

Chromatograficzne metody oznaczania parabenów w próbkach środowiskowych i kosmetykach (cz. II)

Aleksandra Kozarska, Iwona Krzyżewska

Metody HPLC

Wśród metod detekcji HPLC, używanych do analizy parabenów w kosmetykach, najczęściej używa się detektorów UV. Natomiast w próbkach środowiskowych ilość metod analitycznych jest ograniczona w związku z niską czułością HPLC-DAD w porównaniu do metod alternatywnych [1].

HPLC-UV

HPLC z detektorem UV jest wykorzystywany do oznaczeń parabenów i przeciwbakteryjnych środków konserwujących 2-fenoksyetanolu i 1-fenoksypropan-2-olu w próbkach szamponu i mleczka do ciała [1]

Chromatografię micelną z zastosowaniem środka powierzchniowo czynnego Brij-35 wykorzystano do analiz parabenów, kwasu p-hydroksybenzoesowego i kwasu benzoowego w kosmetykach (a także próbkach żywności i farmaceutykach) poprzez nastrzyk bezpośredni próbki kosmetyku rozpuszczonego w propanolu [1].

Chromatografia micelarna wykorzystana była również do oznaczania parabenów z użyciem przedkolumny C₁₈ zamiast komercyjnie pakowanej kolumny HPLC i micelarnej

fazy mobilnej SDS. Separację osiągnięto w czasie mniejszym niż 5 min., z użyciem fazy ruchomej o niskiej zawartości rozpuszczalnika organicznego (tylko 0,5% w n-pentanolu). Ta metoda pozwoliła również na separację mieszanin innych związków organicznych, tj. histamin, leków na przeziębienie czy lokalnych leków przeciwbólowych, przy czym wymagała ona dodatkowych korekt w porównaniu do opisywanej metody [1].

Ultrasprawa chromatografia cieczowa (UPLC) z detektorem UV została zastosowana do oznaczania parabenów. Wykorzystano krótką kolumnę C₁₈ o wielkościach cząstek 1-2 μm i osiągnięto satysfakcjonujący rozdział w krótkich czasach: mniejszym niż 5 min., gdy analizowano tylko parabenów oraz w czasie poniżej 9 min. przeprowadzono analizę parabenów łącznie z innymi środkami konserwującymi. Podobnie i w tym przypadku wymagana objętość fazy ruchomej była mniejsza w porównaniu z konwencjonalną HPLC, podobnie obserwowano niższe generowanie odpadów – zużytych rozpuszczalników organicznych. Z drugiej strony UPLC wymaga stosowania wyższych ciśnień, co

przekłada się odpowiednio na wyższy koszt analiz instrumentalnych [1].

Metody ekstrakcji, włączając mikroekstrakcję i SPE, stosuje się do oznaczania parabenów w próbkach środowiskowych (tj. wody, gleby czy osady rzeczne), ponieważ pozwalają na osiągnięcie znaczących poziomów wstępnego zateżenia i skutecznego oczyszczania próbki. Ostateczną analizę wykonuje się również metodami HPLC z detekcją UV [1]. Opracowano metodę oznaczania benzofenonu, triklokarbanu i parabenów w próbkach wody słodkiej z zastosowaniem kruszywa korkowego jako powłoki ruchomego elementu sorpcyjnego w mikroekstrakcji adsorpcyjnej i HPLC-DAD. Elementy sorpcyjne o długościach 7,5 i 15mm były używane. Optymalne warunki ekstrakcji obejmowały pH 5,5 próbki, stężenie NaCl 25% i czas ekstrakcji 90 min. Desorpcja cieczowa była prowadzona przez 30 min. 250 μl (dla elementu o długości 15 mm) i 100 μl (dla elementu o długości 7,5mm) mieszaniny acetonitrylu i metanolu (50:50). Granica oznaczalności kształtowała się na poziomie 1,6-20 μg/l (element 15 mm)

i 0,64-8 μg/l (element 7,5 mm). Metoda z elementem ruchomym o długości 7,5 mm charakteryzowała się odzyskami od 65 do 123% [25].

HPLC z innymi systemami detekcji

Jako alternatywę dla detektora UV, zastosowano również sprzężenie detektora chemiluminescencyjnego (CL) z HPLC z wykorzystaniem kolumny C₈ w celu oznaczenia MP, EP, PP i BP w kosmetykach do mycia (a także wybranych próbkach żywności) [1].

Elektrochemiczne oddziaływania parabenów z elektrodami diamentowymi domieszkowanymi borem były analizowane po separacji HPLC w celu oznaczenia MP, EP i PP w próbkach szamponów. Detekcja amperometryczna była prowadzona poprzez sukcesywne zastosowanie potencjałów +1,2V, -0,5V i -2,0V na elektrodzie diamentowej domieszkowanej borem, co prowadziło do utlenienia badanych parabenów. Otrzymane rezultaty porównywalne z tymi uzyskanymi przy detekcji UV wymagają jednak zastosowania wzorca wewnętrznego (paraben benzyli) ze względu na proces pasywacji powierzchni elektrody wraz z kolejnymi pomiarami.



