

EWA LUKS, EWA KISS, MICHAŁ KWAST, MAŁGORZATA MALANOWSKA, BARBARA ŚMIETANKA

OZNACZANIE WOLNEGO FORMALDEHYDU W ŚRODKACH KOSMETYCZNYCH Z ZASTOSOWANIEM WYSOKOSPRAWNEJ CHROMATOGRAFII CIECZOWEJ

FREE FORMALDEHYDE DETERMINATION IN COSMETIC PRODUCTS BY THE HPLC METHOD

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Państwowy Zakład Higieny
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
Kierownik: doc. dr hab. K. Karłowski

Do oznaczenia wolnego formaldehydu zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową wg metody zalecanej przez Dyrektywę Komisji UE 90/207/EEC. W zależności od rodzaju bazy kosmetycznej i poziomu fortyfikacji średni odzysk wynosił 94,8-97,5%; współczynnik zmienności: 1-2,3%.

WSTĘP

Postępowanie przy oznaczaniu formaldehydu w środkach kosmetycznych określone w Dyrektywie Komisji UE [1] przewiduje trzostopniową procedurę:

1. Test jakościowy – wykrywanie wolnego i związanego formaldehydu za pomocą odczynnika *Schiffa* (metoda daje wynik pozytywny w wypadku obecności aldehydów w stężeniu wyższym niż 0,01% (m/m));
2. Oznaczenie formaldehydu wolnego i związanego metodą spektrofotometryczną z acetyloacetone (2,4-pentanodione) [4, 5, 6];
3. Oznaczenie formaldehydu wolnego metodą spektrofotometryczną z acetyloacetone z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej.

Metoda ostatnia ma szczególne znaczenie dla kontroli zawartości formaldehydu w środkach kosmetycznych zawierających jego donory. Związki te, w określonych warunkach fizykochemicznych ulegają degradacji i uwalniają formaldehyd. Jeżeli proces ten zachodzi podczas wykonywania oznaczenia, ma oczywisty wpływ na otrzymane wyniki.

Spośród donorów formaldehydu stosowanych jako dozwolone surowce kosmetyczne [2, 3] największe znaczenie mają związki konserwujące: Bronopol (Gropol), DMDM Hydantoina (Glydant), Dowicil 200 (Quaternium 15), Imidazolidynyl Urea (Germall II). Źródłem formaldehydu w cząsteczkach wymienionych donorów (z wyjątkiem Dowicilu 200) jest grupa hydroksymetylowa, która może zostać oddzielona i utleniona do

aldehydu mrówkowego. Z budowy chemicznej związków wynika, że Germall 115, DMDM Hydantoina i Bronopol mogą uwolnić dwie cząsteczki formaldehydu, a Germall II cztery cząsteczki. W inny sposób powstają cząsteczki formaldehydu z Dowicilu. W środowisku wodnym związek ulega dysocjacji. Z jednego mola Dowicilu może powstać pięć do sześciu moli formaldehydu.

Jeżeli przyjmiemy, że reakcje te przebiegają do końca stechiometrycznie, możemy obliczyć ilość formaldehydu z poszczególnych donorów. Wartości te są następujące: Bronopol (stężenie 0,1%) – 300 mg/kg, Germall 115 (stężenie 0,6%) – 928 mg/kg, Germall II (stężenie 0,5%) – 2158 mg/kg, DMDMH 55% (stężenie 0,6%) – 1053 mg/kg, Dowicil 200 (stężenie 0,2%) – 1434 mg/kg. Są to wartości teoretyczne wyliczone z założeniem, że parametry reakcji takie jak pH, temperatura i czas są optymalne dla przebiegu reakcji.

Zależność między ilością uwalnianego formaldehydu z Germalli, Hydantoiny i Dowicilu, a wartościami tych parametrów była badana przez *Rosena* i *McFarlanda* [7]. Wykonując reakcję z acetyloacetonem w temp. 100°C autorzy uzyskali wartości dla uwalnianego formaldehydu równe wyliczeniom teoretycznym: dla DMDMH, gdy czas reakcji (czas ogrzewania) równy był 15 min; dla Dowicilu 3 min. i dla Germallu 115 5 min. W wypadku Germallu II przedłużenie ogrzewania nawet do 60 min. nie spowodowało uwolnienia z cząsteczki donora ilości formaldehydu odpowiadającej czterem molom. Maksymalna ilość była równa 3,3 mola.

