

УДК 543.422

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАРАБЕНОВ В КОСМЕТИЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЗОННОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

В.С. Куракина, О.М. Медведева, С.Г. Дмитриенко, О.А. Шпигун

(кафедра аналитической химии)

Оптимизированы условия разделения парабенов методом капиллярного зонного электрофореза. Исследовано влияние времени ввода пробы, величины рабочего напряжения, концентрации и pH боратного буфера. Продолжительность анализа четырехкомпонентной смеси, включающей метил-, пропил-, изопропил- и бутилпарабен не превышает 8 мин, а семикомпонентной смеси, содержащей наряду с парабенами такие консерванты, как бензойную, салициловую и 4-гидроксibenзойную кислоты – 10 мин. Проведено определение парабенов в образцах косметической продукции.

Парабены – алифатические эфиры 4-гидроксibenзойной кислоты – нашли широкое применение в косметической промышленности в качестве консервантов. Как правило, парабены применяют в продукции с высоким содержанием водной фазы (увлажняющие кремы, косметическое молочко, косметические сливки, гели косметические, бальзамы косметические, слабоалкогольные тоники и др.). Парабены не обладают специфическим запахом, цветом и вкусом, не изменяют органолептических характеристик косметической продукции, они относительно нетоксичны, не мутагенны и не накапливаются в организме. Их содержание составляет 0,5–1% [1].

Для определения парабенов достаточно часто используют обращенно-фазовую высокоэффективную жидкостную хроматографию со спектрофотометрическим [2, 3] или флуориметрическим детектированием [4]. Однако в последнее время возрастает интерес к автоматизированному определению парабенов методом капиллярного электрофореза. К основным преимуществам метода следует отнести высокую эффективность разделения в капилляре, связанную с плоским профилем электроосмотического потока, а также малый расход реактивов. При электрофоретическом определении парабенов используют как капиллярный зонный электрофорез (КЗЭ) [5–7], так и мицеллярную электрокинетическую хроматографию (МЭКХ) [8–10].

Целью настоящей работы является изучение возможности определения парабенов совместно с другими консервантами методом КЗЭ с использованием оборудования российской фирмы «Люмэкс».

Экспериментальная часть

Растворы и реагенты. Объектами исследования в настоящей работе служили метил-, пропил-, *i*-пропил- и бутилпарабены, а также бензойная, салициловая и 4-гидроксibenзойная кислоты. В табл. 1 представлены их некоторые физико-химические свойства. Исходные (0,001–0,01 М) растворы парабенов и фенолкарбоновых кислот (“х.ч.”) готовили растворением их точных навесок в дистиллированной воде. Рабочие растворы соединений готовили разбавлением исходных растворов непосредственно перед использованием.

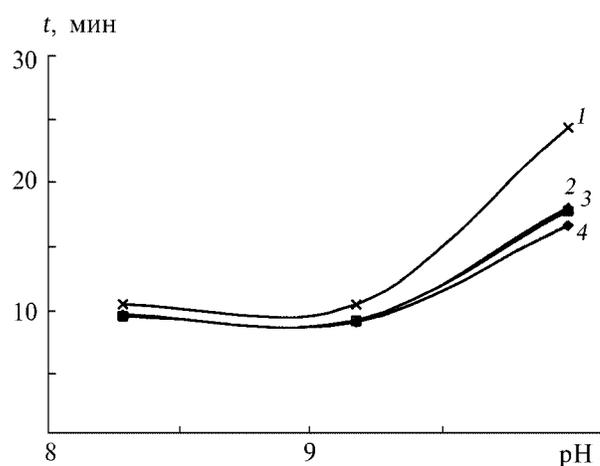
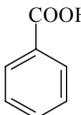
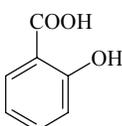
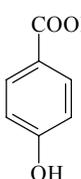
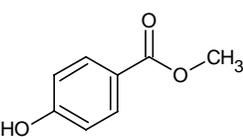
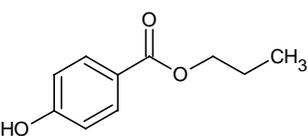
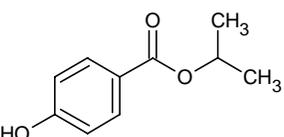
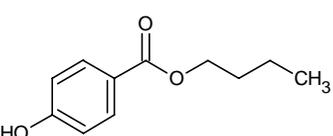


