z tym w ostatnich latach naukowcy wykorzystują tzw. łagodne techniki jonizacji (ang. *soft ionization*), takie jak jonizacja przez elektrorozpylanie (ang. *electrospray ionization*, ESI) oraz jonizację przez desorpcję laserową wspomaganą matrycą (ang. *matrix-assisted laser desorption ionization*, MALDI), które nie powodują fragmentacji cząsteczek. Obie techniki umożliwiają identyfikację dużych biocząsteczek takich jak np. peptydy czy białka. Jonizacja przez elektrorozpylanie została wykorzystana do scharakteryzowania modyfikowanych tetrapeptydów, które znalazły zastosowanie w preparatach przeciwzmarszczkowych [66]. Ponadto, ESI wykorzystano do klasyfikacji perfum i identyfikacji podrobionych próbek środków zapachowych [67].

Należy podkreślić, że większość zaawansowanych metod analitycznych stosowanych do badania kosmetyków wymaga odpowiedniego przygotowania próbki. W ostatnich latach naukowcy pracują nad tym, aby w jak największym stopniu usprawnić

i przyspieszyć procedurę analityczną. MALDI została wykorzystana do identyfikacji niskocząsteczkowych peptydów w preparatach kosmetycznych [57]. Metoda ta jest tzw. łagodną techniką jonizacji, ponieważ związki chemiczne można oznaczyć bez naruszenia ich struktury. Próbką zostaje wprowadzona do matrycy, której rolą jest jonizacja cząsteczek analitu. Powinna ona absorbować promieniowanie z zakresu UV, wykazywać stabilność w warunkach wysokiej próżni oraz charakteryzować się stosunkowo niską masą cząsteczkową. Ponadto, w niektórych przypadkach wprowadza się dodatkowe matryce, które mają wspomagać jonizację analitu. W tym celu użyto mezoporowate materiały typu SBA-15 do oznaczania peptydów obecnych w preparatach kosmetycznych [58]. Zastosowanie spektrometrii mas MALDI z matrycami wspomaganymi umożliwiło bezpośrednią identyfikację heksapeptydu w kremie bez jakiegokolwiek wstępnej obróbki.

Z kolei Chingin i wsp. wykorzystali ekstrakcyjną jonizację przez rozpylanie w polu elektrycznym (ang. *Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, EESI-MS,) do analizy składu perfum. Wykazano, że technika ta ma zastosowanie do szybkiego wykrywania zafalszowań na przykładzie autentycznego i fałszywego zapachu „Miss Dior” Christiana Dora. W metodzie tej próbka nie wymaga specjalnego przygotowania, w związku z tym może być użyta w przemyśle perfumeryjnym do kontroli jakości produktu [68]. Metodę tą wykorzystał również Zhang i wsp. [69] do bezpośredniej analizy kosmetyków takich jak perfumy, kremy, pasty do zębów. Technika ta pozwala na wykrycie i identyfikację składników produktów kosmetycznych bezpośrednio na ludzkiej skórze. Ta sama grupa badawcza wykryła obecność oksybenzonu i kwasu 4-aminobenzoesowego w preparatach przeciwsłonecznych przy użyciu odmiany ekstrakcyjnej jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym (ang. *Neutral Desorption Extractive Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, ND-EESI-MS) bez wstępnej obróbki próbki [59]. Dane eksperymentalne wykazały, że metoda ta może być użytecznym narzędziem do ilościowej analizy filtrów UV w produktach kosmetycznych. Z kolei Nizzia i wsp. [60] wykorzystali desorpcję z jonizacją przez elektrorozpylanie (ang. *Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, DESI) do oznaczania komponentów w farbie do włosów i kremie przeciw niedoskonałościom bez uprzedniego przygotowania próbki.

Kolejnym kierunkiem rozwoju spektrometrów mas dedykowanych analizie m.in. preparatów kosmetycznych jest dążenie do skonstruowania mobilnej i zminiaturyzowanej aparatury badawczej. Opracowanie takich urządzeń pozwoli na zmniejszenie zużycia energii elektrycznej oraz wykorzystywanych do analizy odczynników chemicznych. Ponadto, mniejsze oraz mobilne instrumenty badawcze mają niższą cenę, a co za tym idzie mogą być bardziej dostępne dla przemysłu kosmetycznego. Qiang i wsp. [70] wykorzystali kompaktowy spektrometr mas Mini 12 (ważący 25 kg) do analizy pudrów, pomadek, kremów i szamponów za pomocą jonizacji próbki w otoczeniu atmosferycznym. W próbkach cieni do powiek, pudrów do twarzy oraz szminek identyfikowano obecność barwników Sudan Red I, II, III, IV wykorzystując jonizację metodą ESI z zastosowaniem wymiennej kasety z papierowym nośnikiem. Z kolei

w szamponach i kremach wykrywano obecność parabenów takich jak: izopropylparaben, pentyloparaben, fenyloparaben, benzyloparaben.

Coraz częściej dopełnieniem obecnie stosowanych metod analitycznych jest obrazowanie za pomocą spektrometrii mas (ang. *Mass Spectrometry Imaging*, MSI). W technice tej źródło jonów oddziałuje na powierzchnię tkanki i możliwa jest analiza składu w trybie skanowania i mapowania wyników. Obrazowanie MSI zostało sprzężone z desorpcją z jonizacją przez elektrorozpylanie (DESI) do oceny przeznaskórkowego dostarczania soli potasowej kwasu 4-metoksycynalicynowego, która pełni w kremie funkcję środka wybielającego [71]. Badania wykazały, że substancja ta akumuluje się w warstwie rogowej naskórka, co jest typowe dla związków o umiarkowanym współczynniku podziału ($\log P = 2,10$). Obrazowanie za pomocą spektrometrii mas (MSI) zostało również sprzężone MALDI. W metodzie tej skrawki tkanek umieszcza się na specjalnych płytkach, na które nakładana jest matryca wspomagająca jonizację analitu. Następnie próbka poddana jest działaniu wiązki lasera i rejestrowane są widma masowe w całym badanym obszarze. Wyniki przedstawiane są w postaci map intensywności sygnałów. Oliveira i wsp. [61] wykorzystali MALDI-MSI do oznaczania związków w lakierach do paznokci, szminkach i eyelinerach. Jako matrycę użyto kwas alfa-cyano-4-hydroksycynamonowy rozpuszczony w mieszaninie acetonitrylu i metanolu. W przypadku pomadek i eyelinerów można było rozróżnić nowe, używane i przeterminowane produkty na podstawie ich profilu lipidowego. Z kolei w lakierach do paznokci określono ilościowo barwnik Sudan III, który jest potencjalnym czynnikiem rakotwórczym trzeciej klasy [72]. Warto nadmienić, że metoda MS ma pewne ograniczenia, szczególnie jeśli chodzi o identyfikację izomerów i określenie budowy przestrzennej analizowanego związku. W tym celu można zastosować magnetyczny rezonans jądrowy.

