

## Разработка и валидация методики определения парабенов в косметической продукции методом тонкослойной хроматографии с мицеллярными подвижными фазами

Мицеллярные растворы Твин-80 предложено использовать как подвижные фазы для разделения парабенов методом тонкослойной хроматографии на нормальнофазовых пластинках. На этой основе создана методика обнаружения и количественного определения метилпарабена в косметической продукции. Аналитическим сигналом является площадь хроматографического пятна, найденная при обработке изображения сканированной хроматограммы. Выполнена валидация методики. С использованием индикатора эритрозина уточнено положение фронта мицеллярной псевдофазы на хроматограммах и выявлены особенности распределения парабенов в хроматографической системе с восходящим элюированием, обусловленные существенным удерживанием мицеллярной псевдофазы. Пределам обнаружения и количественного определения соответствуют массы метилпарабена в пятне 0,63 и 0,94 мкг соответственно.

**Ключевые слова:** парабены, тонкослойная хроматография, мицеллярная подвижная фаза, Твин-80, валидация.

**Постановка научной проблемы и ее значение.** Термин «парабены» происходит от названия *пара*-гидроксibenзойной (4-гидроксibenзойной) кислоты (4-ГБК) и обозначает ряд сложных эфиров этой кислоты, отличающихся алкильными радикалами эфирной группы R (рис. 1).

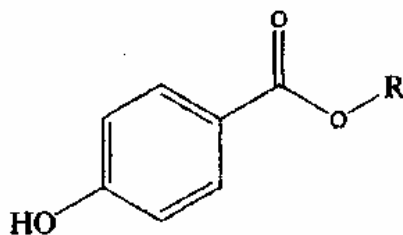


Рис. 1. Графические формулы 4-ГБК и парабенов R: H – 4-ГБК; CH<sub>3</sub> – метилпарабен; CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> – этилпарабен; CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> – пропилпарабен; CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub> – бутилпарабен

Парабены уже около 80 лет широко используются в качестве консервантов косметической, фармацевтической и пищевой продукции. Среди преимуществ, объясняющих популярность парабенов как консервантов, обычно указывают широкий спектр противомикробной активности, устойчивость, отсутствие цвета и запаха, низкую стоимость, нетоксичность и сохранение эффективности в широком диапазоне кислотности [4]. Однако нетоксичность парабенов подверглась сомнениям и стала предметом широкой дискуссии после публикации статьи Darbre et al. [5], в которой сообщалось, что парабены (главным образом, метилпарабен) обнаружены и определены в тканях опухолей молочной железы в 18 случаях из 20.

Среди источников воздействия парабенов на человека преобладают косметические продукты и средства личной гигиены. Метил- и этилпарабены, используемые чаще других парабенов, являются наиболее распространенными ингредиентами косметических препаратов, уступая по частоте использования лишь воде [4]. Косметические продукты и средства гигиены потребляются в массовых масштабах, воздействуют на человека непосредственно, ежедневно и в течение длительного времени, особенно так называемые средства пролонгированного контакта (leave-on products [9]).

Согласно нормам Европейского Союза, содержание парабенов в косметической продукции не должно превышать 0,4 %, если присутствует один парабен, и 0,8 % (в пересчете на свободную кислоту), если присутствует смесь парабенов [9]. Нормативы содержания парабенов в косметических продуктах периодически пересматриваются Европейским научным комитетом по безопасности потребителя (European Scientific Committee on Consumer Safety – SCCS) с учетом новых научных и статистических данных. В 2011 г. SCCS рекомендовал [9] по отношению к метил- и этилпарабену сохранить прежние нормы максимально допустимой концентрации в косметических продуктах и

высказал озабоченность по поводу возможного воздействия на эндокринную систему парабенов с более длинным алкильным радикалом, включая пропилпарабен, бутилпарабен, родственные им изомеры и бензилпарабен. Использование пропилпарабена и бутилпарабена в качестве консервантов в готовых косметических продуктах SCCS считает безопасным для потребителя, пока сумма их индивидуальных концентраций не превышает 0,19 % [9].

