

Biológiailag aktív anyagok kimutatása és meghatározása kozmetikai készítményekben

GÁL ILONA

Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete

Érkezett: 1961. február 23.

Biológiailag aktív anyagok — mint ismeretes — olyan anyagok, amelyek valamely mikroorganizmus fejlődését elősegítik vagy gátolják. A kozmetikai ipar készítményeinek ható-, tartósító, vagy kiegészítő anyagai között több ilyen jellegű, elsősorban gátló hatású alkatrész (hexaklorofén, pentaklorfenolnátrium, mentol stb.) szerepel. E hatóanyagok kimutatása, illetve meghatározása lehetőleg egyszerű, sorozatvizsgálatokra is alkalmas szabványmódszereket igényel. Ilyenek ez idő szerint még nem állnak a minőségvizsgáló intézetek rendelkezésére. A számba jöhető mikrobiológiai módszerek közül az — elsősorban antibiotikumok vizsgálatánál alkalmazott — diffúziós módszer (1) látszik kitűzött célunk megvalósítására a legalkalmasabbnak. Előnye, hogy nem igényli a vizsgálandó alkatrésznek a kísérő anyagoktól való előzetes megtisztítását; idő és munkaigényesség szempontjából leginkább a papiroskromatográfiával hasonlítható össze: délután aránylag csekély fáradtsággal beállítva másnap reggelre már eredményt ad. Ezért úgy gondoltuk, nem volna érdektelen megnézni, hogy az említett alkatrész-csoport tagjai közül melyik határozható meg ezzel a módszerrel a kémiai eljárásokat megközelítő pontossággal, melyiknél alkalmas a módszer legalább becslésre és melyiknél használható csupán kimutatásra. Természetesen a módszer mint a mikrobiológiai módszerek általában, nem specifikus. Erre azonban az ismert összetételű készítmények sorozatos ellenőrző vizsgálatánál nincs is különösebb szükség. Egyébként — amint az irodalmi adatokból kitűnik — a mikrobiológiai módszerek még számos, ki nem aknázott lehetőséget nyújtanak a hatóanyagok azonosítását illetően is (2) és mi — amennyiben kísérleti eredményeink megengedik — ezeknek a lehetőségeknek munkánk során különös figyelmet is kívánunk szentelni.

Előrebocsátjuk, hogy mindig egy-egy adott összetételű készítmény vizsgálatából indulunk ki és abban a kísérő anyagok szerepét a szükséghez képest külön-külön is tanulmányozzuk. Ezuton kívánunk a meghatározás módjára, esetleg a receptorák összeállítására vonatkozólag is — általánosabb érvényű következtetésekre jutni.

A jelenleg forgalomban levő, számba jöhető mintegy 25—30 féle készítmény közül először csupán az *egy* biológiailag aktív alkatrészt tartalmazókat tesszük vizsgálat tárgyává.

I. Hexaklorofén borotvakrémben

A magyar kozmetikai ipar újabban több készítmény fertőtlenítő hatású anyagaként alkalmazza a kiváló antibakteriális hatású hexaklorofént (2,2 dihidroxí, 3,3, 4,4, 6,6 triklor-difenilmetán; kereskedelmi megjelölés G-11). Először a „Figaro” borotvakrémét tettük vizsgálat tárgyává.*

A meghatározására kidolgozott eljárások túlnyomó többsége fotométeres. Ezek specifikusak, de vagy csupán a könnyen oldható szappanokra korlátozódnak (3), krémek esetében közvetlenül nem használhatók, vagy utóbbiak esetében is alkalmazhatók ugyan, de minthogy a kísérőanyagok-

* A Budapesti Illatszert- és Pípereszappangár készítménye

tól való gondos megtisztítást feltételezik (4,5) igen munkaiigényesek. Diffúziós módszerrel dolgoztak fertőtlenítő szereknek, többek között G-11-nek szappanokban való kimutatásánál *Bechtold* és munkatársai: A vizsgálandó szilárd halmazállapotú szappan egy formált darabkáját helyezték kis szűrőpapír-korongon a teszt-organizmussal beoltott táptalajra és a képződött gátlási zónákat az inkubációs idő letelte után vizsgálták. (6)

Tapasztalataink szerint ez az eljárás kozmetikai krémek vizsgálatára is alkalmas, de csupán a hatóanyag kimutatására, mennyiségének becslésére már nem. Feltehető volt, hogy ez csupán a krémből való előzetes kioldása útján érhető el.