3. SPEKTROSKOPIA W PODCZERWIENI

Spektroskopia w podczerwieni jest również przydatna do analizy kosmetyków, ponieważ jest stosunkowo szybką i wysoce powtarzalną techniką. FT-IR umożliwia identyfikację grup funkcyjnych w związkach organicznych. Ze względu na to, że widma preparatów kosmetycznych są na ogół złożone, można wykorzystać je do celów porównawczych [73]. Różne techniki spektroskopii w podczerwieni takie jak: spektroskopia transmisyjna (TS, ang. *Transmission Spectroscopy*), fotoakustyczna (PAS, ang. *Photoacoustic Spectroscopy*), osłabionego całkowitego odbicia (ATR, ang. *Attenuated Total Reflectance*) i rozproszonego odbicia (DRS, ang. *Diffuse Reflectance Spectroscopy*) były stosowane do analizy m.in. pomadek [74,75], cieni do powiek, kredek oraz kremów [76,77]. Wybór odpowiedniej techniki podyktowany jest rodzajem próbki czy jest w formie stałej, płynnej czy sproszkowanej. Badania wykazały, że spektroskopia transmisyjna i fotoakustyczna najlepiej sprawdzają się w przypadku ciał stałych i proszków o niskiej zawartości wody. Z kolei spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia jest idealnym rozwiązaniem dla próbek ciekłych [75]. Należy podkreślić, że

ATR-FTIR jest obiecującą techniką do analizy kosmetyków, ponieważ próbka nie wymaga uprzedniego przygotowania, dzięki czemu jest mniej czasochłonna i przyjazna dla środowiska. Ponadto, należy podkreślić, że ATR-FTIR jest nieinwazyjna i niedestrukcyjna dla badanej próbki.

4. BADANIA STABILNOŚCI PREPARATÓW KOSMETYCZNYCH

Badanie stabilności preparatów kosmetycznych polega na ocenie zmian zachodzących w próbce w różnych warunkach temperaturowych w określonym czasie. Z punktu widzenia producenta kosmetyku istotne jest określenie jak długo dany produkt zachowa swoje właściwości i będzie mógł być bezpieczny oraz użyteczny dla konsumenta. Najczęściej stosowanymi w przemyśle kosmetycznym metodami do oceny stabilności jest test wirówkowy oraz termiczny. Pierwsza technika polega na umieszczeniu próbki w wirówce i poddaniu jej działaniu siły odśrodkowej. Na skutek obrotów układy niestabilne ulegają rozwarstwieniu na tworzące je fazy olejową i wodną, które ocenia się wzrokowo [78]. Coraz częściej testy wirówkowe łączy się z testami temperaturowymi stosując centryfugi z regulacją temperatury [79].

Natomiast w teście termicznym preparat przechowywany jest w określonej temperaturze przez dany czas i na podstawie obserwacji wzrokowej określa się zmiany w nim zachodzące. Wybrany kosmetyk dzieli się na trzy próbki i równolegle bada się stabilność w temperaturze niskiej, wysokiej oraz pokojowej, np. w temp. 4°C, 21°C i 45°C przez 8 tygodni [80]. W równych odstępach czasowych obserwuje się zmiany zachodzące w preparacie. W innej metodzie stabilność w tych warunkach bada się nawet do 6 miesięcy [78]. Warunki przechowywania nie są ściśle określone, producent dostosowuje badania do swoich produktów, aby wykazać ich stabilność w czasie. Ponadto zmiany zachodzące w próbce można obrazować za pomocą mikroskopu optycznego.

Istotne jest także, aby długoterminową stabilność preparatów określić w jak najkrótszym czasie. Producenci nie mogą pozwolić sobie na wielomiesięczne obserwowanie zmian zachodzących w próbce. W związku z tym opracowano testy przyspieszonego badania stabilności preparatów emulsyjnych wykorzystując do tego zmiany temperatur, tzw. „metoda szoków termicznych” [81]. Produkt kosmetyczny zostaje najpierw ogrzany do określonej temperatury, a następnie poddany gwałtownemu schłodzeniu. Inny sposób polega na ogrzaniu próbki i pozostawieniu jej w tych warunkach przez ściśle określony czas. W kolejnym etapie próbka jest chłodzona i pozostawiona w obniżonej temperaturze przez dany okres. Następnie cykl się powtarza kilka razy. Próbka określona jest jako stabilna, gdy badany układ nie ulegnie zmianie po przeprowadzeniu kilku takich cykli [81]. W nowoczesnych laboratoriach do badania stabilności preparatów wykorzystuje się komory klimatyczne, które umożliwiają sterowanie takimi parametrami jak: temperatura, wilgotność oraz naświetlenie promie-

niowaniem UV. Zastosowanie różnych warunków otoczenia pozwala na precyzyjną ocenę procesu starzenia się badanej próbki.