В связи с новыми взглядами на нормирование содержания парабенов в косметических товарах и средствах гигиены приобретают особую актуальность аналитические методики, позволяющие идентифицировать и количественно определять каждый из парабенов. С другой стороны, требования к методикам продиктованы также массовостью анализа косметической продукции и исключительным многообразием его объектов – продукция такого рода включает десятки тысяч наименований. В этих условиях возрастает интерес к использованию новых методов тонкослойной хроматографии (ТСХ) [8]. ТСХ полезна как метод предварительных исследований и сортировки проб в массовом анализе, применяется для обнаружения и определения парабенов в косметических продуктах [6], является нормативным методом идентификации парабенов в фармацевтической продукции [7]. Именно ТСХ использовалась на начальном этапе исследований, описанных в резонансной публикации [5].

Мы ранее показали, что мицеллярные растворы неионогенного или катионного поверхностно-активного вещества (ПАВ), используемые как подвижные фазы (ПФ), обеспечивают эффективное разделение парабенов на нормальнофазовых пластинках для ТСХ, а также могут использоваться для извлечения парабенов в пробоподготовке косметических продуктов [2]. Описано количественное определение метилпарабена на основе визуального сопоставления интенсивности хроматографических зон пробы и шкалы сравнения [2].

**Цель работы** – охарактеризовать особенности ТСХ-разделения парабенов с использованием мицеллярных ПФ и определить аналитические характеристики методики обнаружения и количественного определения метилпарабена в косметических продуктах, в которой в качестве аналитического сигнала измеряется площадь хроматографической зоны.

**Материалы и методы.** Растворители: хлороформ (фарм., Укрхимэкспо), 1-пропанол (ч.д.а., Макрохим); 1-бутанол (ч.д.а., Макрохим); 1-пентанол (РЕАХИМ, ч., дополнительно очищенный перегонкой; фракция, кипящая при 78,5 °С); петролейный эфир (Haltermann Products, Германия); ледяная уксусная кислота (Haltermann Products, Германия; х.ч. Поверхностно-активные вещества: цетилапиридиний хлорид (ЦПХ, Merck, массовая доля основного вещества 99–101 %.); Твин-80 (AppliChem GmbH, плотность 1,074 г/см<sup>3</sup>). Исследуемые вещества: 4-ГБК и парабены (метилловый, этиловый, *n*-пропиловый, *n*-бутиловый эфиры 4-ГБК) использовались в виде субстанций фармакопейной чистоты (Sigma).

**Оборудование для хроматографии и проявления хроматограмм:** пластины для тонкослойной хроматографии Sorbfil UV-254 (ЗАО «Сорбполимер», Россия, 10×10 см); стеклянные камеры для хроматографирования; градуированные капилляры с ценой деления 1 мкл; УФ-лампа УФО-254 (УПМ-ФИМЕТ) с длиной волны излучения 254 нм.

**Приготовление растворов.** Растворы с известной концентрацией парабенов готовили по точно взвешенным навескам реагентов, используя дважды дистиллированную воду и мерную посуду.

**Методика получения и обработки хроматограмм.** На стартовую линию пластинки для ТСХ с помощью микрошприца наносили по 10 мкл градуировочных растворов или раствора, полученного после пробоподготовки; расстояние между точками нанесения растворов не менее 1,5 см. Пластинки помещали в камеру для восходящего элюирования и закрывали крышкой. При использовании традиционных ПФ (смеси органических растворителей) камеру предварительно насыщали парами ПФ. При использовании мицеллярных растворов ПАВ в качестве ПФ, как показал опыт, насыщения камеры не требуется. Когда фронт ПФ достигал высоты около 8 см от линии старта, пластинку вынимали и сушили на воздухе.

Хроматографические зоны парабенов проявляли по тушению флуоресценции УФ-покрытия пластинки. При облучении пластинки УФ-светом с длиной волны 254 нм зоны парабенов выглядели как серые пятна на флуоресцирующем фоне; контуры пятна фиксировали карандашом. Значение фактора запаздывания (retardation factor)  $R_f$  рассчитывали общепринятым способом.

В качестве аналитического сигнала для количественного определения парабенов использовали площадь хроматографической зоны (пятна), выраженную в пикселях изображения. Для нахождения

площади пляма пластину сканували (планшетний сканер HP ScanJet 4050G Photo, разрешение 900 dpi) і обробляли зображення з допомогою програми Adobe Photoshop CS 2. Количественное определение метилпарабена осуществляли по методу градуировочного графика. В статистической обработке данных использовали программы MS Excel 2003 и Origin 6.0.