Рис. 1. Влияние pH боратного буфера на времена миграции метилпарабена (1), пропилпарабена (2), изопропилпарабена (3) и бутилпарабена (4). Капилляр: кварцевый, эффективная длина 50 см, внутренний диаметр 75 мкм; ведущий электролит: тетраборат натрия 20 мМ; 30 мбар×15с; рабочее напряжение: +25 кВ; 22 °С, детектирование 214 нм; $C_{\text{парабенов}} = 50$ мкг/мл

Т а б л и ц а 1

Фенолкарбоновые кислоты и их эфиры, изученные в работе

Кислота	Структурная формула	ММ	lgP*	pK ₁	pK ₂ (pK ₃ , pK ₄)
Бензойная		122,1	1,9±0,2	4,2±0,1	–
Салициловая		138,1	2,1±0,3	3,0±0,1	13,7±0,1
4-Гидроксibenзойная		138,1	1,4±0,2	4,6±0,1	9,2±0,1
Метилпарабен		152,1	1,9±0,2	8,3±0,2	–
Пропилпарабен		180,1	2,9±0,2	8,2±0,2	–
i-Пропилпарабен		180,1	2,7±0,2	8,4±0,2	–
Бутилпарабен		194,1	3,5 ± 0,2	8,2 ± 0,2	–

*Значения параметров гидрофобности рассчитаны с помощью программы IgP(@ACD, Toronto, Canada)

Для приготовления буферного раствора использовали тетраборат натрия (ч.д.а.), нужное значение pH устанавливали добавлением раствора гидроксида натрия.

Методика эксперимента. Электрофоретическое разделение парабенов проводили при использовании

системы капиллярного электрофореза «Капель-105» с переменной полярностью, УФ-детектором и пневматическим вводом пробы (НПФ АП «Люмэкс»). Сбор и обработку данных проводили с помощью IBM PC с программным обеспечением «Мульти-хром» (АО «Амперсенд»). Использовали немодифи-