W ostatnich latach naukowcy opracowali bardziej zaawansowane metody instrumentalne badania stabilności kosmetyków bazujące na wykorzystaniu zjawiska wielokrotnego rozproszenia oraz dyfrakcji laserowej. Ponadto do oceny układów koloidalnych można wykorzystać potencjał zeta. Badania metodą wielokrotnego rozpraszania światła (ang. *multiple light scattering*, MLS) można przeprowadzić za pomocą urządzeń Turbiscan Lab (Formulation) lub Multiscan MS 20 (Data Physics Instruments). Aparaty te umożliwiają ocenę stabilności układów emulsyjnych w znacznie krótszym czasie niż w przypadku wyżej opisanych metod. Pełną analizę preparatów można przeprowadzić w ciągu około dwóch tygodni, co w znacznym stopniu może przyspieszyć opracowywanie nowych formułacji kosmetycznych [82]. Ponadto, na podstawie otrzymanych wyników można zidentyfikować zmiany zachodzące w próbce takie jak flokulacja, koalescencja, śmietanowanie czy sedymentacja [83]. Głównym elementem aparatu jest głowica, która skanuje próbkę w całej jej wysokości. Urządzenie wyposażone jest w źródło światła z zakresu bliskiej podczerwieni. Ponadto składa się również z detektora wstecznego rozproszenia (odbierającego światło padające na próbkę pod kątem 45°) oraz detektora transmisji, odbierającego światło padające pod kątem 180°. Dzięki temu wszystkie zmiany zachodzące w próbce są rejestrowane. Pomiar można prowadzić w temperaturze obniżonej, pokojowej i podwyższonej. Dodatkowym parametrem, który można wyznaczyć jest współczynnik stabilności tzw. ang. *Turbiscan Stability Index*, TSI [84]. Obliczany jest on na podstawie wszystkich procesów zachodzących w próbce w czasie i umożliwia porównywanie próbek względem siebie. Im niższy TSI, tym próbka bardziej stabilna, ponieważ zaobserwowano w niej najmniej zmian względem pierwszego pomiaru [85].

Kolejną zaawansowaną metodą instrumentalną do badania stabilności emulsji jest dyfrakcja laserowa, dzięki której można określić rozkład wielkości cząstek w badanym układzie dyspersyjnym. Elementem składowym urządzenia jest laser, który emituje wiązkę światła czerwonego. Ponadto, aparat wyposażony jest w źródło światła niebieskiego. Zasada działania aparatu opiera się na zjawisku dyfrakcji laserowej. Cząstki obecne w badanej próbce rozpraszają światło, które zbierane jest następnie przez układ detektorów. Dane analizowane są bazując na modelu Fraunhofera i teorii Mie, które opisują sposób rozpraszania i absorpcji światła przez cząstkę. Każdy rozmiar cząstki rozprasza światło w charakterystyczny i niepowtarzalny sposób, dzięki czemu możliwe jest ustalenie ich wielkości [86].

5. BADANIA APLIKACYJNE PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

Metody analityczne w kosmetyce nie ograniczają się tylko do analizy produktów kosmetycznych, ale są również wykorzystywane w podstawowych badaniach skóry i włosów, na które aplikowane są kosmetyki (badania aplikacyjne, instrumentalne) [87-91]. Kosmetyk wykazuje bowiem określone działanie pielęgnacyjne na skórę w zależno-

ści od składu jakościowego i ilościowego. Zanim zostanie wprowadzony gotowy produkt na rynek kosmetyczny należy także ocenić jego bezpieczeństwo i skuteczność działania za pomocą ujednoliconych standardów weryfikacyjnych. W związku z wprowadzeniem na terenie Unii Europejskiej zakazu testowania na zwierzętach preparatów i składników pielęgnacyjnych zaczęto rozwijać alternatywne metody oceny skuteczności i bezpieczeństwa kosmetyków. Metody alternatywne wykorzystują techniki *in vitro* (hodowle komórkowe, struktury biomimetyczne skóry), *ex vivo* (wyizolowane zwierzęce tkanki lub organy) oraz *in silico* (symulacje komputerowe, modele matematyczne). Ponadto wraz z rozwojem technologii poszerza się możliwość narzędzi do oceny działania i przenikania produktów kosmetycznych. Do najnowszych technik należy ultrasonografia skóry, czy optyczna tomografia koherencyjna. Ograniczeniem zaawansowanych technik często są wysokie koszty aparatury. W związku z tym często stosowanym etapem oceny produktu kosmetycznego są jego standardowe badania aplikacyjne. W tym celu przeprowadza się badania aparaturowe na skórze ochotników (probandów), którzy stanowić powinni grupę docelowych konsumentów badanego produktu. Należy pamiętać, że aplikowana substancja musi dawać gwarancję bezpieczeństwa. W tym celu stosuje się uprzednio ocenę potencjału drażniącego skórę (naskórkowe testy płatkowe) oraz analizę cytotoksyczności składnika czynnego. Do najczęściej przeprowadzanych testów *in vivo* zalicza się naskórkowe testy płatkowe oraz badania parametrów biofizycznych i biomechanicznych skóry z wykorzystaniem sond pomiarowych [92], np. Courage-Khazaka (Koln, Germany). Zespół sond jest połączony z komputerem, który prezentuje otrzymane wyniki w postaci cyfrowej. Pomiary powinny być przeprowadzane w kontrolowanych warunkach, w temperaturze 22-25°C i średniej wilgotności względnej 52-58% na ściśle określonych obszarach skóry. Poniżej przedstawiany zastosowanie i krótką charakterystykę najczęściej stosowanych sond do pomiarów parametrów biofizycznych skóry.

5.1. KORNEOMETR - CORNEOMETER® CM 825

Corneometer® (Courage & Khazaka, Germany) jest uznaną metodą dokładnego i powtarzalnego określania poziomu nawilżenia powierzchni skóry poprzez pomiar pojemności elektrycznej warstwy rogowej. Metoda ta opiera się na liniowej zależności właściwości elektrycznych naskórka od jego uwodnienia. Im więcej wody znajduje się w naskórku, tym większa jest jego pojemność elektryczna. Sonda działa przy niskiej częstotliwości (40-75 Hz) [93]. Wyniki prezentuje się jako średnią kilku pomiarów i przedstawia w arbitralnych jednostkach od 0 do 130.