**Изложение основного материала и обоснование полученных результатов исследования.** Особенности разделения парабенов в ТСХ при восходящем элюировании с подвижными фазами на основе растворов ПАВ. Как показано ранее [2], лучшие результаты разделения парабенов на пластинках с силикагелем достигаются при использовании мицеллярных ПФ состава: (а) раствор  $5 \cdot 10^{-4}$  моль/л ЦПХ, содержащий 6 % (v/v) 1-пропанола при pH 3 и (б) раствор  $1,0 \cdot 10^{-2}$  моль/л Твин-80, содержащий 0,3 % (v/v) 1-пентанола. На рисунке 2 сопоставлены хроматограммы парабенов, полученные с этими ПФ, и с ПФ традиционного типа, состоящей из смеси органических растворителей (петролейный эфир : хлороформ : уксусная кислота,) далее – ПФ (в).

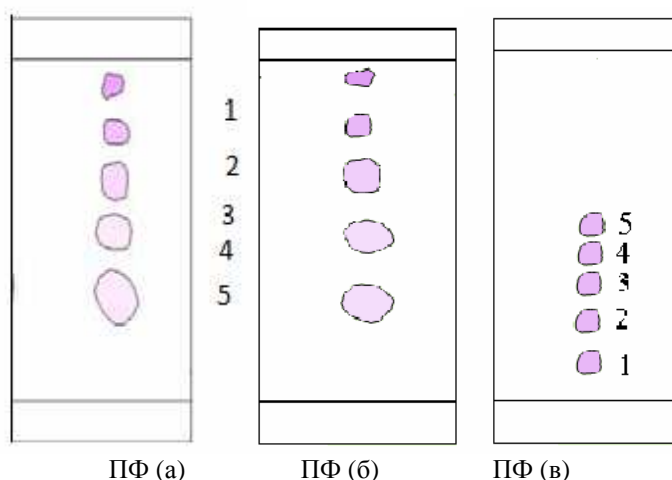


Рис. 2. Хроматограммы смеси 4-ГБК (1), метилового (2), этилового (3) *n*-пропилового (4), *n*-бутилового (5) эфиров 4-ГБК. Состав ПФ (а)-(в) (см. в тексте)

При использовании ПФ (в)-смеси органических растворителей хроматографические зоны парабенов размещены в последовательности, характерной для нормальнофазовой хроматографии – подвижность парабенов возрастает с ростом их гидрофобности. При переходе к подвижным фазам (а) и (б), содержащим ПАВ, последовательность зон парабенов обращается, что объясняется сорбцией ПАВ на поверхности силикагеля и гидрофобизацией последнего при контакте с ПФ.

Хроматограмма, полученная с ПФ (в), типична для камеры с предварительным насыщением, когда видимый фронт образован сорбированными парами растворителя, а действительный фронт занижен [1]. В результате сокращаются проходимые пятнами пути, и, следовательно, снижается разрешающая способность [1]: для соседних пятен в двух случаях разность  $\Delta R_f$  меньше 0,1 [2]. Разделение улучшается при использовании ПФ (а) и (б): на хроматограммах увеличивается расстояние между центрами соседних пятен, хотя несколько увеличиваются и размеры пятен. Лучшие результаты получены с подвижной фазой (б) – мицеллярные растворы Твин-80.

Наблюдаемая с мицеллярными ПФ последовательность зон парабенов, характерная для обращенно-фазовой хроматографии, позволяла ожидать, что концентрация ПАВ в ПФ для ТСХ будет таким же фактором управления разделением веществ, как и в мицеллярной жидкостной хроматографии с обращенно-фазовыми колонками. Однако в случае ТСХ значения фактора запаздывания  $R_f$  парабенов практически не менялись при варьировании концентраций ЦПХ или Твин-80 в составе мицеллярных ПФ [2].

Для объяснения этого факта исследовано образование двойного фронта ПФ, вызываемое специфическими причинами при работе с мицеллярными ПФ. Принято считать, что второй фронт отражает отставание мицеллярной псевдофазы ПАВ.