Ponadto metoda ta wymaga zastosowania efektywnego procesu oczyszczania próbki, ponadto rozdział musi być prowadzony w warunkach izokratycznych (ponieważ różnice w składzie fazy ruchomej prowadzą do dryfowania odpowiadzi elektrody) [1].

HPLC sprzężona ze spektrometrią mas (MS) jest rzadko wykorzystywana do oznaczania parabenów w kosmetykach i próbkach środowiskowych. Detektor MS pozwala na jednoznaczny identyfikację badanych związków oraz osiągnięcie niskich poziomów detekcji, jednak jego użycie wiąże się z wysokim kosztem analiz. Powyższe właściwości pozwalają jednak na symultaniczne oznaczanie parabenów z innymi związkami o rozmaitych właściwościach [1].

HPLC-MS/MS wykorzystano do oznaczania MP, EP, PP i BP w kosmetykach o różnym przeznaczeniu z użyciem spektrometrii mas typu potrójny kwadrupol i jonizacji typu elektrosprej w trybie zarówno pozytywnym, jak i negatywnym, przy zakresie skanowania mas od 100 do 1000 m/z. Potrójny kwadrupol MS/MS stosuje się również do analiz parabenów w próbkach gleb, osadów rzecznych, wodach rzecznych i ściekach. Analizy rozmaitych związków chemicznych typu „endocrine-disruptors” (ksenoestrogeny) (w tym parabenów) w próbkach wód prowadzono z wykorzystaniem spektrometrii mas typu pułapka jonowa. Otrzymano podobne wyniki porównując różne techniki jonizacji – jonizacji na skutek rozpraszania dźwiękami (SSI), wspomagają

nej jonizacji przez rozpylanie w polu elektrycznym (ESI), chemicznej pod ciśnieniem atmosferycznym (APCI) [1].

Wprowadzony niedawno detektor wyładowań koronowych w aerozolu (C-CAD), wykorzystywany do analiz parabenów opiera swoje działanie na ruchliwości naładowanych cząsteczek analitu (zamiast stosunku mas m/z). Mierzony sygnał jest zbierany w oparciu o wielkość analitu, niezależny od struktury molekularnej. Otrzymane wyniki są porównywalne do tych uzyskanych w poprzednio wspomnianych metodach MS, lecz analizy charakteryzują się niższym kosztem analiz [1].

Oznaczono parabenów w kosmetykach z wykorzystaniem nanorurek węglowych w ekstrakcji do fazy stałej i detektora wyładowań koronowych w aerozolu (C-CAD). Procedura analityczna jest oparta na standardowym etapie ekstrakcji do fazy stałej, w której 20 mg wielościennych nanorurek węglowych zostało zapakowanych w 3 ml komercyjnych kartridżach SPE. Metylparaben, etylparaben, propylparaben były izolowane i wstępnie zatężane, a następnie separowane na kolumnie RP-C18 z użyciem ruchomej fazy acetonitryl:woda, 50:50. Sygnał analityczny dla poszczególnych parabenów uzyskano na detektorze C-CAD. Limit detekcji kształtował się na poziomie 0,5-2,1 mg/l, podczas gdy zakres liniowy został rozszerzony do 400 mg/l. Powtarzalność metody wyniosła 3,3-3,8%, a od-twarzalność 4,3-7,6% [24].

UPLC-MS wykorzystuje się również do oznaczeń para-

benów w próbkach środowiskowych, pozwalając na symultaniczną analizę z innymi związkami, równocześnie uzyskując dobry rozdział chromatograficzny i krótki czas separacji, jednak przy jednoczesnym zwiększeniu kosztów, zarówno w systemach separacji, jak i detekcji [1].

Metody elektroforezy

Oznaczanie parabenów w kosmetykach z wykorzystaniem kapilarnej elektroforezy strefowej (CZE) opiera się na zastosowaniu buforu alkalicznego (o wartościach pH 9,0 lub wyższych), napięcia 20-25 kV i kapilary niepokrytej warstwą stopionej krzemionki (z wyjątkiem kapilar monolitycznych poli(styren-diwinilobenzenu-kwas metakrylowy) używanych do separacji) [1].

Jako alternatywę dla CZE proponuje się wykorzystanie chromatografii micelarnej elektrokinetycznej (MEKC). Zasada rozdziału w tej technice opiera się na dodatku środka powierzchniowo czynnego do bufora w celu uzyskania miceli. Anality są separowane w ich formach obojętnych, w zależności od odpowiedniego ustalonego stanu równowagi, związanego z podziałem na dwie fazy: micela (faza pseudostacjonarna) i ruchoma faza ciekła buforu [1].