Vizsgálati módszer

Táptalaj: Standard húsleves-agar.

Teszt-organizmus: *Staphylococcus aureus* SG 511 (nemzetközileg használt törzs fertőtlenítő hatás vizsgálatára).

Lemezöntés: A teszt-mikróba 24 órás húsleves-tenyészetéből kivett 0,3 ml-rel beoltottuk a kémcsőben levő, megolvasztott, majd 50 °C-ra lehűtött tápagart és ezzel lemezt öntöttünk. Eltérően az idézett szerzőktől, akik szűrőpapírbetéttel adszorbeáltatták a kondenzvizet, melynek visszacsöpögése zavarja a baktériumok egyenletes hártját képező növekedését, mi egyszerűen a Petri-csésze fedelét cseréltük a megszilárdulás után és ezzel a kondenzvíz zömét eltávolítva a visszacsöpögés veszélyét elhárítottuk. A lemezbe steril, 9 mm átmérőjű dugófúróval szokványos módon lyukakat fúrunk, ezekbe csöpögtettük be a vizsgálandó oldat egyforma térfogatait (0,1 ml); a kialakult gátlási zónákat 16 órás inkubáció után olvastuk le. Oldószerként minden esetben 0,05 n KOH oldatot használtunk, mely előkísérleteink szerint önmagában még nem fejt ki bakteriosztatikus hatást (7).

Az összehasonlító oldatokat a gyártáshoz felhasznált hexaklorofénnel készítettük.

Mindenekelőtt meg kellett állapítanunk az oldott hexakloroféntől származó gátlási zónák átmérőjének függését az oldat koncentrációjától, és pedig 1. tiszta oldószerben és 2) saját (G-11 mentes borotvakrémes) közegben. Evégből:

1) a) 0,01%-os és b) 0,1%-os G-11 törzsoldatokat készítettünk 0,05 n KOH-ban és mindegyikből kémcsőben 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 és 9 ml-eket az oldószerrel 10 ml-re kiegészítve olyan oldatokat kaptunk, amelyek 0,1 ml-ében (lyukakba betöltött mennyiség) a) 1, 2, 3.....9 γ , illetve b) 10, 20, 30.....90 γ G-11 volt.

2/a és b). Olyan 0,01%-os és 0,1%-os törzsoldatokat is készítettünk, amelyek a receptúrának megfelelő mennyiségű (a gyártó vállalattól rendelkezésünkre bocsátott) G-11-mentes borotvakrémet is tartalmaztak szuszpenzió alakjában, vagyis a) 100 ml-ben 2 g-ot és b) 100 ml-ben 20 g-ot. A további hígítás kémcsővekben tiszta oldószerrel történt. A lyukakba bevitt G-11 mennyiségek és borotvakrém aránya ily módon mindig állandó maradt.

A kísérletek eredményét az 1. és 2. ábra szemlélteti.