В предыдущей работе [2] мы наблюдали второй фронт визуально под УФ-облучателем по различиям флуоресценции фона пластинки. Линия второго фронта, ограничивающая область с менее интенсивным свечением фона, располагалась вблизи первого, видимого фронта. Эту границу, по ана-

логии с литературными данными, приписали движению мицеллярной псевдофазы [2]. В настоящей работе для проявления фронта мицеллярной псевдофазы использовали краситель эритрозин, который связывается мицеллами ПАВ. Раствором красителя опрыскивали пластинки после элюирования. Оказалось, что фронт мицеллярной псевдофазы ПАВ при восходящем элюировании существенно отстает от фронта водной фазы, образуя третью границу, неразличимую визуально под УФ-облучением (рис. 3). Фронт мицеллярной фракции (третий фронт) охарактеризован значениями фактора запаздывания  $R_f$  по аналогии с фактором запаздывания разделяемых веществ (табл. 1).

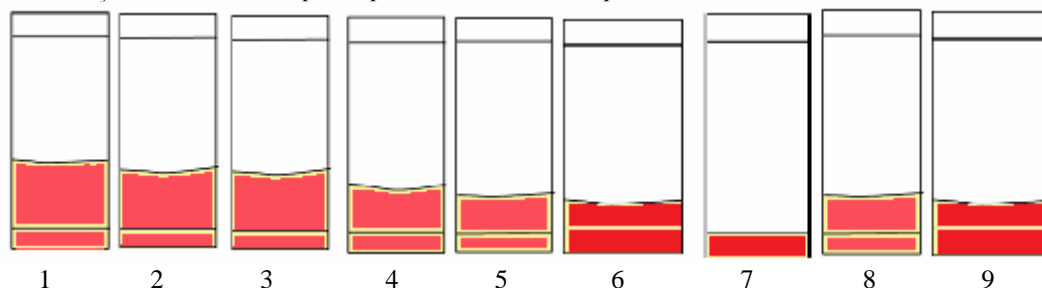


Рис. 3. Положение фронта мицеллярной фракции ПФ на хроматографических пластинках «Sorbfil» с УФ-покрытием (проявитель эритрозин). (Состав ПФ указан в табл. 1)

Таблица 1

Факторы запаздывания мицеллярной псевдофазы (третий фронт) на пластинках «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А-УФ

№ ПФ	Состав ПФ	$\bar{R}_f \pm t_{p,f} \times S_{\bar{R}_f}$
1	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л Твин-80	$0,37 \pm 0,02$
2	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л Твин-80, 3 % 1-пропанола	$0,36 \pm 0,02$
3	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л Твин-80, 1 % 1-бутанола	$0,36 \pm 0,02$
4	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л Твин-80, 0,3 % 1-пентанола	$0,27 \pm 0,02$
5	$1 \cdot 10^{-2}$ моль/л ЦПХ	$0,20 \pm 0,01$
6	$5 \cdot 10^{-3}$ моль/л ЦПХ	$0,12 \pm 0,02$
7	$1 \cdot 10^{-4}$ моль/л ЦПХ (домицеллярная область концентраций)	Нет линии третьего фронта
8	ЦПХ и Твин-80, $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л каждого	$0,20 \pm 0,03$
9	ЦПХ и Твин-80, $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л каждого	$0,13 \pm 0,01$

Данные таблицы 1 соответствуют представлениям об электростатическом характере адсорбции ПАВ на силикагеле, которая сопровождается поверхностной агрегацией. Ясно, что катионный ЦПХ сильнее удерживается поверхностью силикагеля, чем неионный Твин-80. Катионными являются и смешанные микроагрегаты ЦПХ-Твин-80 в ПФ 8 и 9, поэтому фронт псевдофазы смешанных мицелл характеризуется такими же значениями фактора запаздывания, как и в случае индивидуальных растворов ЦПХ с той же концентрацией.

Зоны всех парабеов оказываются выше границы третьего фронта (но ниже границы второго), следовательно, какое-то время разделяемые вещества движутся не с мицеллярной ПФ, а с водным раствором мономеров ПАВ (последние гидрофобизируют поверхность силикагеля). При этом из процессов, определяющих удерживание парабеов, исключается распределение парабеов между водным раствором и мицеллами ПФ; тогда концентрация мицелл, и, следовательно, концентрация ПАВ перестает влиять на удерживание веществ.