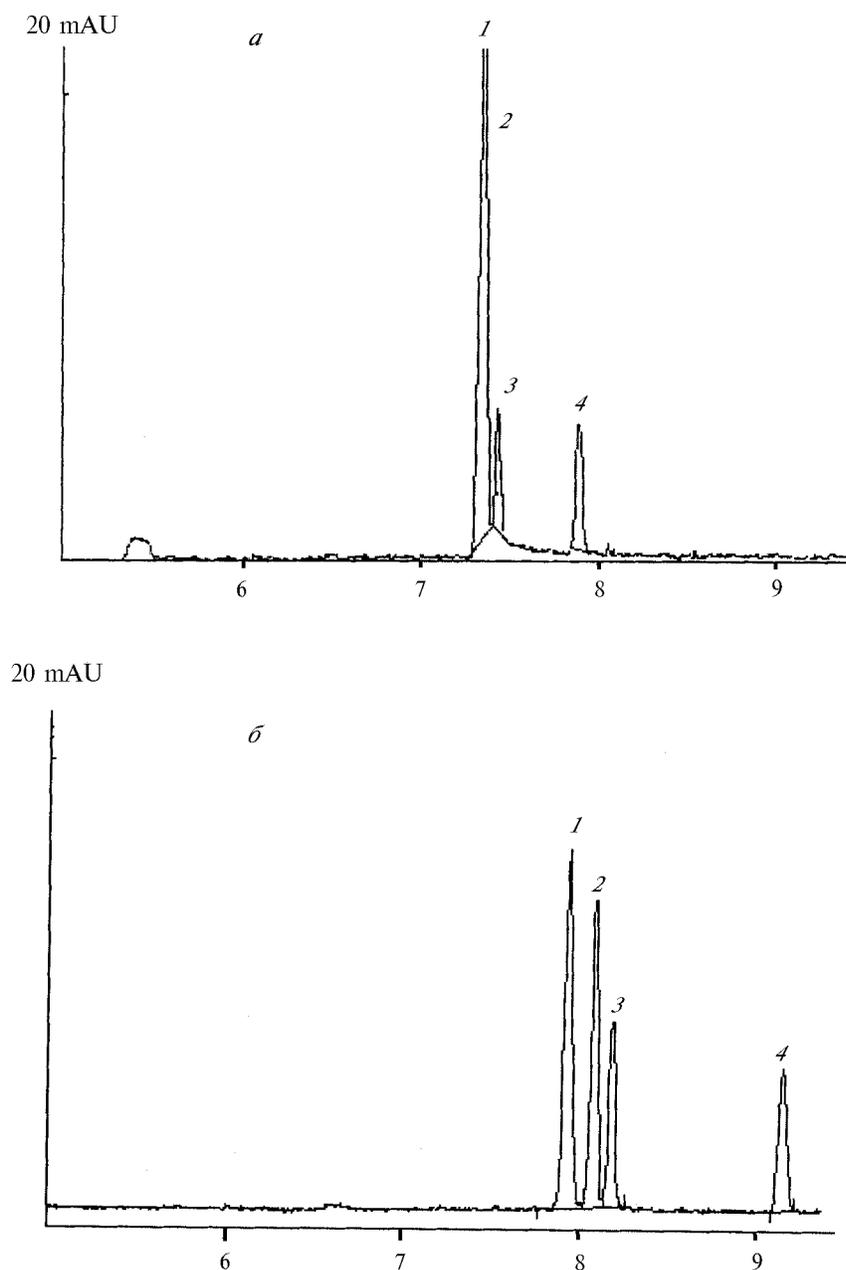


Рис. 2. Электрофореграмма смеси бутилпарабена (1), изопропилпарабена (2), пропилпарабена (3) и метилпарабена (4) при pH боратного буфера 8,38 (а) и 9,17 (б). Капилляр: кварцевый, эффективная длина 50 см, внутренний диаметр 75 мкм; ведущий электролит: тетраборат натрия 20 мМ; 30 мбар; рабочее напряжение: +25 кВ; детектирование 214 нм; 22 °С; $C_{\text{парабенов}} = 20$ мкг/мл

цированный кварцевый капилляр с внешней полиамидной пленкой общей (эффективной) длиной 60 (50) см и внутренним диаметром 75 мкм. В качестве буферного раствора применяли 5–45 мМ боратный буфер. Рабочее напряжение изменяли в диапазоне от 10 до 25 кВ. Использовали прямое спектрофотометрическое детектирование при 214 нм. Все исследования проводили при температуре 22° С.

Перед анализом капилляр последовательно промывали 0,05 М раствором NaOH, дистиллированной водой, буферным раствором (каждый этап длился 5 мин).

Результаты и обсуждение

Для выбора оптимальных условий разделения парабенов варьировали pH и концентрацию борат-

Т а б л и ц а 2
Параметры разделения бутилпарабена (1), изопропилпарабена (2), пропилпарабена (3), метилпарабена (4), бензойной (5), 4-гидроксibenзойной (6) и салициловой (7) кислот при различных значениях напряжения (C = 20 мкг/мл)

Номер пика	Напряжение, кВ											
	10		15		20		25					
	Разрешение $R(n/n+1)$	Эффективность $N \times 10^{-3} (\tau\tau)$										
1	1,07	131	1,30	155	1,41	178	1,57	216				
2	0,80	156	1,01	208	1,03	241	1,17	284				
3	6,22	164	8,80	234	9,14	264	10,31	331				
4	21,50	144	24,71	205	23,62	230	24,05	271				
5	1,52	67	1,71	64	1,40	72	1,24	69				
6	8,24	97	10,30	124	12,55	172	14,17	192				
7	–	87	–	105	–	121	–	139				
Время анализа, мин	28		20		14		12					

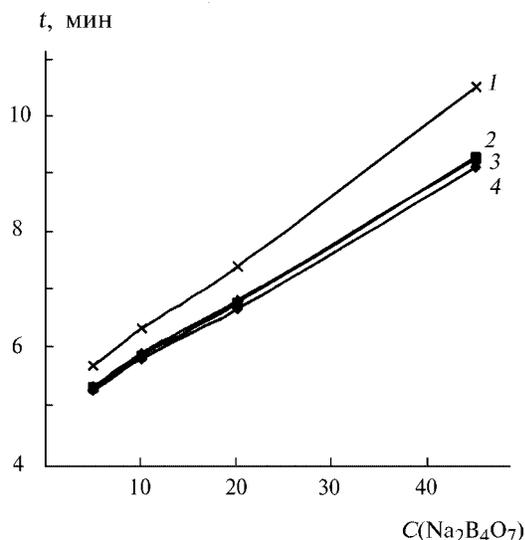


Рис. 3. Влияние концентрации боратного буфера на времена миграции метилпарабена (1), изопропилпарабена (2), пропилпарабена (3) и бутилпарабена (4) при рН $9,18 \pm 0,05$. Капилляр: кварцевый, эффективная длина 50 см, внутренний диаметр 75 мкм; ведущий электролит: тетраборат натрия; 30 мбар \times 15 с; рабочее напряжение: +25 кВ; детектирование 214 нм; 22 °С, $C_{\text{парабенов}} = 50$ мкг/мл