Szereg metod oznaczania parabenów prowadzi się w oparciu o MEKC z zastosowaniem dodatku soli sodowej kwasu dodecylosiarkowego (SDS), surfaktantu anionowego, do buforu. MEKC może być również sprzężony z systemem wstrzykowej analizy przepływowej – ekstrakcją do fazy

stałej, pozwalając na przygotowanie próbki on-line przed jej wprowadzeniem do kapilary. Te metody umożliwiają osiągnięcie separacji w czasie 10-15 min [1].

Wykorzystuje się również spiętrzanie z dużą strefą próbki (LVSS) do analiz parabenów metodą MEKC z buforem SDS. Kapilara początkowo wypełniana jest częściowo próbką (rozcieńczoną w rozpuszczalniku o niskiej przewodności), a następnie stosuje się wstępne napięcie ujemne. Spiętrzanie to pozwala na wstępne zatężenie analitów w początkowym obszarze kapilary i ich separację od innych komponentów matrycy. W chwili gdy kończy się etap spiętrzania rozpoczyna się normalny proces separacji MEKC. Odnotowano 13-144 krotnie zwiększoną czułość w porównaniu do konwencjonalnej metody MEKC. Jednakże zastosowane napięcie w tych warunkach powinno być dokładnie dobrane ze względu na fakt, iż wysokie napięcia mogą doprowadzić do trwałego uszkodzenia kapilary, ponieważ wydzielane ciepło w zjawisku Joule’a podczas etapu spiętrzania jest ograniczone do stopniowo węższej kapilary (stosownie do obszaru zatężania analitów) [1].

Analiza parabenów metodą MEKC może być prowadzona z dodatkiem kationowego surfaktantu, bromku cetylotrimetyloamoniowego (CTAB), prowadząc do odwróconego przepływu elektroosmotycznego, jako że CTAB jest adsorbowany na ścianach kapilar jonami amoniowymi zorientowanymi w kierunku

roztworu buforu. Ta metoda również opiera się na dodatku 2-hydroksypropylo- β -cyklodekstryny (HP- β -CD) do buforu. W tym przypadku kolejność elucji jest podporządkowana interakcjami pomiędzy badanymi analitami, micelami CTAB i cyklodekstryną. Ostatecznie wyniki są porównywalne z otrzymanymi dla metod MEKC, z czasem separacji około 10 min. [1].

W celu poszerzenia możliwości stosowania metody na większy zakres analitów, opracowano mikroemulsyjną chromatografię elektrokineetyczną (MEEKC). W metodzie tej wzrost temperatury i stężenia SDS w buforze prowadzi do powstania stabilnej mikroemulsji z kropelkami oleju pokrytymi surfaktantem, tworząc fazę pseudostacjonarną (w podobny sposób jak medium micelarne, lecz o większej przepuszczalności niektórych analitów) [1].

Elektroforeza kapilarna (CE) jest rzadko używana do oznaczania parabenów w próbkach środowiskowych. Do oznaczania parabenów w wodach stosuje się elektroforezę w roztworach niewodnych (NACE). Zastosowanie rozpuszczalników organicznych jako roztworów nośnika w CE pozwala na zwiększenie rozpuszczalności cząsteczek organicznych i redukcję przepływu elektroosmotycznego. W przypadku, gdy ekstrakcja jest prowadzona tym samym rozpuszczalnikiem organicznym co w procesie elektroforezy, możliwy jest bezpośredni nastrzyk ekstraktu. Metody te mogą być prowadzone w technice LVSS, która przy-

czynia się do zmniejszenia limitów detekcji w sposób korzystniejszy w porównaniu z innymi metodami CE [1].

Metody gazowej chromatografii (GC)

Jako alternatywę dla HPLC i CE proponuje się zastosowanie GC jako techniki oznaczania parabenów w kosmetyce, jak również w próbkach środowiskowych. Metody te głównie opierają się na dwóch systemach detekcji, detektorze płomieniowo-jonizacyjnym (FID) i spektrometrii mas (MS) [1].

Metody GC-FID

Metody oparte na wykorzystaniu detektora FID przedstawiają zalety w postaci niższego kosztu analiz (w porównaniu z detekcją MS) i wysokiej odporności. Z drugiej jednak strony ten system detekcji charakteryzuje się brakiem możliwości jednoznacznej identyfikacji analitów w porównaniu do techniki MS. Stąd też stosowanie metod GC-FID jest stosunkowo niewielkie. W większości przypadków prowadzone są one z włączeniem etapu mikroekstrakcji [1].