Валидация методики количественного определения парабеов в косметической продукции методом ТСХ с мицеллярными подвижными фазами. Мицеллярный раствор  $1,0 \cdot 10^{-2}$  моль/л Твин-80 с объемной долей 1-пентанола 0,3 % использован в качестве ПФ для ТСХ-обнаружения и количественного определения парабеов в косметических продуктах. Исследования по валидации выполнены для методики определения метилпарабена, чаще других используемого в косметических товарах и средствах гигиены. В качестве объектов анализа использовались следующие продукты (в скобках приведены парабеы, указанные в составе продукта): молочко-гель по уходу за телом (метилпарабен, этилпарабен, пропилпарабен, бутилпарабен); крем для тела (метилпарабен, пропилпарабен); бальзам для волос (метилпарабен).

Валидацію проводили в соответствии с рекомендациями [10], с учетом специфики методик ТСХ [8], определяя следующие аналитические характеристики: специфичность, линейность градуировочного графика, пределы обнаружения и определения, прецизионность (промежуточная), правильность и робастность.

Специфичность обнаружения и определения метилпарабена оценивали по отношению к другим парабенам (этилпарабен и пропилпарабен) как веществам наиболее близкой структуры, которые могут содержаться в объектах анализа наряду с метилпарабеном. Значения факторов запаздывания  $R_f$ , разрешения (разрешающей способности) двух хроматографических зон и селективности разделения приведены в таблице 2.

Таблиця 2

**Характеристики разрешения и селективности при определении метилпарабена в присутствии этил- и пропилпарабена**

Вещество	$R_f$	Ширина пятна, см	Разрешение	Селективность
Метилпарабен (Me)	0,84	0,60	–	–
Этилпарабен (Et)	0,75	0,65	Me-Et: 1,2	Me-Et: 1,7
Пропилпарабен (Pr)	0,65	0,75	Me-Pr: 2,3	Me-Pr: 2,8

Градуировочный график в координатах площадь пятна ( $S$ , пиксели) – масса метилпарабена в пятне ( $m$ , мкг) строили с использованием шести растворов с известными концентрациями метилпарабена, приготовленных независимо весовым методом. На пластинку для ТСХ наносили одинаковые объемы (10 мкл) каждого градуировочного раствора в рандомизированной последовательности. Градуировочный график хорошо описывался линейной зависимостью, свободный член которой является статистическим нулем (рис. 4).