Stosując zatem do oznaczenia zawartości formaldehydu metodę spektrofotometryczną z acetyloacetonem (w temperaturze 60°C) zapewniamy warunki fizykochemiczne bliskie optymalnym dla stechiometrycznego przebiegu reakcji powstawania formaldehydu. Są one znacznie “ostrzejsze” od warunków “naturalnych”, w których produkt jest magazynowany, a następnie używany. Uzyskany wynik oznaczenia formaldehydu tą metodą jest sumą dwóch wielkości: stężenia formaldehydu tzw. wolnego, czyli formaldehydu faktycznie obecnego w wyrobie w warunkach “naturalnych” (formaldehyd uwolniony z donorów oraz formaldehyd pochodzący z innych źródeł np. surowców i opakowań) i formaldehydu związanego, który powstał na skutek sprzyjających takiemu procesowi warunków reakcji.

Trzecia metoda uwzględniona w procedurze, dzięki zastosowaniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej, umożliwia oddzielenie formaldehydu wolnego na kolumnie chromatograficznej i oznaczenie wyłącznie tej części związku.

Mając jednocześnie na uwadze konieczność ujednoczenia procedur i metod analitycznych, obowiązujących w Polsce i w krajach członkowskich UE, sprawdzono metodę chromatograficzną zaleconą przez Dyrektywę Komisji UE [1].

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał

Materiałem do badań były próbki szamponów, płynów kąpielowych i emulsji kosmetycznych, pochodzące z rynku (wg deklaracji producenta nie zawierające donorów formaldehydu) oraz specjalnie przygotowane dwie podstawowe bazy kosmetyczne: emulsyjna o/w i detergentowa, konserwowane estrami kwasu p-hydroksybenzoesowego. Materiał fortyfikowano mianowanym roztworem formaldehydu.

Aparatura

Standardowe wyposażenie laboratoryjne, dwie pompy HPLC Waters Model 501 Solvent Delivery System, iniektor Waters Model U6K, integrator Waters 746 Data Module, detektor Waters 486 Turnable Absorbance Detector, komora do reakcji barwnej poza kolumną Waters RXN 1000 Coli Kit, kolumna analityczna stalowa Resolve C₁₈ 90 A° 5 µm 3,9 x 300 mm, sączki membranowe Millipore HA 0,45 µm, sączki Millipore Millex LCR 0,5 µm Filter Unit, wirówka.

Odczynniki

Wszystkie stosowane odczynniki o czystości analitycznej lub wymaganej do HPLC. Woda (do HPLC), bezwodny octan amonowy, kwas octowy lodowaty ($d = 1,04 \text{ g/ml}$), acetyloaceton, bezwodny fosforan dwusodowy, 85% kwas ortofosforowy ($d = 1,7 \text{ g/ml}$), metanol (do HPLC), dichlorometan, 37–40% formaldehyd, wodorotlenek sodowy 1 M, kwas solny 1 M, kwas solny 0,022 M, roztwór skrobi (przygotowany wg Farmakopei Polskiej IV, mianowany roztwór jodu ok. 0,05 M, mianowany roztwór tiosiarczanu sodowego ok. 0,1 M, faza ruchoma: wodny roztwór fosforanu dwusodowego ok. 0,006 M, doprowadzony kwasem ortofosforowym do pH 2,1, odczynnik do reakcji barwnej poza kolumną: w kolbie miarowej o poj. 1000 ml rozpuszczono 62,5 g octanu amonu, 7,5 ml lodowatego kwasu octowego i 5 ml acetyloacetonu, a następnie uzupełniono wodą demineralizowaną (odczynnik może być przechowywany bez dostępu światła przez maksymalnie 3 dni w temp. 25°C), o ile w tym czasie nie zmieni zabarwienia, oznaczony roztwór formaldehydu: 10 g formaliny (37–40%) rozpuszczono w 1000 ml wody demineralizowanej, do 5,00 ml tak sporządzonego roztworu dodano 25,00 ml mianowanego roztworu jodu i 10,00 ml wodorotlenku sodowego 1 M, po pięciu minutach dodano 11,00 ml roztworu kwasu solnego 1 M i odmiareczkowano nadmiar jodu mianowanym roztworem tiosiarczanu sodowego, używając jako wskaźnik 2% roztwór skrobi, 1 ml mianowanego roztworu jodu jest równoważny 1,5 mg formaldehydu.