GC-FID zazwyczaj wymaga wcześniejszego przeprowadzenia procesu derywatywacji analitów w celu uzyskania lotnych produktów. Najpowszechniej wykorzystywaną metodą derywatywacji w przypadku analiz parabenów jest acylowanie bezwodnikiem octowym (stosunkowo szybka reakcja trwająca 10-20 min.). GC-FID jest stosowany do oznaczania MP, EP, PP i BP w tonikach do twarzy z derywatywacją poprzez acylo-

wanie „in-situ” bezwodnikiem octowym. Derywatywacja prowadziła do lepszego rozdzielania grup hydroksylowych w systemie chromatograficznym w przypadku parabenów niezderiwatywowanych przyczyniają się do powstania szerokich, asymetrycznych pików i znaczącego „ogonowania”. Ponadto derywatywacja „in-situ” (symultanicznie z ekstrakcją analitu) oferuje szereg zalet: ograniczenie dodatkowych czynności przygotowania próbki, łatwa możliwość usunięcia nadmiaru reagentu i zdolność do przeprowadzenia reakcji w środowisku wodnym [1].

Jako alternatywę dla acylowania stosuje się alkilowanie z wykorzystaniem derywatów butylu i iso-butylu w celu analizy parabenów metodą GC-FID. Butylowanie butylochloromrówczanem (katalizowane pikoliną) i izo-butylowanie izo-butylochloromrówczanem stosowano do oznaczania parabenów w kosmetykach i próbkach środowiskowych. W obydwu metodach derywatywacja jest prowadzona symultanicznie z ekstrakcją (w tym przypadku w oparciu o dyspersyjną mikroekstrakcję w układzie ciecz-ciecz (DLLME)) [1].

Parabeny mogą być również analizowane techniką GC-FID bez derywatywacji. W ten sposób analizowano parabeny w kosmetykach po mikroekstrakcji do fazy stałej. Podobnie metoda ta była wykorzystywana do oznaczeń parabenów w próbkach środowiskowych po dyspersyjnej mikroekstrakcji w układzie

ciecz-ciecz z wykorzystaniem membrany (HF-DLLME) czy po mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME). Wadami tych metod są znacznie gorsze rozdzielczość i mniej symetryczne piki aniżeli w przypadku technik opartych na derywatywacji. Niemniej jednak rozdział pików umożliwia oznaczanie indywidualnych badanych parabenów, rzadko ich symultaniczną analizę z innymi grupami związków, takimi jak alkilofenole czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne [1].

Metody GC-MS

W ostatnich latach zaobserwowano znaczący wzrost analiz parabenów za pośrednictwem metody GC-MS, która z powodzeniem rywalizuje z tradycyjną techniką HPLC-UV, a nawet przewyższając ilość zastosowań w przypadku próbek środowiskowych [1].

Metody GC-MS stosowane do oznaczeń parabenów opierają się na rozmaitych analizatorach mas: kwadrupolu, potrójnym kwadrupolu i analizatorze przelotu mas. Potrójny kwadrupol i pułapka jonowa mogą pracować w trybie MS/MS. Podobnie jak w przypadku GC-FID metody GC-MS zazwyczaj wymagają zastosowania zoptymalizowanych nietradycyjnych metod ekstrakcji – SPE, SPME, DLLME, HF-LMPE, SBSE itp. [1].

GC-MS charakteryzuje się podobnymi zaletami co HPLC-MS - jednoznaczna identyfikacja analitów i niskimi granicami detekcji, co pozwala na oznaczanie parabenów



na niskich poziomach stężeń (jak np. w przypadku próbek środowiskowych) i ich symultaniczną analizę z innymi związkami o różnych właściwościach. Ponadto GC-MS ma wiele zalet przewyższających HPLC-MS - wyższą rozdzielczość, niższe koszty analiz i mniejsze wytwarzanie odpadów rozpuszczalnika. Z drugiej jednak strony GC-MS podobnie jak GC-FID zazwyczaj wymaga przeprowadzenia procesu derywatywacji analitów w celu uzyskania odpowiednich lotnych derywatów. Dlatego też metody GC-MS oznaczania parabenów można podzielić na trzy grupy: te oparte na technice derywatywacji poprzez acylowanie, oparte na silylowaniu, oraz te prowadzone bez derywatywacji [1].

Metody oparte na derywatywacji poprzez acylowanie

W przypadku GC-MS, podobnie jak GC-FID najpowszechniej stosowaną metodą derywatywacji przy oznaczaniu parabenów jest acylowanie bezwodnym kwasem octowym. Ten odczynnik był wykorzystany do analiz parabenów i innych środków konserwujących w kosmetykach, takich jak mydła, szampony, kosmetyki do makijażu, kremy, mleczka do ciała. Acylowanie znalazło również zastosowanie do analiz parabenów w próbkach środowiskowych. W oparciu o ekstrakcję z wykorzystaniem elementu sorpcyjnego typu Twister (SBME) analizowano parabeny (i inne związki jak triklosan) w rozmaitych typach próbek środowiskowych – glebach, wodach, kurzu [1].