5.2. TEWAMETR – TEWAMETER® TM 300

Transepidermalną utratę wody (ang. *Transepidermal Water Loss*, TEWL) oceniano metodą ewaporymetryczną (Tewameter® TM 300; Courage & Khazaka). System oparty jest na wydrążonym cylindrze z dwoma czujnikami higroskopijnymi i temperatury, mierzącymi ciśnienie pary wodnej w różnych odległościach od powierzchni skóry. TEWL jest obliczany na podstawie różnicy pomiędzy dwoma punktami pomiarowymi

z wykorzystaniem prawa dyfuzji Ficka i wyświetlany w gramach na godzinę na metr kwadratowy (g/h/m^2) [94]. Transepidermalna utrata wody i nawilżenie skóry są szeroko stosowane jako wskaźniki oceny funkcji bariery skórnej. TEWL odpowiada za dyfuzję skondensowanej wody przez *stratum corneum* (SC) podczas gdy nawilżenie skóry odzwierciedla zawartość wody w SC. Zmienioną funkcję bariery skórnej charakteryzuje podwyższony TEWL, który obserwuje się w wielu chorobach skóry (np. atopowe zapalenie skóry i łuszczyca) oraz w badaniach eksperymentalnych (np. stosowanie rozpuszczalników i detergentów). Co więcej, podwyższone wartości TEWL w zaburzonej barierze skórnej są często skorelowane z niskim nawilżeniem skóry.

5.3. MEXAMETR – MEXAMETER® MX 18

Sonda Mexameter® MX 18 (Courage & Khazaka, Germany) pozwala zmierzyć poziom zabarwienia oraz zaczerwienienia skóry. Ma postać prostego reflektometru, którego działanie opiera się na absorpcji/odbiciu światła od powierzchni skóry. Urządzenie to wyposażone jest w 16 diod elektroluminescencyjnych (LED) rozmieszczonych kołowo, które emitują światło o 3 określonych długościach fali świetlnej: 568 nm, 660 nm, 880 nm. Odpowiadają one kolejno światłu zielonemu, czerwonemu i podczerwonemu [95]. Odbiornik mierzy odbicie światła od skóry. Ponieważ ilość emitowanego światła jest określona, można obliczyć ilość światła pochłoniętego przez skórę. Polega to na pomiarze światła pochłoniętego i odbitego o długości fal w zakresie zieleni i czerwieni dla hemoglobiny oraz długości fal w zakresie czerwieni i bliskiej podczerwieni dla melaniny. Niepewność pomiaru: $\pm 5\%$ Średnia z trzech pomiarów przedstawiana jest w jednostkach arbitralnych od 0 do 999. Średnica przyrządu wynosi 24 mm, średnica pola pomiarowego 5 mm (powierzchnia $19,6 \text{ mm}^2$). Ponieważ ilość emitowanego światła jest określona, można obliczyć ilość światła pochłoniętego przez skórę. Mexameter® MX 18 zapewnia pomiar pochłoniętego i odbitego światła o długości fali w zakresie zielonym i czerwonym dla hemoglobiny oraz długości fal w czerwieni i bliskiej podczerwieni dla melaniny. Indeks melaniny jest obliczany na podstawie intensywności zaabsorbowanego i odbitego światła przy, odpowiednio 660 i 880 nm. Wskaźnik rumienia jest natomiast obliczany na podstawie intensywności zaabsorbowanego i odbitego światła o długości fali, odpowiednio, 568 i 660 nm. Analizy przeprowadza się na obszarze o powierzchni $19,6 \text{ mm}^2$, co odpowiada tarczy o średnicy 5 mm. Pomiaru dokonuje się poprzez przyłożenie sondy ze stałym naciskiem do badanego obszaru skóry.

5.4. KOLORYMETR -KOLORYMETR® CL 400

Kolorymetr® CL 400 (Courage & Khazaka, Germany) mierzy koloryt skóry zawiera sondę emitującą białe światło LED (dioda elektroluminescencyjna) od 440 do 670 nm, które jest rozmieszczone kołowo, aby równomiernie oświetlić skórę. Emitowane światło jest rozpraszane we wszystkich kierunkach, część przechodzi przez warstwy skóry i jest rozpraszana poza nią. Światło odbite jest mierzone przez sondę na zasadzie kolorymetrii trójkromatycznej. Pomiaru prowadzone są w przestrzeni barw L^*a^*b , która stanowi najpopularniejszy sposób opisu kolorów [95]. Wartości L^* określają jasność i ciemność

koloru i dobrze korelują z jasnością i ciemnością koloru skóry. Wartość a^* mierzy rumień skórny i zależy od składu melaniny oraz skórno przepływu krwi. Wartość b^* określa konstytucjonalną pigmentację i zdolność do opalania się danej osoby, a konkretnie zmiany w karotenoidach, syntezie melaniny i utlenianiu po ekspozycji na promieniowanie UV. Parametry L^* i b^* mogą być wykorzystywane do klasyfikacji konstytutywnej pigmentacji zgodnie z indywidualnym kątem typologicznym (ang. *individual typology angle*, ITA°). Kolorymtr został opracowany w ramach standaryzacji Commission Internationale de l'Eclairage (CIE), międzynarodowego autorytetu w dziedzinie światła i koloru, jako obiektywne narzędzie do kwantyfikacji koloru, które odzwierciedla ludzkie widzenie barw.

5.5. SEBUMETR - SEBUMETER® SM 815

Sebumetria jest powszechnie używana do ilościowego określania wydzielania sebum na powierzchni skóry. Pomiar oparty jest na fotometrii plamek tłuszczu. Mata Sebumeter® SM 815 (Courage & Khazaka, Germany) po zetknięciu się ze skórą staje się przezroczysta w zależności od zawartości łoju na powierzchni mierzonego obszaru. Przepuszczalność światła taśmy mierzy się po około 30 s kontaktu ze skórą przez fotokomórkę, która jest wewnątrz urządzenia. W celu odczytu pomiaru należy włożyć część kasetki do otworu przeznaczony do sebumetru w podstawie systemu sond MPA. Przepuszczalność światła odzwierciedla zawartość sebum. Głowica pomiarowa kasety odsłania odcinek pomiarowy taśmy maty o powierzchni 64 mm². Podczas pomiaru taśma jest przesuwana do przodu za pomocą spustu umieszczonego z boku kasety, aby odsłonić nowy odcinek taśmy. Jednostki sebumetru od 0-350 (w przybliżeniu µg/cm² w określonym zakresie), niepewność pomiaru: ± 5%.