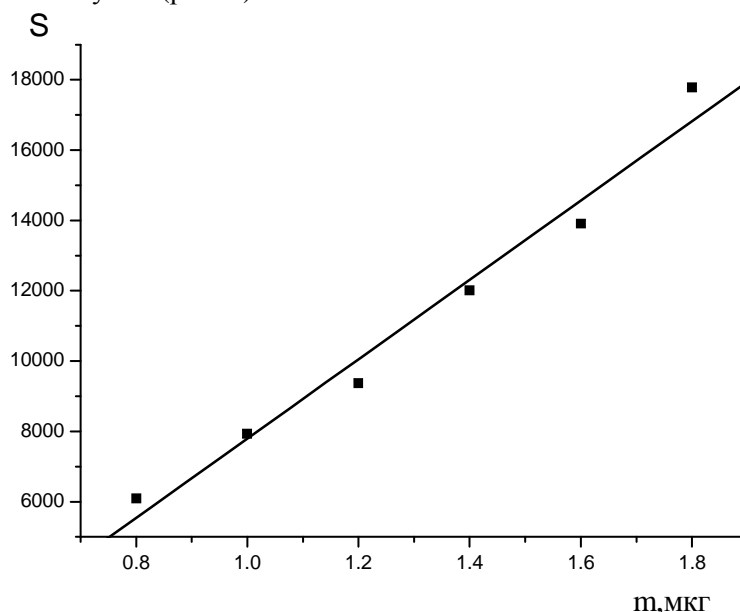


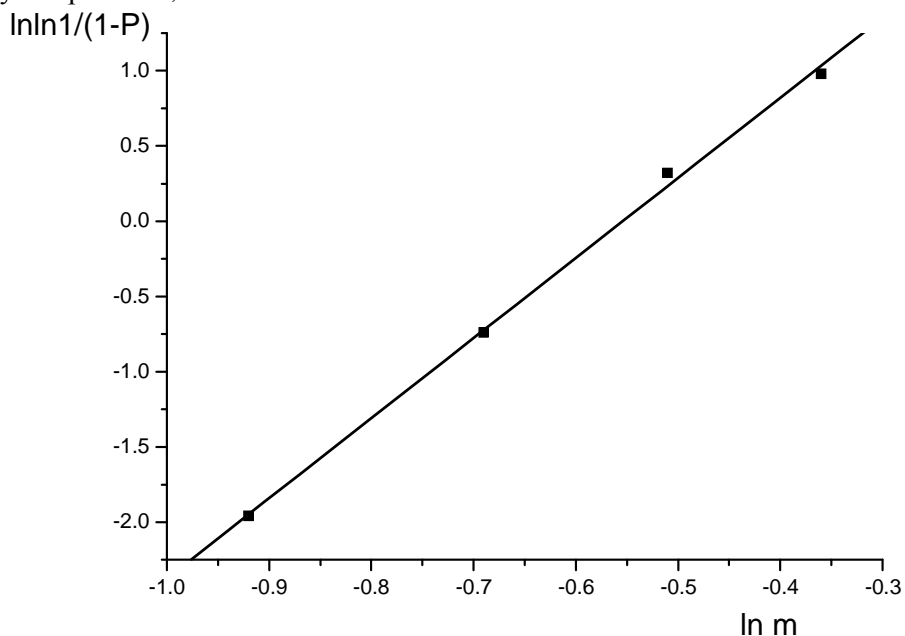
Рис. 4. Градуировочный график для определения метилпарабена;  $S = (-2 \pm 4) \cdot 10^3 + (11 \pm 3) \cdot 10^3 \cdot m$ ;  $R = 0,98$

*Пределы обнаружения и определения метилпарабена.* Поскольку измерению площади пятна предшествует его визуальное обнаружения и локализация, для оценки предела обнаружения (ПрО) использован вероятностный подход, применяемый в визуальном качественном анализе [3]. На основе изучения частот обнаружения аналитического эффекта при концентрациях аналита, близких к пределу обнаружения, ПрО оценивали как массу аналита на пятно, обнаруживаемое с заданной доверительной вероятностью [3]. Эмпирическое распределение частот обнаружения, как показал графический анализ (рис. 5), близко к функции распределения Вейбулла, в линеаризованной форме

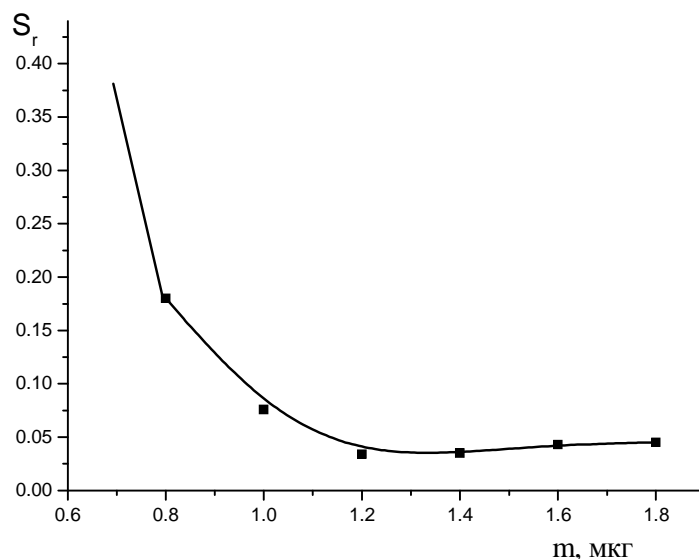
$$\ln \ln \frac{1}{1-P} = -k \ln b + k \ln m,$$

где  $P$  – вероятность обнаружения аналита,  $m$  – масса аналита в пятне,  $k$  и  $b$  – параметры. При доверительной вероятности 0,95  $\text{PrO} = 0,63$  мкг на пятно.

Предел количественного определения (ПрКО) находили по зависимости относительного стандартного отклонения результата анализа от массы аналита в пятне (рис. 6). Значению  $s_r = 0,10$  соответствует  $\text{PrKO} = 0,94$  мкг на пятно.



**Рис. 5.** Проверка согласия эмпирических частот обнаружения метилпарабена с линейризованной функцией Вейбулла



**Рис. 6.** Зависимость относительного стандартного отклонения результата определения от массы метилпарабена в пятне

Прецизионность – степень близости друг к другу независимых результатов измерений, обычно выражают в терминах стандартных отклонений. Прецизионность количественного определения метилпарабена оценивали в условиях промежуточной прецизионности (intermediate precision), используя результаты, полученные для одного и того же объекта анализа в одной и той же лаборатории, но в разные дни, с использованием разного оборудования и двумя разными операторами (табл. 3).