Metody oparte na derywatywacji poprzez silylowanie

Stosunkowo rzadko do oznaczeń parabenów wykorzystywany jest proces silylowania pomimo faktu, iż jest on najpowszechniejszą metodą derywatywacji w technikach GC-MS, dysponującą szeroką gamą reagentów. Reakcje te prowadzą do uzyskania stabilnych i lotnych derywatów, lecz posiadają też wady: konieczność stosowania wysokiej temperatury i prowadzenia procesu w środowisku niewodnym [1].

Silylowanie z dodatkiem N,O-bis-(trimetylosililo)acetamidem (BSA) wykorzystano do analiz parabenów w wodzie i kosmetykach, podczas gdy N-metylo-N-(tert-butylo-dimetylosililo)trifluoroacetamid (MTBSTFA) zastosowano

w przypadku próbek wód i kurzu wewnątrz pomieszczeń [1].

Opracowano metodę oznaczania środków konserwujących – parabenów i antyoksydantów polifenolowych w kosmetykach z zastosowaniem sprzężenia derywatywacji „in-situ” z ekstrakcją za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym z prowadzoną w trybie „on-line” mikroekstrakcją do fazy stałej w trybie „headspace” i gazową chromatografią wyposażoną w spektrometrię mas (SFE in-situ derywatywacja on-line HS-SPME-GC-MS). Środki konserwujące i antyoksydanty były ekstrahowane z matrycy kosmetyków z wykorzystaniem dwutlenku węgla w stanie nadkrytycznym pod ciśnieniem 13,840 kPa. Ekstrakcję za pomocą płynu w stanie



**Zapraszamy
do odwiedzania,
komentowania
i wspólnego
tworzenia
naszego profilu
facebookowego!**

nadkrytycznym prowadzono w 55°C przez 10 min. w trybie statycznej ekstrakcji, a następnie 15 min. w trybie ekstrakcji dynamicznej. Następnie przeprowadzono derywatyzację ekstraktantu „in-situ” poprzez sililowanie N,O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamidem z 0,1% trimetylochlorosilanem. Otrzymany produkt poddano adsorpcji na włóknie poliakrylowym w procesie mikroekstrakcji do fazy stałej (SPME) w trybie „headspace”. Piasek morski zastosowano jako materiał dyspersyjny w etapie SFE. Analityczny zakres liniowy dla środków konserwujących i antyoksydantów kształtował się na poziomie od 10 do 1000 ng/g z wartościami RSD poniżej 7,8%. Granica wykrywalności wyniosła od 0,5 do 8,3 ng/g. Otrzymane rezultaty były lepsze od tych uzyskanych w pojedynczych procesach SPME czy SFE dla analiz śladowych ilości środków konserwujących i antyoksydantów w kosmetykach [26].

N,O-bis(trimetylosililo)trifluoroacetamid (BSTFA) został użyty do oznaczania GC-MS parabenów i innych grup związków jako odczynnik derywatyżujący w wodach (po ekstrakcji ciecz-ciecz) i kosmetykach („in-situ” podczas ekstrakcji analitu). Podobnie odczynnik ten zastosowano do analiz parabenów GC-MS/MS w glebach. Symultaniczna analiza parabenów, a także wielu innych zanieczyszczeń czy kosmetyków (włączając PAH, PCB, filtry UV, bisfenole i triklosany) w pojedynczym nastrzyku jest możliwa po określeniu trzech przejść m/z

(jeden do oznaczenia ilościowego, a dwa pozostałe do jednoznacznej identyfikacji) w analizatorze mas typu potrójny kwadrupol [1].

Opracowano szybką metodę oznaczania siedmiu parabenów i dwóch chlorowanych produktów ubocznych w osadach ściekowych z wykorzystaniem rozproszenia matrycy na fazie stałej (MSPD) i gazowej chromatografii sprzężonej z tandemową spektrometrią mas po derywatywacji z zastosowaniem odczynnika BSTFA z dodatkiem TMCS (trimetylochlorosilanem (99:1). Procedura analityczna charakteryzowała się dobrymi wartościami odzysków na poziomie od 80 do 125% z względnymi odchyleniami standardowymi niższymi niż 12% i niskimi limitami detekcji w zakresie od 0,1 do 2,0 ng/g suchej masy. Opracowana metoda została wykorzystana do analizy osadów ściekowych zebranych w trakcie 2010 roku w 19 oczyszczalniach ścieków, zlokalizowanych na różnych obszarach - miejskich, przemysłowych i miejskich w Madrycie (Hiszpania). Metylparaben został wykryty w większości badanych oczyszczalniach ścieków (95%) na poziomach od 5,1 do 26,2 ng/g suchej masy, a propylparaben w 74% oczyszczalniach na poziomach do 44,1 ng/g suchej masy [23].

Metody bez derywatywacji

GC-MS bez derywatywacji został wykorzystany do oznaczeń parabenów i ftalanów w kosmetykach oraz parabenów i triklosanu w ściekach. W tym przypadku wynikający

z braku derywatywacji spadek rozdzielczości jest kompensowany zdolnością analizatora mas do oddzielnego pomiaru współeluujących analitów (o różnych m/z), kosztem zredukowanej czułości [1].