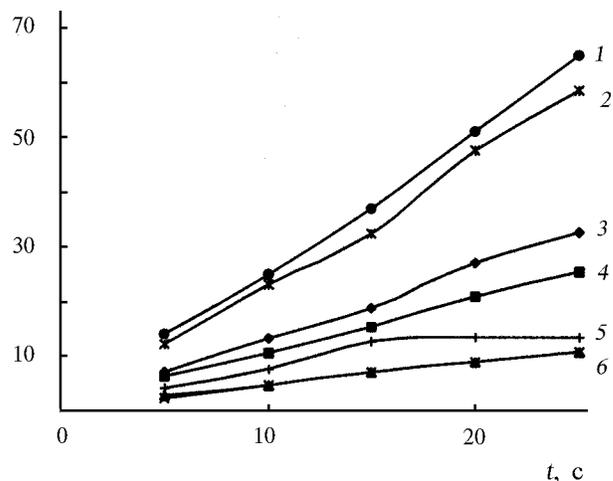


Рис. 4. Влияние времени ввода пробы на площади пиков 4-гидроксibenзойной (1), бензойной (2), бутилпарабена (3), изопропилпарабена (4), салициловой (5), метилпарабена (6) и пропилпарабена (7) при рН $9,18 \pm 0,05$. Капилляр: кварцевый, эффективная длина 50 см, внутренний диаметр 75 мкм; ведущий электролит: тетраборат натрия 20 мМ; 30 мбар; рабочее напряжение: +25 кВ; детектирование 214 нм; 22 °С, $C_{\text{парабенов}} = 20$ мкг/мл

ного буфера, время ввода пробы в капилляр, а также величину рабочего напряжения. Из сравнения величин pK_a изученных соединений (табл. 1) видно, что в интервале рН 8–9 парабены существуют в форме однозарядных ионов. Для проведения разделения был выбран боратный буфер.

Влияние рН буферного раствора. В среде боратного буфера было изучено влияние рН на время миграции парабенов (рис. 1). Показано, что в интервале рН ~ 8 –9 времена миграции изученных соединений изменяются незначительно, а при рН $> 9,5$ – возрастают. Как видно из данных, приведенных

на рис. 2, а, в интервале рН 8–9 не удается разделить бутилпарабен и изопропилпарабен, которые выходят одним пиком, тогда как при рН $9,18 \pm 0,05$ (рис. 2, б) все парабены удовлетворительно разделяются. При этом значении рН разрешение бутил- и изобутилпарабенов составляет 1,96. Высокая эффективность разделения компонентов наблюдается при рН $9,18 \pm 0,05$, что определило выбор боратного буфера во всех дальнейших экспериментах.

Влияние концентрации боратного буфера на времена миграции парабенов исследовано при рН $9,18 \pm 0,05$. При увеличении концентрации буферного

Таблица 4

Результаты определения парабенов методом капиллярного зонного электрофореза в модельной смеси (мкг/мл, $n = 3$, $P = 0,95$)

Объект	Вещество	Введено, мкг/мл	Найдено, мкг/мл	s_r
Модельный раствор	метилпарабен	50	51 ± 2	0,05
	пропилпарабен	50	52 ± 2	0,05
	<i>i</i> -пропилпарабен	50	50 ± 1	0,05
	бутилпарабен	50	51 ± 1	0,05

Т а б л и ц а 3

Характеристики методик определения парабенов методом капиллярного зонного электрофореза (Y – площадь пика, x – концентрация парабена, мкг/мл, R – коэффициент корреляции, $C_{\text{мин}}$ – предел обнаружения, рассчитанный по 3S-критерию)