Таблиця 3

Характеристики правильности и промежуточной прецизионности результатов определения метилпарабена в косметических продуктах ( $s_r$  – относительное стандартное отклонение,  $n$  – число определений,  $\omega$  – массовая доля метилпарабена в пересчете на 4-гидроксibenзойную кислоту)

Объект анализа	$s_r$	Найдено, $\omega$ , % ( $n = 6$ )	Введено добавки $\omega$ , % ( $n = 3$ )	Найдено с добавкой, $\omega$ , %	Степень извлечения добавки, %
Крем для тела	0,02	0,084 ± 0,005	0,081	0,16 ± 0,02	97 ± 19
Молочко-гель	0,04	0,098 ± 0,009	0,068	0,15 ± 0,02	91 ± 17
Бальзам для волос	0,03	0,061 ± 0,006	0,063	0,13 ± 0,01	96 ± 9

Правильность определения метилпарабена оценивали, анализируя один и тот же образец косметического средства до и после введения в него известной добавки метилпарабена. Для проб с добавкой и без добавки одинаково выполнялись все аналитические операции, включая пробоподготовку. Как видно из таблицы 3, степень извлечения добавки во всех случаях характеризуется достоверным интервалом, включающим 100 %, что подтверждает правильность определения.

Робастность (*robustness* – устойчивость) методики – мера ее способности оставаться без изменений при небольших, но неслучайных изменениях в параметрах методики, которая показывает пригодность и надежность методики при нормальном использовании [10]. Исследована робастность методики при изменении массы навески пробы. Результаты анализа не изменяются, если масса навески изменена не более чем на 10 % по сравнению с массой 1 г, предусмотренной в проекте методики. При дальнейшем увеличении навески возникает перегрузка хроматограммы.

**Выводы и перспективы дальнейших исследований.** Мицеллярные растворы Твин-80, содержащие 0,3 % (v/v) 1-пентанола, применяемые в качестве ПФ для ТСХ, обеспечивают эффективное разделение четырех парабенов на нормальнофазовых пластинках. При восходящем элюировании в такой системе движению мицеллярной псевдофазы соответствует не второй, как принято считать, а третий фронт, который обнаружен с помощью красителя эритрозина. Зоны разделяемых парабенов оказываются выше фронта мицеллярной псевдофазы, следовательно, с какого-то момента движение парабенов уже не связано с их распределением между мицеллами и водным раствором ПФ. Тогда концентрация мицелл и, следовательно, концентрация ПАВ в ПФ перестают влиять на удерживание парабенов, что и наблюдалось на практике.

Количественное определение парабенов методом ТСХ с мицеллярной ПФ основано на сканировании хроматограмм, обработке сканированного изображения и вычислении площади хроматографических зон в качестве аналитического сигнала. Выполнена внутрिलाбораторная валидация методики обнаружения и количественного определения метилпарабена в косметических продуктах; аналитические характеристики методики свидетельствуют о правильности определений и приемлемой для количественного анализа селективности и прецизионности.

#### Источники и литература

1. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография) : в 2 т. : пер. с англ. / Ф. Гейсс, М. А. Кошевник, Б. П. Лапин ; под ред. проф. В. Г. Березкина. – М. : Науч. совет РАН по хроматографии, 1999. – Т. I. – 405 с. ; Т. II. – 348 с.
2. Контроль содержания п-гидроксibenзойной кислоты и парабенов в косметических средствах методом мицеллярной тонкослойной хроматографии / Л. П. Логинова, Д. В. Едаменко, А. Ю. Куликов, А. Н. Лаврененко // Вісн. Харк. нац. ун-ту. – 2006. – № 731 : Хімія. – Вип. 14 (37). – С. 127–134.
3. Метрологические характеристики методик обнаружения с бинарным откликом / Ю. В. Холин, Н. А. Никитина, А. В. Пантелеймонов [и др.]. – Харьков : Тимченко, 2008. – 128 с.
4. Cashman A. Parabens. A Review of Epidemiology, Structure, Allergenicity, and Hormonal Properties / Allison M. Cashman, Erin M. Warshaw // Dermatitis. – 2005. – Vol. 16 (2). – P. 57–66.
5. Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours / P. D. Darbre, A. Aljarrah, W. R. Miller, N. G. Colldham, M. J. Sauer, G. S. Pope // J. Appl. Toxicol. – 2004. – Vol. 24. – P. 5–13.
6. Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products / N. de Kruijff, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi, A. Schouten // J. Chromatogr. – 1987. – Vol. 410. – P. 395–411.