GC-MS/MS bez derywatywacji zastosowano do analiz MP, EP, PP i BP w kosmetykach. W tym przypadku użyto wzorców wewnętrznych w postaci izotopowo znaczonych parabenów. Pomiar był prowadzony z wykorzystaniem dynamicznego monitorowania wybranych reakcji (automatyczny wybór optymalnych parametrów skanów dla każdego analitu podczas elucji). Ta technika przyczynia się do poprawienia kształtu pików, redukując spadek rozdzielczości, wynikający z braku derywatywacji [1].

MS z analizatorem czasu przeletu został zastosowany do bezpośredniego oznaczania próbki bez separacji GC jako metoda screeningowa w celu analizy półilościowej badanych parabenów i filtrów UV w kosmetykach bez wcześniejszego etapu przygotowania próbki (poza rozpuszczeniem w metanolu) i separacji chromatograficznej. W większości przypadków wyniki są porównywalne z tymi uzyskanymi dla GC-MS z tym samym analizatorem, z wyjątkiem próbek o wysokiej zawartości nieorganicznych barwników [1].

Metody GC-PID

PID (detektor fotojonizacyjny) zazwyczaj charakteryzuje się niższą czułością niż tradycyjny FID, lecz posiada wyższą selektywność, ponieważ sygnał

detekcji jest oparty na wiązaniach π obecnych w analizowanych związkach. W tym przypadku w metodzie tej proponuje się ekstrakcję z magnetycznymi nanocząsteczkami Fe_3O_4 i derywatyzacją poprzez acylowanie bezwodnikiem octowym. Otrzymane wyniki wskazują na możliwość zastosowania powyższych metod do analiz wód i kosmetyków [1].

Inne metody

Jako alternatywę dla separacji HPLC, proponuje się szereg metod opartych an niskociśnieniowej chromatografii cieczowej z monolitycznymi kolumnami. Te metody charakteryzują się prostotą i łatwością obsługi, a także wykorzystują niski koszt analiz instrumentalnych (opartych na pompach perystaltycznych i rurkach politetrafluoroetylenowych (PTFE)) wstrzykowej analizy przepływowej (FIA) i selektywność oraz rozdzielczość chromatografii cieczowej. Z drugiej strony jednak użycie krótkich monolitycznych kolumn prowadzi do niższej precyzji i rozdzielczości w porównaniu z tymi uzyskanymi dla metod HPLC. Niemniej jednak, we wszystkich opisywanych metodach, otrzymane wyniki były satysfakcjonujące dla analiz parabenów w próbkach, a separację osiągnęto w czasie krótszym niż 3 min. Te metody są oparte na detekcji UV przy 254 nm lub detekcji CL [1].

Opracowano selektywny elektrochemiczny czujnik dla MP, EP, PP i BP, pozwalający na ich oznaczanie w kosmetykach bez ich wcześniejszej



separacji, z limitami detekcji na poziomie 0,2-0,4 μM . Czujnik oparty jest o polimer kwasu metakrylowego (usieciowany glikolodiakrylanem tripropylenu) z zastosowaniem elektrody z węgla szklanego jako wsparcie. Ten polimer jest także wdrukowany molekularnie z MP i PP poprzez dodanie tych parabenów podczas jego przygotowania, a następnie usunięcie przez ekstrakcję kwasem octowym (10%) [1].

Skutki obecności parabenów w produktach codziennego użytku

Parabeny są związkami o niskiej toksyczności i szkodliwości, są one bezpieczne dla zdrowia człowieka, jednak mogą powodować słabe reakcje alergiczne. Powszechnie uważa się, że wpływają one negatywnie na układ hormonalny a ich działanie porównywane jest do estrogenów. Z tego samego powodu sugerowano, że parabeny wpływają na rozwój nowotworów piersi. W tkankach zajętych przez ten nowotwór obecne były również parabeny. Uznano wówczas, że stosowanie dezodorantów do ciała i obecność w nich parabenów, może przyczyniać się do wzrostu ryzyka rozwoju komórek nowotworowych. Jednak stężenie parabenów w produktach codziennego użytku jest bardzo niskie, za niskie by mogło spowodować większe zmiany w organizmie człowieka [1, 3, 4, 11, 12, 20].

Stosowanie preparatów zawierających parabeny wiąże się w przenikaniu tych związków przez skórę oraz

wchłanianie z przewodu pokarmowego i trafiać do krwiobiegu. Jednak dzięki obecności w skórze enzymów z grupy esteraz, parabeny są metabolizowane do kwasu p-hydroksybenzoesowego. Zaś w przewodzie pokarmowym parabeny przebywają w niezmienionej formie zaledwie kilkadziesiąt minut, po czym ulegają również hydrolizie. Produkty hydrolizy parabenów szybko usuwane są wraz z moczem i nie są akumulowane w tkankach narządów. Spośród wszystkich tkanek, tylko tkanka tłuszczowa wykazuje zdolność do bioakumulacji parabenów [2-5, 9].