Roztwory wzorcowe

Z roztworu formaldehydu przygotowanego jak do oznaczenia jodometrycznego sporządzono 100-krotne rozcieńczenie w fazie ruchomej. Do 4 kolbek miarowych o poj. 10 ml dodano kolejno 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0 ml tego roztworu i uzupełniono fazą ruchomą, otrzymując roztwory wzorcowe o stężeniu 195, 389, 584 i 779 µg/ml. Do każdej serii oznaczeń przygotowano świeże wzorce i wykorzystywano je w czasie nie przekraczającym jednej godziny.

Przygotowanie próbek

- emulsje – odważone z dokładnością do 0,001 g próbki fortyfikowanych wyrobów lub bazy, zawierające ok. 100 µg formaldehydu, rozpuszczano w 20,00 ml dichlorometanu i 20,00 ml kwasu solnego 0,002 M. Po dokładnym wymieszaniu i odwirowaniu (2 min. przy 3000 obr./min) fazę wodną filtrowano przez sączek Millex LCR.

Do oznaczenia pobierano 10 µl filtratu.

- detergenty – do kolbek miarowych poj. 100 ml odważano z dokładnością do 0,001 g próbki fortyfikowanych wyrobów lub bazy, zawierające ok. 500 µg formaldehydu, uzupełniano odczynnikami stanowiącymi fazę ruchomą i po wymieszaniu sączono przez sączek Millex LCR. Do oznaczenia pobierano 10 µl filtratu.

Warunki oznaczenia

Szybkość przepływu fazy ruchomej: 1 ml/min.

Szybkość przepływu odczynnika do reakcji barwnej: 0,5 ml/min.

Objętość podawanej na kolumnę próbki/wzorca: 10 µl

Temperatura reakcji barwnej: 100°C.

Metodę sprawdzano oznaczając zawartość formaldehydu w 32 fortyfikowanych środkach kosmetycznych: kremach, mleczkach, preparatach do makijażu, maseczkach, balsamach, lotionach,

szamponach i płynach do kąpieli oraz przygotowanych bazach kosmetycznych. Dla każdej próbki wykonywano po dwa równoległe oznaczenia. Otrzymane wyniki przedstawiono w tabelach I-III.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Odzyskiwalność metody uzyskana dla wyrobów o charakterze emulsji mieściła się w granicach 92,6–102,8%, średnio 96,8% (tabela I) i 94,6–100,8%, średnio 97,5% dla szamponów i płynów kąpielowych (tabela II). Dla bazy emulsyjnej, sfortyfikowanej na poziomie 471 mg/kg otrzymano średni odzysk 94,8% i współczynnik zmienności 0,95% (tabela III); dla bazy detergentowej, którą sfortyfikowano na poziomie 2300 mg/kg odzysk średni wynosił 96,3%, współczynnik zmienności 2,3% (tabela III).

Tabela I. Oznaczanie wolnego formaldehydu w fortyfikowanych emulsjach kosmetycznych

Free formaldehyde determination in fortified cosmetic emulsions

Rodzaj próbki n=2	dodano (mg/kg)	wykryto (mg/kg)	odzysk (%)
Kremy:			
1.	500	480	96
2.	500	475	95
3.	500	506	101,2
4.	500	514	102,8
5.	500	463	92,6
6.	500	487	97,4
7.	500	484	96,8
8.	500	491	98,2
9.	500	478	95,6
Mleczka kosmetyczne:			
1.	500	491	98,2
2.	500	474	94,8
3.	500	502	100,4
Maseczki kosmetyczne:			
1.	500	469	93,8
2.	500	480	96
3.	500	482	96,4
Make-up	500	485	97
Balsam do stóp	500	474	94,8
Lotion	500	475	95

Zachowanie dobrej precyzji i dokładności wymaga bezwzględnego przestrzegania warunków przygotowania i przechowywania odczynników i próbek oraz sprawności całego systemu chromatograficznego.