5.6. TERMOMETR DO SKÓRY – SKIN THERMOMETER® ST500

Skin-Thermometer® ST500 (Courage & Khazaka, Germany) mierzy temperaturę powierzchni skóry (°C) i jest oparty na technice spektroskopii w podczerwieni. Rozdzielczość dla tej techniki to 0,1°C, a temperaturę wyznacza się w zakresie 22-40° C. Bezdotykowy pomiar wykonywany bardzo szybko (1 s) zapewnia brak wpływu na mikrokrążenie w skórze.

5.7. PEHAMETR- SKIN-PH-METER® PH 905

Jest elektrodą polarną, która w jednej obudowie zawiera zarówno elektrodę aktywną (elektroda szklana, wrażliwa na jony H⁺) oraz ułatwiającą pomiar, wysokiej jakości elektrodę kombinowaną (zwaną również elektrodą odniesienia), która łączy się z uchwytem sondy zawierającym część pomiarową. Pomiar polega na wielokrotnym przykładaniu elektrody do określonego obszaru skóry. W celu uzyskania optymalnego kontaktu pomiędzy powierzchnią pomiarową elektrody a powierzchnią skóry, elektrodę należy trzymać pod kątem prostym do skóry i z delikatnym naciskiem. Kwaśne pH powierzchni skóry jest ważne dla homeostazy SC i utrzymania flory bakteryjnej. Pomiaru

pH powierzchni skóry dokonuje się za pomocą szklanych elektrod planarnych podłączonych do woltomierza. To, co w rzeczywistości mierzy się to jest "pozorne pH skóry", ponieważ pojęcie pH odnosi się do roztworów wodnych, a na powierzchni skóry znajdują się lipidy i inne związki, które uwalniają jony H^+ do wody naniesionej na skórę za pomocą elektrody.

5.8. GLOSSYMETER® GL200

Glossymeter® GL200 (Courage & Khazaka, Germany) stosuje się do oceny gładkości skóry i wyraża on część światła odbitego bezpośrednio (gloss) oraz część rozproszoną (ang. *diffuse scattered*) od powierzchni skóry [96]. Pomiar połysku opiera się na odbiciu światła wysyłanego do skóry. Równoległe białe światło jest wytwarzane przez diody LED umieszczone w głowicy sondy. Dwa oddzielne kanały pomiarowe mierzą światło odbite. Bezpośrednio odbite światło jest ponownie kierowane przez lustro pod kątem 60° do kanału refleksyjnego. Rozproszone światło odbite jest mierzone pod kątem 0° (całkowicie pionowo nad mierzoną powierzchnią) przy założeniu, że światło jest rozpraszane w ten sam sposób na wszystkich stopniach. Na skórze część światła przenika do górnych warstw i ulega rozproszeniu, głównie w zależności od koloru skóry (ciemna skóra rozprasza się mniej niż jasna). Pomiar jest połączony w unikalny wyświetlacz, który umożliwia bardzo szybki pomiar (1 sekunda) i jest bardzo łatwy w obsłudze. Oprócz wartości połysku, przy każdym pomiarze wyświetlana jest również wartość rozproszenia światła. Unikalna korekcja rozproszenia światła minimalizuje wpływ koloru skóry na wynik pomiaru.

5.9. SONDA WYKORZYSTYWANA DO POMIARÓW PARAMETRÓW BIOMECHANIZCZNYCH SKÓRY - CUTISCAN CS 100

CutiScan CS 100 (Courage-Khazaka Electronic, Köln, Niemcy) to stosunkowo najnowsza sonda, która została zaprojektowana, aby dostarczyć informacji na temat właściwości elastyczności skóry i lepkosprężystości, jak również anizotropii i kierunkowości skóry. Urządzenie to zawiera sondę, która w unikalny sposób łączy siłę mechaniczną z obrazowaniem. Składa się ona z pierścienia ssącego (o średnicy 14 mm), który pod stałym podciśnieniem równomiernie rozciąga skórę we wszystkich kierunkach. Podczas zasysania i odzyskiwania, kamera CCD o wysokiej rozdzielczości wewnątrz sondy monitoruje przemieszczenie każdego piksela za pomocą algorytmu przepływu optycznego w obrazie wideo. Na podstawie tego wideo generowany jest ogólny wykres zawierający wartości 0-360 stopni, jak również inne parametry ilościowe. Cutiscan winien być dostosowany do podstawowego cyklu obciążenia przy stałym ciśnieniu 400 mbar, utrzymywany przez 3 s, a następnie zwalniany, po czym następuje okres relaksacji trwający około 3 s. Cutiscan podaje odczyty V1 (maksymalne przemieszczenie podczas ssania) i V2 (wartości powrotne), wyrażone w pikselach, oraz V3 ($V2/V1$), wyrażone w procentach [97]. V3 odnosi się do zdolności do przeciwstawienia się przemieszczeniu

w stosunku do zdolności do powrotu do pozycji wyjściowej. Im wyższa wartość V_3 , tym lepsza sprężystość.