Parabeny wykazują słabe właściwości toksyczne, jednak w organizmach wodnych mogą one prowadzić do zmian w funkcjonowaniu całego układu [12, 22]. Główne mechanizmy toksycznego działania parabenów nie są znane ale możliwy jest ich wpływ na metabolizm oraz degradację DNA i RNA, jak również wpływ na zmiany w budowie błony lipidowej. Butylparaben – czyli związek o rozgałęzionym łańcuchu alkilowym wykazywał toksyczne działanie względem organizmów wodnych *Daphnia magna* (*D.magna*) i *Vibrio fischeri* (*V.fischeri*). Stężenie BP wynoszące 5,3 mg/L i 2,8 mg/L powodowało inhibicję wzrostu połowy badanych organizmów *D.magna* i *V.fischeri*. Stężenia propylparabenu wynoszące 12,3 i 2,6 mg/L, oraz metylparabenu wynoszące 24,6 i 10 mg/L, powodowały również inhibicję wzrostu połowy badanych organizmów odpowiednio *Daphnia magna* i *Vibrio fischeri* [12].

Stosowanie parabenów nie powoduje tworzenia się komórek nowotworowych, nie są one substancjami szkodliwymi i toksycznymi. Istnieje jednak ryzyko wystąpienia nadwrażliwości na parabeny, lecz jest to bardzo indywidualna kwestia i zależy od wielu czynników. Parabeny nie wykazują również ostrej toksyczności względem organizmów wodnych. Stosowanie ich w zalecanych i dopuszczalnych dawkach nie zagraża życiu i zdrowiu organizmów żywych.

Wnioski

Parabeny stosuje się w produktach kosmetycznych, spożywczych i farmaceutycznych jako środki konserwujące. Najbardziej powszechnymi parabenami są: metylparaben, etylparaben, propylparaben i butylparaben. Parabeny są bezpieczne dla organizmów żywych, bowiem nie wykazują one właściwości kancerogennych i toksycznych. Nawet względem organizmów wodnych nie wykazują toksyczności ostrej. W organizmach żywych metabolizowane są najczęściej do kwasu 4-hydroksybenzoesowego dzięki obecności specyficznych enzymów.

Przed przystąpieniem do oznaczania parabenów w próbkach środowiskowych i kosmetykach, konieczne jest prawidłowe przygotowanie próbek. W tym celu stosuje się metody ekstrakcji, takie jak: mikroekstrakcja do fazy stałej, dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz-ciecz, mikroekstrakcja do pojedynczej kropli, mikroekstrakcja do

fazy ciekłej z użyciem membrany, ekstrakcja za pomocą ruchomego elementu sorpcyjnego, ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem, ekstrakcja płynem w stanie nadkrytycznym.

Stosuje się rozmaite techniki analityczne do oznaczania parabenów w różnych matrycach (takich jak kosmetyki czy próbki środowiskowe), wśród których można wyróżnić gazową chromatografię (GC), wysokosprawną chromatografię cieczową (HPLC), kapilarną elektroforezę strefową (CZE), micelną elektrokinetyczną chromatografię (MEKC) czy ultrasprawną chromatografię cieczową (UPLC). HPLC jest wykorzystywana najczęściej do analiz parabenów z uwagi na fakt, iż separacja w technikach chromatografii gazowej wymaga zastosowania wcześniej procesu derywatyzacji związków. Omówiono również możliwości zastosowania sprzężeń GC-MS oraz HPLC-MS wraz z tandemowymi odmianami spektrometrii mas.

Literatura

- [1] Ocana-Gonzalez J.A., Villar-Navarro M., Ramos-Payan M., Fernandez-Torres R., Bello-Lopez M.A. *New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review.* Analytica Chimica Acta 858, 2015, 1–15.
- [2] Tahan G.P., Santos N.K.S., Albuquerque A.C., Martins I. *Determination of parabens in serum by liquid chromatography tandem mass spectrometry: Correlation with lipstick use.* Regulatory Toxicology