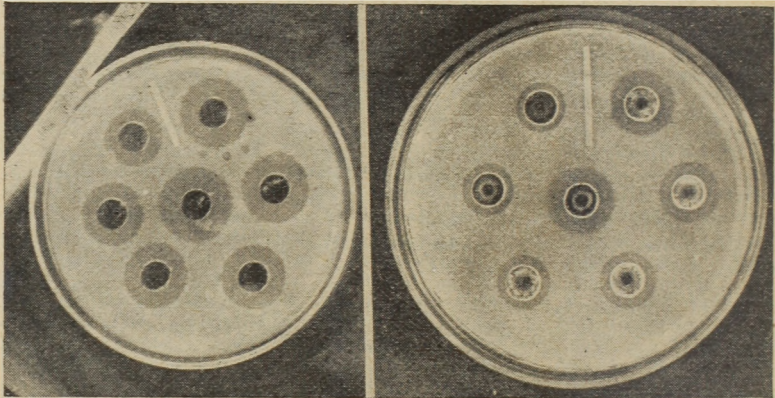
Szembetűnő a gátlási zónák átmérőjében mutatkozó különbség; A zónák a kozmetikum saját közegében sokkal keskenyebbek, mint amennyi tényleges G-11 tartalmuk alapján várható. A jelenség inaktíváló alkatrészek jelenlétére vezethető vissza, amint arról más helyen részletesebben beszámolunk. (8)

Hexaklorofén gátlási zónái

1. ábra

Tiszta oldószerben

Borotvakrémtartalmú oldószerben

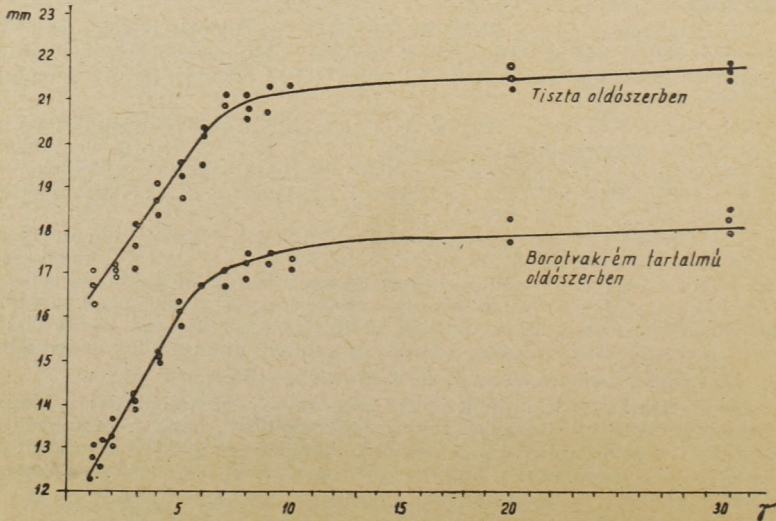


Jeltől balra, sorban: 1, 2, 3, 4, 5, 7 γ G—11

Középen: 10 γ G—11

Megjegyzés: A lyukakban látható fehér üledék a krém nem oldódó alkotórészeitől származik. A szűrés mégis felesleges, mert kísérleteink szerint a szűrt és szűretlen oldatok antimikrobás hatása között nincs eltérés.

2. ábra



Éppen ezért feltétlenül szükséges, hogy a meghatározás alapjául szolgáló kalibrációs görbét a kozmetikum saját közegében vegyük fel; ajánlatos, hogy a kozmetikum becsöpögtetésre kerülő mennyiségében 3—5 γ G-11 legyen.

A meghatározás *ajánlható menete* a következő: A vizsgálandó borotvakrémből 2 g-ot porcelántálkába mérünk és 0,05 n KOH enyhén (40—50 °C-ra) felmelegített oldatának pár ml-ével addig keverjük, míg egyenletes szuszpenzió képződik. Ezt az oldószerral 100 ml-es mérőlombikba mossuk át és vele jelig feltöltjük. A szuszpenzióból 4 ml-t kémcsőbe pipettázunk, hozzáadunk 6 ml oldószert és óvatosan összekeverjük. Ebből az oldatból csöpögtetünk be 0,1 ml-t (tartalmaz 4 γ G-11-t) x 3 olyan lemez egyik lyukába, amelyek többi lyukaiba fent leírt módon készült, 2, 3, 4, 5 és 6 γ G-11-t tartalmazó borotvakrémes oldatokat töltöttünk be. Tapasztalataink szerint — a kifejlődött gátlási zónák átmérőinek középértékeivel számolva — a módszer maximális hibája $\pm 20\%$, sokszor 10% alatt van. A receptura esetleges változásait (jelenleg 0,5% G-11) természetesen mindenkor figyelemmel kell kísérnünk, a bemérést ennek megfelelően módosítanunk.