6. BADANIA PRZENIKANIA PRODUKTÓW KOSMETYCZNYCH

Badanie przenikalności metodami analitycznymi umożliwia teoretyczną ocenę biodostępności danego składnika kosmetyku. Jest to bardzo istotne, ponieważ efektywność działania formułacji kosmetycznych zależy m.in. od zdolności penetracji do głębszych warstw naskórka poszczególnych składników aktywnych. W celu oceny transdermalnego dostarczania produktów kosmetycznych przeprowadzić można następujące procedury:

- tzw. „test zdzierania” (ang. *stripping test*) wraz z spektrometrią mas z jonizacją przez elektrorozpylanie w polu elektrycznym (ESI-MS). Preparaty testuje się na zgięciowej stronie przedramienia uczestnika badania wyznaczając miejsca aplikacji o określonych wymiarach, a następnie za pomocą np. plastikowej strzykawki jednorazowego użytku nanosi się na wyznaczone miejsca na skórze sprecyzowaną ilość preparatu [98]. Kremy pozostawia się w kontakcie ze skórą przez 2 godziny przed ich usunięciem. Następnie taśmą kolejno okleja się odsłonięte kwadratowe miejsca skóry (10 razy). Warto dokonać pomiaru grubości naskórka przed i po zdzieraniu taśmy za pomocą metod obrazowych, np. ultrasonografii (USG) skóry. Po usunięciu, taśmy umieszcza się w probówce z metanolem. Uzyskane roztwory metanolu analizuje się na zawartość składników badanego kosmetyku metodą ESI-MS. W celu ustalenia zakresu pomiarów ESI-MS pozwalającego na jakościowe i ilościowe oznaczanie składników kosmetyków w roztworach metanolowych, w zakresie jonów ujemnych, przygotowuje się serię wzorcowych metanolowych roztworów badanego składnika. W oparciu o przygotowane roztwory wzorcowe wyznacza się niezbędne w analizie chemicznej parametry analityczne charakterystyczne dla danej metody. Stosując „test zdzierania” należy pamiętać także o tzw. granicy wykrywalności (ang. *limit of detection*, LOD), będącym stężeniem substancji, poniżej którego nie można odróżnić tożsamości substancji od artefaktów analitycznych.
- określone głębokości penetracji składników kosmetyków przez warstwy skóry w modelu z spektroskopią ramanowską. Metoda konfokalnej spektroskopii ramanowskiej może być wykorzystana do określenia zawartości wody oraz innych substancji na różnych głębokościach skóry. W spektroskopii Ramana próbka jest naświetlana monochromatycznym światłem laserowym o małej mocy. Cząsteczki są wzbudzone do stanów wibracyjnych i rozpraszają światło o długości fali różnej od światła wzbudzającego (widmo Ramana). Rozproszone światło jest przechwytywane i analizowane, dzięki czemu możliwe są nieinwazyjne pomiary *in vivo* i *in vitro* składu molekularnego i stężenia w mikroskopijnych objętościach na różnych głębokościach skóry [99].

UWAGI KOŃCOWE

Metody badań analitycznych stanowią ważne narzędzia, które pozwalają na rozwiązywanie problemów związanych z rozwojem czy kontrolą jakości produktów kosmetycznych. Aktualnie obserwujemy rosnące zainteresowanie naturalnymi preparatami kosmetycznymi, które stanowią często wieloskładnikowe mieszaniny znacznie trudniejsze w standaryzacji. To sprawia, że jednoznaczne określenie składu surowca, użytego w kosmetyku, jest wyzwaniem. Kolejną kwestią pozostaje wpływ zastosowanych surowców na stabilność formuły kosmetycznej. W celu zapewnienia bezpieczeństwa kosmetyku badania analityczne powinny być poszerzone o badania dermatologiczne oraz mikrobiologiczne. W ostatnim czasie wiele uwagi poświęca się sposobom przygotowania próbek kosmetycznych do badań analitycznych, mających na celu zapewnienie zrównoważonego rozwoju i zminimalizowanie negatywnego wpływu na środowisko.

PODZIĘKOWANIE

Autorki artykułu pragną serdecznie podziękować Panu Profesorowi Grzegorzowi Schroederowi za nieocenioną pomoc w analizie i dyskusji wyników badań dotyczących preparatów kosmetycznych, za zrozumienie, zaraźliwy entuzjazm oraz ogromne wsparcie, które prowadziły je podczas kolejnych lat owocnej współpracy i pozwalały spoglądać dalej...

PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Salvador, A. Chisvert, *Analysis of cosmetic products*, Elsevier, Amsterdam, 2007.
- [2] R. Chophi, S. Sharma, S. Sharma, R. Singh, *Forensic Chem.* 2019, **14**, 100165.
- [3] J. W. Jorgenson, *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 4540.
- [4] M. Kamiński, In *Postępy chromatografii*, Wydawnictwo Akademii Podlaskiej, Siedlce, 2009, 79.
- [5] L. R. Snyder, J. W. Dolan, *Milestone in the Development in Liquid Chromatography, Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation*. Elsevier, Amsterdam, 2013, pp. 1–17.
- [6] M. Kaspereit, A. Seidel-Morgenstern, *Process Concepts in Preparative Chromatography, Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation.*, Elsevier, Amsterdam, 2013, pp. 427–452.
- [7] G. Abedi, Z. Talebpour, F. Jamechenarboo, *Trends Anal. Chem.* 2018, **102**, 41.
- [8] J. Pérez-Outeiral, E. Millán, R. Garcia-Arrona, *J. Sep. Sci.* 2015, **38**, 1561.
- [9] P. Correia, A. Cruz, L. Santos, A. Alves, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2013, **35**, 299.
- [10] C. Villa, R. Gambaro, E. Mariani, S. Dorato, *J. Pharma Biomed. Anal.* 2007, **44**, 755.
- [11] R. Bossi, S. C. Rastogi, G. Bernard, E. Gimenez-Arnau, J. D. Johansen, J.-P. Lepoittevin, T. Menné, *J. Sep. Sci.* 2004, **27**, 537.
- [12] A. Bettero, C. A. Benassi, *J. Pharma. Biomed. Anal.* 1983, **1**, 229.
- [13] G. Famigliini, V. Termopoli, P. Palma, F. Capriotti, A. Cappiello, *Electrophoresis*, 2014, **35**, 1339.
- [14] R. Hiserodt, L. Chen, *Recent, ACS Symposium Series*, 2012, 1098, 71.
- [15] J. A. Ocaña-González, M. Villar-Navarro, M. Ramos-Payán, R. Fernández-Torres, M. A. Bello-López, *Anal. Chim. Acta* 2015, **858**, 1.