7. Kalász H. Pharmaceutical Applications of TLC [Electronic resource] / H. Kalász, M. Báthori // LC-GC Europe. – 2001. – P. 1–8. – Mode of access : <http://www.chromatographyonline.com/lcgc/data/articlestandard//lcgceurope/182002/18098/article.pdf>
8. Planar Chromatography. A retrospective view for the third millennium / Editor Sz. Nyiredy. – Budakalasz, Hungary : Springer, 2001. – 614 p.
9. SCCS/1348/10. Opinion on parabens [Electronic resource] / Scientific Committee on Consumer Safety. – 14 December 2010, revision of 22 March 2011. – 2011. – Mode of access : [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_o\\_041.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_041.pdf)
10. Validation of analytical procedures: text and methodology, Q2(R1). ICH harmonised tripartite guideline / International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, 2005. – 17 p.

**Єдаменко Дарія, Логінова Лідія. Розробка і валідація методики визначення парабенів у косметичній продукції методом тонкошарової хроматографії з міцелярними рухомими фазами.** Міцелярні розчини Твін-80 запропоновано використовувати як рухомі фази для розділення парабенів методом тонкошарової хроматографії на нормально-фазових пластинах. На цій основі створено методику виявлення та кількісного визначення метилпарабену в косметичній продукції. Аналітичним сигналом є площа хроматографічної плями, знайдена під час обробки зображення сканованої хроматограми. Виконано валідацію методики. З використанням індикатора еритрозину уточнено положення фронту міцелярної псевдофази на хроматограмах та виявлено особливості розподілу парабенів у хроматографічній системі з висхідним елююванням, зумовлені суттєвим утриманням міцелярної псевдофази. Межам виявлення та кількісного визначення відповідають маси метилпарабену в плямі 0,63 та 0,94 мкг відповідно.

**Ключові слова:** парабени, тонкошарова хроматографія, міцелярна рухома фаза, Твін-80, валідація.

**Edamenko Daria, Loginova Lidia. Development and Validation of Methods of Parabens Determination in Cosmetic Products by Thin-layer Chromatography with Micellar Mobile Phases.** It was suggested to use the micellar solutions of Tween-80 as the mobile phase for separation of parabens by thin-layer chromatography on the normal-phase plates. On this basis, the method of detection and quantitative determination of methylparaben in cosmetics was developed. Analytical signal is the area of the chromatographic spots, which was estimated by image processing of the scanned chromatogram. The validation of method was performed. The location of the front of micellar pseudophase on the chromatograms was specified more exactly by use of indicator erythrosine. The peculiarities of the parabens distribution in a chromatographic system with ascending elution are revealed, which are caused by significant retention of the micellar pseudophase. Limits of detection and quantification are corresponded to mass of methylparaben in a spot 0,63 and 0,94  $\mu\text{g}$ , respectively.

**Key words:** parabens, thin-layer chromatography, micellar mobile phase, Tween 80, validation.

Харьковский национальный университет  
имени В. Н. Каразина

Статья поступила в редколлегию  
20.05.2013 г.

УДК 543.33:543.55

**Наталія Смик**

### **Інверсійно-вольтамперометричне визначення співіснуючих у природних водах форм плюмбуму**

Проведено порівняння результатів розрахунку вмісту співіснуючих у водах форм Pb із результатами його визначення ІВА методом в умовах, що не порушують їхньої природної рівноваги. Показано ефективність УФ-опромінення розчину в присутності  $\text{Fe}^{3+}$ - $\text{H}_2\text{O}_2$  систем для деструкції стійких комплексів із розчинними органічними речовинами. Розроблено методику окремого визначення загального вмісту Pb та вмісту його найбільш токсичних «вільних» форм із ГрВ 3 мкг/л.

**Ключові слова:** плюмбум, співіснуючі форми, метод інверсійної вольтамперометрії.

**Постановка наукової проблеми та її значення.** Основне завдання аналітичного контролю екологічних об'єктів – отримання об'єктивної інформації про вміст речовин-токсикантів у навколиш-