Tabela II. Oznaczanie wolnego formaldehydu w fortyfikowanych szamponach i płynach do kąpieli
Free formaldehyde determination in fortified shampoos and bubble bath

Rodzaj próbki n=2	dodano (mg/kg)	wykryto (mg/kg)	odzysk (%)
Szampony:			
1.	500	497	99,4
2.	500	489	97,8
3.	500	486	97,2
4.	500	491	98,2
5.	500	473	94,6
6.	500	481	96,2
7.	500	486	97,2
Płyny do kąpieli:			
1.	500	475	95
2.	500	479	95,8
3.	500	487	97,4
4.	500	495	99
5.	500	502	100,4
6.	500	504	100,8
7.	500	482	96,4

Tabela III. Oznaczanie wolnego formaldehydu w fortyfikowanych bazach kosmetycznych
Free formaldehyde determination in fortified cosmetic bases

nr pr.	Baza emulsyjna			Baza detergentowa		
	dodano (mg/kg)	wykryto (mg/kg)	odzysk (%)	dodano (mg/kg)	wykryto (mg/kg)	odzysk (%)
1.	471	454	96,4	2300	2282	99,2
2.	471	448	95,1	2300	2126	92,4
3.	471	444	94,3	2300	2203	95,8
4.	471	443	94,0	2300	2229	96,9
5.	471	447	95,0	2300	2241	96,3
6.	471	443	94,0	2300	2216	96,3
śr. odzysk – 94,8%				śr. odzysk – 96,3%		
wsp. zmienności – 0,95%				wsp. zmienności – 2,3%		

WNIOSKI

1. Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że metoda posiada wystarczającą dla celów kontrolnych precyzję i dokładność.

2. Metoda może być zastosowana do rutynowej kontroli środków kosmetycznych znajdujących się w obrocie.

E. Luks, E. Kiss, M. Kwast, M. Malanowska, B. Śmietanka

FREE FORMALDEHYDE DETERMINATION IN COSMETIC PRODUCTS
BY THE HPLC METHOD

Summary

In order to standardize the analytical methods and procedures with the ones used in the EU, a method of free formaldehyde determination in cosmetic products preserved with formaldehyde donors, recommended by Commission Directive (90/207/EEC of 4th April, 1990), has been tested. The free formaldehyde level is determined by HPLC using post column derivatisation with acetylacetone. Formaldehyde content was determined in 44 fortified samples of cosmetic emulsions and shampoos. Recoveries ranged from 94,8–97,5%. Relative Standard Deviation 1–2,3%.

PIŚMIENNICTWO

1. Commission Directive of 4 April amending the Second Directive 82/434/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to methods of analysis necessary for checking the composition of cosmetic products (90/207/EEC). Of. J. EEC. 192. No L 108.
2. Council Directive 76/768/EEC of August 1993.
3. Kiss E., Luks E., Malanowska M.: Surowce dopuszczone przez Państwowy Zakład Higieny do stosowania w wyrobach kosmetycznych. Pollena – Tłuszcze – Środki Piorące, Kosmetyki 1993, 10, 374.
4. Kwast M., Kiss E.: Oznaczanie formaldehydu w szamponach, płynach kąpielowych i płynach do mycia naczyń metodami kolorymetrycznymi. Roczn. PZH 1995, 46, 265.
5. Luks E., Kiss E., Kwast M., Malanowska M.: Oznaczanie formaldehydu w przedmiotach użytku metodą kolorymetryczną z acetyloacetone. Cz. II. Oznaczanie formaldehydu w emulsjach kosmetycznych i wybranych wyrobach chemii gospodarczej. Roczn. PZH 1994, 45, 215.
6. PN-93/C-04843, Wyroby kosmetyczne i perfumeryjne. Wykrywanie i oznaczanie wolnego formaldehydu.
7. Rosen M., McForland A.G.: Free formaldehyde in anionic shampoo. J. Soc. Cosmet. Chem. 1884, 35, 157.

Otrzymano: 1998.01.20