- [16] M. Borremans, J. Van Looco, P. Roos, L. Goeyens, *Chromatographia* 2004, **59**, 47.
- [17] N. Memon, M. I. Bhangar, M. Y. Khuwawer, *J. Sep. Sci.* 2005, **28**, 635.
- [18] N. Youngvises, T. Chaida, S. Khonyoung, N. Kuppithayanant, W. Tiyapongattana, A. Itharat, *J. Jakmunee, Talanta* 2013, **106**, 350.
- [19] M. Mincea, I. Lupşa, I. Talpoş, V. Ostafe, *Acta Chromatogr.* 2009, **21**, 591.
- [20] T. Wu, C. Wang, X. Wang, Q. Ma, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2008, **30**, 367.
- [21] N. Pedjie, Perkin Elmer, Application Note, 2010.
- [22] T. Fei, H. Li, M. Ding, M. Ito, J.-M. Lin, *J. Sep. Sci.* 2011, **34**, 1599.
- [23] Q. Zhang, M. Lian, L. Liu, H. Cui, *Anal. Chim. Acta* 2005, **537**, 31.
- [24] I. Martins, F. C. Carreira, L. S. Canaes, F. A. de Souza Campos Junior, L. M. da Silva Cruz, S. Rath, *Talanta* 2011, **85**, 1.
- [25] W. Thongchai, B. Liawruangrath, S. Liawruangrath, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2007, **29**, 488.
- [26] M.-L. Chang, C.-M. Chang, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2003, **33**, 617.
- [27] C.-H. Lin, H.-L. Wu, Y.-L. Huang, *J. Chromatogr. B* 2005, **829**, 149.
- [28] C.-H. Lin, J.-Y. Sheu, H.-L. Wu, Y.-L. Huang, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2005, **38**, 414.
- [29] C.-H. Lin, H.-L. Wu, Y.-L. Huang, *Anal. Chim. Acta* 2007, **581**, 102.
- [30] L. Majhenič, M. Škerget, Ž. Knez, *Food Chem.* 2007, **104**, 1258.
- [31] M. De Leo, M. B. De Abreu, A. M. Pawlowska, P. L. Cioni, A. Braca, *Phytochem. Lett.* 2010, **3**, 48.
- [32] Q-W. Zhang, L-G. Lin, W-C. Ye, *Chin. Med.* 2018, **13**, 20.
- [33] S. C. Rastogi, *J. High Resolut. Chromatogr.* 1995, **18**, 653.
- [34] J. L. Reiner, K. Kannan, *Chemosphere* 2006, **62**, 867.
- [35] V. Ciuvasoaita, E. Adomavičiute, V. Vickackaite, *Chemija*, 2007, **18**, 11.
- [36] M. Llopart, M. Celeiro, J. Pablo Lamas, L. Sanchez-Prado, M. Lores, C. Garcia-Jares, *J. Chromatogr. A* 2013, **1293**, 10.
- [37] E. Giménez Arnau, K. E. Andersen, M. Bruze, P. J. Frosch, J. D. Johansen, T. Menné, S. C. Rastogi, I. R. White, J. P. Lepoittevin, *Contact Derm.* 2000, **43**, 351.
- [38] M. Del Nogal Sánchez, J. L. Pérez-Pavón, B. Moreno Cordero, *Anal. Bioanal. Chem.* 2010, **397**, 2579.
- [39] A. Rey, E. Corbi, C. Pérès, N. David, *J. Chromatogr. A* 2015, **1404**, 95.
- [40] C. Debonneville, A. Chaintreau, *J. Chromatogr. A* 2004, **1027**, 109.
- [41] F. David, C. Devos, D. Joulain, A. Chaintreau, P. Sandra, *J. Sep. Sci.* 2006, **29**, 1587.
- [42] L. Sanchez-Prado, M. Llopart, J. P. Lamas, C. Garcia-Jares, M. Lores, *Talanta* 2011, **85**, 370.
- [43] S. Masoum, A. Gholami, S. Ghaheri, D. J.-R. Bouveresse, C. B. Y. Cordella, D. N. Rutledge, *J. Sep. Sci.* 2016, **39**, 2760.
- [44] H. Dong, H. Tang, D. Chen, T. Xu, L. Li, *Talanta* 2014, **120**, 248.
- [45] H. Leijts, J. Broekmans, L. van Pelt, C. Mussinan, *J. Agric. Food Chem.* 2005, **53**, 5487.
- [46] M. S. Dunn, N. Vulic, R. A. Shellie, S. Whitehead, P. Morrison, P. J. Marriott, *J. Chromatogr. A* 2006, **1130**, 122.
- [47] R. Shellie, P. Marriott, A. Chaintreau, *Flavour Frag. J.* 2004, **19**, 91.
- [48] C. Struppe, B. Schäfer, W. Engewald, *Chromatographia* 1997, **45**, 138.
- [49] P. Q. Tranchida, M. Maimone, F. A. Franchina, T. R. Bjerk, C. A. Zini, G. Purcaro, L. Mondello, *J. Chromatogr. A* 2016, **1439**, 144.
- [50] S. Shibuta, T. Imasaka, T. Imasaka, *Anal. Chem.* 2016, **88**, 10693.
- [51] A. Prichodko, M. Mockunaite, V. Šmitiene, V. Vičkačkaite, *Chemija* 2011, **22**, 155.
- [52] M. A. Farajzadeh, E. M. Khosrowshahi, P. Khorram, *J. Sep. Sci.* 2013, **36**, 3571.
- [53] R. Jain, M. K. R. Mudiam, A. Chauhan, R. Ch, R. C. Murthy, H. A. Khan, *Food Chemistry* 2013, **141**, 436.
- [54] J. J. Thomson, *Lond. Edinb., Dublin Philos. Mag. J. Sci.* 1912, **24**, 209.
- [55] F. W. Aston, *Nature* 1920, **105**, 617.
- [56] A. Motoyama, K. Kihara, *Mass Spectrometr.* 2017, **6**, S0071.
- [57] A. Olejnik, G. Schroeder, I. Nowak, *Int. J. Pharm.* 2015, **492**, 161.