Вещество	Время миграции, мин	Уравнение градуировочного графика (R^2)	$C_{\text{мин}}$, мкг/мл
Метилпарабен	6,68	$Y = 0,310x(0,976)$	1
Пропилпарабен	6,78	$Y = 0,292x(0,969)$	1
<i>i</i> -Пропилпарабен	6,83	$Y = 0,686x(0,966)$	0,5
Бутилпарабен	7,39	$Y = 0,566x(0,963)$	0,6

раствора наблюдается рост общего времени анализа (рис. 3) и незначительное улучшение разрешения пиков. Эффективность разделения компонентов смеси снижается по мере роста концентрации буферного раствора, что объясняется дополнительным уширением зон индивидуальных компонентов за счет градиента концентрации и температуры. Удовлетворительному разрешению всех пиков соответствует концентрация, равная 20 мМ.

Время ввода пробы. Для ввода пробы в капилляр использовали пневматический способ, при котором объем пробы можно регулировать изменением времени ввода. Время пневматического ввода варьировали от 5 до 25 с при давлении 30 мбар. Для изучения этой зависимости использовали семикомпонентную модельную смесь парабенов и консервантов (бензойной, салициловой и 4-гидроксibenзойной кислот). Как видно из рис. 4, зависимость площади пика от времени ввода отклоняется от линейной при значениях более 15 с. Это свидетельствует об объемной перегрузке системы разделения, при которой происходит уширение пиков и, как следствие, ухудшение разделения соседних пиков. При уменьшении времени ввода пробы уменьшается площадь пиков определяемых компонентов, следовательно, снижается чувствительность электрофоретического определения парабенов. Оптимальное время ввода пробы составило 15 с при давлении 30 мбар.

Влияние напряжения. Еще одним фактором, оказывающим влияние на параметры разделения парабенов, является рабочее напряжение (табл. 2). Время анализа семикомпонентной смеси уменьшает-

ся с 28 до 12 мин при увеличении рабочего напряжения от 10 до 25 кВ. При этом разрешение соседних пиков увеличивается, что становится особенно заметным при напряжении 25 кВ. Оптимальным оказалось рабочее напряжение +25 кВ, при котором наблюдается достаточное разрешение пиков за приемлемое время анализа.

В выбранных оптимальных условиях (боратный буферный раствор, pH $9,18 \pm 0,05$, напряжение 25 кВ, ввод пробы 30 мбар \times 15 с) проведено разделение семикомпонентной смеси. На рис. 5 приведена полученная электрофореграмма.

Определение парабенов. Для построения градуировочных графиков готовили серию растворов, содержащих от 10 до 50 мкг/мл парабенов. Уравнения градуировочных графиков и пределы обнаружения, рассчитанные при отношении сигнал/шум, равном 3, приведены в табл. 3. Для каждого изученного соединения наблюдается линейная зависимость площади пика от его концентрации (до 50 мкг/мл). Правильность и воспроизводимость результатов определения парабенов методом КЗЭ подтверждена методом «введено-найденно». Результаты представлены в табл. 4.

Для определения содержания парабенов в косметических препаратах образец продукции подвергался электрофоретическому анализу. В образцах лосьонов *L'oreal Plenitude Shine Control* и *MIA* для нормальной/смешанной кожи был идентифицирован метилпарабен. Его содержание составило $9,8 \pm 0,6$ мкг/мл ($s_r = 0,07$) и $0,55 \pm 0,04$ мкг/мл ($s_r = 0,07$) соответственно.