A maximális hibahatárok tágasságából következik, hogy a G-11 meghatározása a leírt módszerrel a borotvakrémben *csak tájékoztató jellegű*, a G-11 mennyiségének csupán beclésére alkalmas.

Lóránt Béla és Holényi Lászlóné kartársaknak értékes útmutatásaikért, Rajky Antalné kartársnőnek pedig a fényképfelvételekért e helyen is hálás köszönetemet fejezem ki.

IRODALOM

- (1) Florey, H. W., Abraham E. P., Chain E. etc.: The Lancet, 241, 177, 1941.
- (2) Sándi E., Szántha J.: ÉVIKE 6, 141, 1960.
- (3) Klänge, K.: Seifen, Öle, Fette, Wachse 85, 61, 1959.
- (4) Lord, J. W., Mc Adam I. A., Jones E. B.: Soap, Perfumery and Cosmetics 26, 783, 1953
- (5) Clements, J. E., Newburger, S. H.: J. Assoc. Agr. Chemists 37, 190, 1954.
- (6) Bechhold, C. L., Lawrence, E. A. Owen E. M.: Proceeding of the Scientific Section of the Toilet Goods Association, Nr. 24, December, 1955.
- (7) Gál, I.: Seifen, Öle, Fette, Wachse, 87, 59, 1961.
- (8) Gál, I.: Fette, Seifen, Anstrichmittel 63, 539, 1961.

КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВАХ I.

Гал И.

Автор исследовал определение гексахлорофена в бритвенном креме методом диффузии, применением тест-организма штамма Staph. aureus SG 511. Установил, что метод служит только для определения ориентированных данных, максимальная относительная ошибка определения $+20\%$. Ввиду инактивирующих примесей необходимо определить калибрационную кривую в собственной среде косметического средства.

NACHWEIS UND BESTIMMUNG BIOLOGISCH AKTIVER SUBSTANZEN IN KOSMETISCHEN ERZEUGNISSEN. I.

I. Gál

Verfasserin stellte Versuche zur Bestimmung von Hexachlorophen in Rasiercreme vermittels der Diffusionsmethode, unter Verwendung von Staph. aureus SG 511 als Testorganismus an. Sie stellte fest, dass die Methode bloss orientierenden Wert besitzt, der relativer Fehler beträgt max. $\pm 20\%$.

Wegen der Anwesenheit inaktivierender Bestandteile ist es unbedingt erforderlich, die als Grundlage der Wertbestimmung dienende Kalibrationskurve im eigenen Medium des Kosmetikums aufzunehmen.

DETECTION AND DETERMINATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN COSMETICAL PREPARATIONS, I.

I. Gál

Experiments were carried out by the author to prove whether it is possible to determine hexachlorophene in shaving creams by the diffusion method, applying strain SG 511 of *Staphylococcus aureus* as a test organism. It was found that this method yields only informative values, the maximum value of the relative error ranging $\pm 20\%$. Owing to the presence of deactivating components, it is indispensable to establish the calibration curve (serving as a basis of the estimation) in the own medium of the cosmetic preparation.

DÉTECTION ET DOSAGE DE CORPS D'UNE ACTIVITÉ BIOLOGIQUE DANS LES PRÉPARATIONS COSMÉTIQUE I.

I. Gál

L'auteur a fait des essais pour le dosage de l'hexachlorophène dans les crèmes à raser avec la méthode de diffusion, en employant comme organisme-test une race de Staph. aureus S G 511. Elle a établi que la méthode a une valeur informative seulement, le maximum de l'erreur relative est de $\pm 20\%$. La présence de corps inactivants rend absolument nécessaire d'établir la courbe de calibration servant pour l'estimation dans le milieu même du cosmétique.