- [58] A. Olejnik, I. Nowak, K. Eitner, G. Schroeder, *Int. J. Pept. Res. Ther.* 2013, **19**, 217.
- [59] X. Zhang, Y. Liu, J. Zhang, Z. Hu, B. Hu, L. Ding, L. Jia, H. Chen, *Talanta* 2011, **85**, 1665.
- [60] J. L. Nizzia, A. E. O'Leary, A. T. Ton, C. C. Mulligan, *Analytical Methods* 2013, **5**, 394.
- [61] D. N. de Oliveira, S. de Bona Sartor, M. S. Ferreira, R. R. Catharino, *Materials* 2013, **6**, 1000.
- [62] J. Ding, H. Gu, S. Yang, M. Li, J. Li, H. Chen, *Anal. Chem.* 2009, **81**, 8632.
- [63] T. L. Salter, F. M. Green, N. Faruqui, I. S. Gilmore, *Analyst* 2011, **136**, 3274.
- [64] R. Frański, G. Schroeder, *Zastosowanie spektrometrii mass w chemii supramolekularnej*, Beta Graf P.U.H. Poznań, 2003.
- [65] G. Bartkowiak, G. Schroeder, In *Receptory molekularne - właściwości i zastosowanie*, Cursiva, Kostrzyn, 2009, 9.
- [66] A. Olejnik, A. Kapuscinska, G. Schroeder, I. Nowak, *Amino Acids* 2017, **49**, 1718.
- [67] L. de A. Marques, R. R. Catharino, R. E. Bruns, M. N. Eberlin, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2006, **20**, 3654.
- [68] K. Chingin, G. Gamez, H. Chen, L. Zhu, R. Zenobi, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2008, **22**, 2009.
- [69] X. Zhang, N. Wang, Y. Zhou, Y. Liu, J. Zhang, H. Chen, *Anal. Methods* 2013, **5**, 311.
- [70] Q. Ma, H. Bai, W. Li, C. Wang, X. Li, R. G. Cooks, Z. Ouyang, *Anal Chim Acta* 2016, **912**, 65.
- [71] A. Motoyama, K. Kihara, *Mass Spectrometr.* 2017, **6**, S0071.
- [72] N. A. G. Ahmed Refat, Z. S. Ibrahim, G. G. Moustafa, K. Q. Sakamoto, M. Ishizuka, S. Fujita, *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2008, **22**, 77.
- [73] S. Pasieczna-Patkowska, T. Olejnik, *Ann. UMCS (Lubl.)*, 2013, 95.
- [74] S. Sharma, S. S. Sahota, R. K. Garg, *Int. J. Med. Toxicol. Leg. Med.* 2016, **19**, 36.
- [75] M. Gładysz, M. Król, P. Kościelniak, *Forensic Sci. Int.* 2017, **280**, 130.
- [76] A. Rohman, Y. B. Che Man, *Middle-East, J. Sci. Res.* 2011, **7**, 726.
- [77] M. C. Gamberini, C. Baraldi, F. Palazzoli, E. Ribechini, P. Baraldi, *Vib. Spectrosc.* 2008, **47**, 82.
- [78] J. Gościańska, A. Olejnik, I. Nowak, *Analityka środków kosmetycznych*, Cursiva, Kostrzyn, 2012.
- [79] T. F. Tadros, *Emulsion formation and stability*, John Wiley & Sons, Weinheim, 2013.
- [80] I. Roland, G. Piel, L. Delattre, B. Evrard, *Int. J. Pharm.* 2003, **263**, 85.
- [81] R. Zieliński, *Surfaktanty: towaroznawcze i ekologiczne aspekty ich stosowania*, Akademia Ekonomiczna w Poznaniu, Poznań, 2000.
- [82] T. F. Tadros, *Colloids and interface science series*, Wiley-VCH-Verlag, Weinheim, 2006.
- [83] J. Liu, X. Huang, L. Lu, M. Li, J. Xu, H. Deng, *J. Hazard Mater.* 2011, **190**, 214.
- [84] W. Kang, B. Xu, Y. Wang, Y. Li, X. Shan, F. An, J. Liu, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2011, **384**, 555.
- [85] A. Olejnik, A. Sliwowska, I. Nowak, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.* 2018, **558**, 558.
- [86] X. Huang, Y. Kakuda, W. Cui, *Food Hydrocoll.* 2001, **15**, 533.
- [87] T. Mitsui, *New cosmetic science*, Elsevier, New York, 1997.
- [88] B.K. Hwang, S. Lee, J. Myoung, S.J. Hwang, J.M. Lim, E.T. Jeong, S.G. Park, S.H. Youn, *Microbiologyopen.* 2021, **10**, e1236
- [89] P. Rattanawiwatpong, R. Wanitphakdeedecha, A. Bumrungpert, M. Maiprasert, *J. Cosmet. Dermatol.* 2020, **19**, 671.
- [90] M.O. de Melo MO, P.M.B.G. Maia Campos, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2019, **41**, 579.
- [91] J.S. Lee, J. Ha, K. Shin, H. Kim, S. Cho, *Ann. Dermatol.* 2019, **31**, 175.
- [92] G. J. Nohynek, E. Antignac, T. Re, H. Toutain, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010, **243**, 239.
- [93] U. Heinrich, U. Koop, M. Leneveu-Duchemin, K. Osterrieder, S. Bielfeldt, C. Chkamat, J. Degwert, D. Häntschel, S. Jaspers, H. Nissen, *Int. J. Cosmet. Sci.* 2003, **25**, 45.
- [94] V. Rogiers, *Skin Pharmacol. Physiol.* 2001, **14**, 117.
- [95] A. R. Matias, M. Ferreira, P. Costa, P. Neto, *Skin Res. Technol.* 2015, **21**, 346.
- [96] T. Gajjar, N. Patel, M. Patel, *J. Dermat. Cosmetol.* 2021, **5**, 6.
- [97] C. Rosado, F. Antunes, R. Barbosa, R. Fernando, M. Estudante, H. N. Silva, L. M. Rodrigues, *Skin Res. Technol.* 2017, **23**, 429.

- [98] P. Rodríguez, F. González-Mujica, J. Bermúdez, M. Hasegawa, *Fitoterapia* 2010, **81**, 1220.
[99] D. Antonov, S. Schliemann, P. Elsner, *Curr. Probl. Dermatol.* 2016, **49**, 61.

Praca wpłynęła do Redakcji 22 maja 2022 r.