- and Pharmacology 79, 2016, 42-48.
- [3] Cabaleiro N., de la Calle I., Bendicho C., Lavilla I. *An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics*. Trends in Analytical Chemistry 57, 2014, 34-46.
- [4] Bojarowicz H., Wnuk M., Buciński A. *Efektywność i bezpieczeństwo stosowania parabenuów*. Probl Hig Epidemiol 93(4), 2012, 647-653.
- [5] Kodani S.D., Overby H.B., Morisseau C., Chen J., Zhao L., Hammock B.D. *Parabens inhibit fatty acid amide hydrolase: A potential role in paraben-enhanced 3T3-L1 adipocyte differentiation*. Toxicology Letters 262, 2016, 92-99.
- [6] Kocot K. *Mikroekstrakcja w zateżaniu i oznaczaniu śladowych ilości pierwiastków technikami rentgenowskiej spektrometrii fluorescencyjnej*. Rozprawa doktorska, Uniwersytet Śląski, 2015.
- [7] Stepnowski P., Synak E., Szafranek B., Kaczyński Z. *Techniki Separacyjne*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010, ISBN 978-83-7326-712-1
- [8] Spietelun A. *Nowe rozwiązania w zakresie techniki mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME)*. Rozprawa doktorska, Politechnika Gdańska 2014.
- [9] Jiménez-Díaz I., Iribarne-Durán L.M., Ocón O., Salamanca E., Fernández M.F., Barranco O.N.E. *Determination of personal care products - benzophenones and parabens - in human menstrual blood*. Journal of Chromatography B, 1035, 2016, 57-66.
- [10] <https://pl.wikipedia.org/wiki/Kosmetyki>
- [11] Rodas M., Portugal L.A., Avivar J., Estela J.M., Cerdà V. *Parabens determination in cosmetic and personal care products exploiting a multi-syringe chromatographic (MSC) system and chemiluminescent detection*. Talanta 143, 2015, 254-262.
- [12] Molins-Delgado D., Díaz-Cruz M.S., Barceló D. *Ecological risk assessment associated to the removal of endocrine-disrupting parabens and benzophenone-4 in wastewater treatment*. Journal of Hazardous Materials 310, 2016, 143-151.
- [13] Gao Y., Ji Y., Li G., An T. *Theoretical investigation on the kinetics and mechanisms of hydroxyl radical-induced transformation of parabens and its consequences for toxicity: Influence of alkyl-chain length*. Water Research 91, 2016, 77-85.
- [14] Valle-Sistac J., Molins-Delgado D., Díaz M., Ibáñez L., Barcelo D., Díaz-Cruz M.S. *Determination of parabens and benzophenone-type UV filters in human placenta. First description of the existence of benzyl paraben and benzophenone-4*. Environment International 88, 2016, 243-249.
- [15] Li W., Shi Y., Gao L., Liu J., Cai Y. *Occurrence, fate and risk assessment of parabens and their chlorinated derivatives in an advanced wastewater treatment plant*. Journal of Hazardous Materials 300, 2015, 29-38.
- [16] Haman C., Dauchy X., Rossin C., Munoz J.F. *Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: A review*. Water Research 68, 2015, 1-11.
- [17] Piao C., Chen L., Wang Y. *A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens*. Journal of Chromatography B, 969, 2014, 139-148.
- [18] Aubert N., Ameller T., Legrand J.-J. *Systemic exposure to parabens: Pharmacokinetics, tissue distribution, excretion balance and plasma metabolites of [14C]-methyl-, propyl- and butylparaben in rats after oral, topical or subcutaneous administration*. Food and Chemical Toxicology 50, 2012, 445-454.
- [19] Błędzka D., Gromadzińska J., Wąsowicz W. *Parabens. From environmental studies to human health*. Environment International 67, 2014, 27-42.
- [20] Zhang Q., Liao M., Liu L., Cui H. *High-performance liquid chromatographic assay of parabens in wash-off cosmetic products and foods using chemiluminescence detection*. Analytica Chimica Acta 537, 2005, 31-39.
- [21] Gmurek M., Rossi A.F., Martins R.C., Quinta-Ferreira R.M., Ledakowicz S. *Photodegradation of single and mixture of parabens - Kinetic, by-products identification and cost-efficiency analysis*. Chemical Engineering Journal 276, 2015, 303-314.
- [22] Kang H-S., Kyung M-S., Ko A., Park J-H., Hwang M-S., Kwon J-E., Suh J-H, Lee H-S, Moon G., Hong J-H., In Hwang I.G. *Urinary concentrations of parabens and their association with demographic factors: A population-based cross-sectional study*. Environmental Research 146, 2016, 245-251.
- [23] Albero R., Pérez R. A., Sánchez-Brunete C., Tadeo J. L. *Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain)*. Journal of Hazardous Materials 239-240, 2012, 48-55.
- [24] Márquez-Sillero I., Aguilera-Herrador E., Cárdenas S., Valcárcel M. *Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system*. Journal of Chromatography A, 1217, 1217, 2010.
- [25] Dias A. N., da Silva A. C., Simão V., Merib J., Carasek E. *A novel approach to bar adsorptive microextraction: Cork as extractor phase for determination of benzophenone, triclo-carbon and parabens in aqueous samples*. Analytica Chimica Acta 888, 2015, 59-66.
- [26] Yang T.-J., Tsai F.-J., Chen Ch.-Y., Ching-Cherng Yang T., Lee M.-R. *Determination of additives in cosmetics by supercritical fluid extraction on-line headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry*. Analytica Chimica Acta 668, 2010, 188-194.