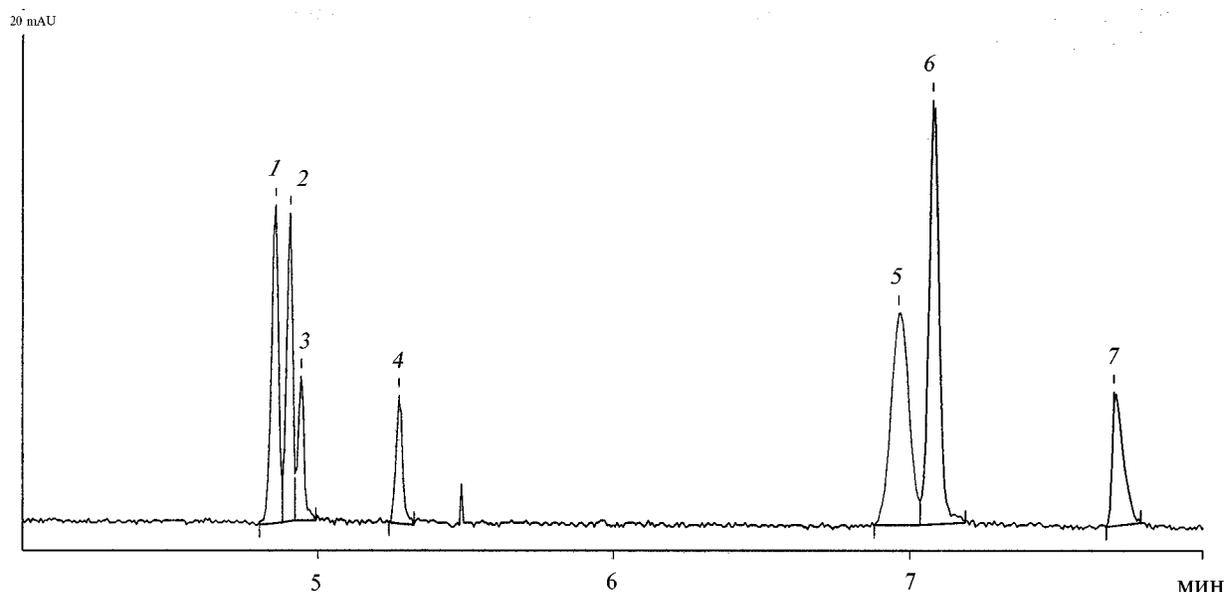


Рис. 5. Электрофореграмма смеси бутилпарабена (1), изопропилпарабена (2), пропилпарабена (3), метилпарабена (4), бензойной (5), 4-гидроксибензойной (6) и салициловой (7) кислот при pH 9,18±0,05. Капилляр: кварцевый, эффективная длина 50 см, внутренний диаметр 75 мкм; ведущий электролит: тетраборат натрия 20 мМ; 30 мбар, время ввода пробы 15 с; рабочее напряжение: +25 кВ; детектирование 214 нм; C = 20 мкг/мл

Авторы работы выражают искреннюю благодарность фирме “Люмэкс” (г. Санкт-Петербург) за предоставленную возможность использования оборудования этой фирмы, а также сотруднику этой фирмы К.В. Степанову за консультации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Консервация косметических изделий и эффективные современные консерванты / Под ред. Г.Я. Легин, Н.М. Шехтман. 1983. Вып. 3. С. 1–36.
2. Milojevic Z., Agbaba D., Eric S. et al. // J. Chromatogr. A. 2002. **949**. P. 79.
3. Giovannandrea R., Diana L., Friori M. et al. // J. Chromatogr. B. 2001. **751**. P. 365.
4. Sanchez F., Diaz A., Lovillo J., Feria L.S. // Anal. Chim. Acta. 1996. **328**. P. 73.
5. Wang S.-P., Chang C.-L. // Anal. Chim. Acta. 1998. **377**. P. 85.
6. Kuo K.-L., Hsieh Y.-Z. // J. Chromatogr. A. 1997. **768**. P. 334.
7. Blanco M., Coello J., Iturriaga H., MasPOCH S., Romero M.A. // J. Chromatogr. B. 2001. **751**. P. 29.
8. Mahuzier P.-E., Altria K.D., Clark B.J. // J. Chromatogr. A. 2001. **924**. P. 465.
9. Driouich R., Takayanagi T., Oshima M., Motomizu S. // J. Chromatogr. A. 2000. **903**. P. 271.
10. Baalbaki B., Blanchin M.-D., Fabre H. // Anal. Chim. Acta. 2002. **463**. P. 15.

Поступила в редакцию 15.12.03

DETERMINATION OF PARABENS IN COSMETIC SAMPLES BY CAPILLARY ZONE ELECTROPHORESIS

V.S. Kurakina, O.M. Medvedeva, S.G. Dmitrienko, O.A. Shpigun

(Division of Analytical Chemistry)

The separation conditions of parabens by capillary zone electrophoresis (CZE) have been optimized. The effects of sample injection time, potential, concentration and pH value of borate buffer on separation have been investigated. The duration of analysis of four-component mixture, including methyl-, propyl-, isopropyl- and butylparaben doesn't exceed 8 minutes. It takes 10 minutes to separate seven-component mixture containing along with parabens such preservatives as benzoic, salicylic and p-hydroxybenzoic acid. Parabens have been determined in cosmetic samples.