



Σχολή Θετικών Επιστημών & Τεχνολογίας

Χημική και Βιομοριακή Ανάλυση

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Οι Χρωστικές στην Κοσμητολογία. Τεχνικές Ανάλυσης Οργανικών Χρωστικών Ουσιών στα Καλλυντικά Προϊόντα

Αργύρης Ντελής

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Όρκουλα Μαλβίνα

Συνεπιβλέπων καθηγητής: Θεόδωρος Χριστόπουλος

Πάτρα, Ιανουάριος 2025

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή Αργύρη Ντελή που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



Οι Χρωστικές στην Κοσμητολογία. Τεχνικές Ανάλυσης Οργανικών Χρωστικών Ουσιών στα Καλλυντικά Προϊόντα

Αργύρης Ντελής

Επιτροπή Επίβλεψης Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Μαλβίνα Όρκουλα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμήμα
Φαρμακευτικής, Πανεπιστήμιο Πατρών

Συν-Επιβλέπων Καθηγητής:

Θεόδωρος Χριστόπουλος

Καθηγητής, Τμήμα Χημείας,
Πανεπιστήμιο Πατρών

Πάτρα, Ιανουάριος 2025

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κ. Μαλβίνα Όρκουλα για την επιλογή του θέματος της παρούσας διπλωματικής μου εργασίας, την πολύτιμη καθοδήγηση της, την εμπιστοσύνη και την εκτίμηση που μου έδειξε. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τον γιό μου, την κόρη μου που επρόκειτο να γεννηθεί σύντομα και ιδιαιτέρως την σύζυγο μου για την υπομονή τους, την στήριξη τους και την δύναμη που μου έδιναν καθημερινά.

Περίληψη

Οι χρωστικές στην Κοσμητολογία κατέχουν έναν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία καλλυντικών προϊόντων, προσδίδοντας χρώμα, ένταση και αισθητική αξία. Χρησιμοποιούνται σε μια ποικιλία προϊόντων, όπως κραγιόν, σκιές ματιών, ρουζ, βερνίκια νυχιών κ.α., για να ενισχύσουν την εμφάνιση και να προσφέρουν στους καταναλωτές μια μοναδική εμπειρία. Η νομοθεσία για τις χρωστικές είναι ιδιαίτερα αυστηρή, με στόχο την προστασία της υγείας των καταναλωτών. Οι κανονισμοί αυτοί καθορίζουν ποιες χρωστικές επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα, τι περιεκτικότητες είναι αποδεκτές και ποιες χρωστικές περιορίζονται ή απαγορεύονται λόγω της τοξικότητάς τους. Ορισμένες χρωστικές έχουν χαρακτηριστεί τοξικές και η χρήση τους στα καλλυντικά απαγορεύεται ή περιορίζεται αυστηρά, καθώς η συνεχής επαφή με το δέρμα μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες παρενέργειες ή ακόμη και σοβαρές βλάβες στην υγεία. Οι σύγχρονες αναλυτικές τεχνικές, χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό και την ανάλυση των χρωστικών σε καλλυντικά προϊόντα, ώστε να διασφαλιστεί η ποιότητά και η συμμόρφωση τους με τις απαιτήσεις της νομοθεσίας. Αυτές οι τεχνικές επιτρέπουν στους επιστήμονες να προσδιορίσουν την ποιότητα και την ποσότητα των χρωστικών, καθώς και να ανιχνεύσουν τυχόν παρουσία τοξικών ουσιών, συμβάλλοντας στην προστασία της υγείας των καταναλωτών και στη διασφάλιση της ποιότητας των καλλυντικών προϊόντων. Στην παρούσα εργασία γίνεται αναφορά στην ιστορία των χρωστικών στα καλλυντικά προϊόντα, στις καλλυντικοτεχνικές μορφές που περιέχονται καθώς και στις κατηγορίες ταξινόμησης τους. Αναφέρονται επίσης η σχετική νομοθεσία για τις χρωστικές και η τοξικότητα που ενδέχεται να φέρουν σε ένα προϊόν. Τέλος παρουσιάζονται οι κύριες αναλυτικές τεχνικές προσδιορισμού χρωστικών σε διάφορα είδη καλλυντικών προϊόντων, δίνοντας έμφαση στην προκατεργασία του δείγματος, συμπεριλαμβανομένων βιβλιογραφικών μελετών.

Λέξεις-Κλειδιά

Χρωστικές, Τοξικότητα, Εκχύλιση, Υγρή Χρωματογραφία, Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης, Αέρια Χρωματογραφία, Φασματομετρία Υπεριώδους-Ορατού, Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα

Colorants in Cosmetology. Analytical Techniques for Organic Colorant Analysis in Cosmetic Products

Argyris Ntelis

Abstract

Colorants in cosmetology play an important role in the creation of cosmetic products by providing color, intensity, and aesthetic value. They are used in a variety of products, such as lipsticks, eyeshadows, blushes, nail polishes, etc., to enhance appearance and offer consumers a unique experience. The legislation regarding colorants is particularly strict, with the aim of protecting consumers' health. These regulations define which colorants are allowed to be used in cosmetic products, what concentrations are acceptable, and which colorants are restricted or banned due to their toxicity. Some colorants have been classified as toxic, and their use in cosmetics is either banned or strictly limited, as prolonged contact with the skin can cause undesirable side effects or even serious health damage.

Modern analytical techniques are used to determine and analyze colorants in cosmetic products to ensure their quality and compliance with regulatory requirements. These techniques allow scientists to identify the quality and quantity of colorants, as well as detect the presence of toxic substances, contributing to the protection of consumers' health and ensuring the quality of cosmetic products. This paper discusses the history of colorants in cosmetic products, the cosmetic formulations in which they are included, and their classification categories. It also refers the relevant legislation regarding colorants and the toxicity they may pose in a product. Finally, the main analytical techniques for determining colorants in various types of cosmetic products are presented, with a focus on sample preparation, including bibliographic studies.

Keywords

Colorants, Toxicity, Extraction, Liquid Chromatography, High Performance Liquid Chromatography, Gas Chromatography, UV-Vis Spectrometry, Flame Atomic Absorption Spectrometry

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	iv
Περίληψη	v
Abstract	vi
Περιεχόμενα.....	vii
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων	ix
Κατάλογος Πινάκων	x
Συντομογραφίες και Ακρωνύμια	xi
Κεφάλαιο 1	1
1.1 Εισαγωγή	1
Κεφάλαιο 2	3
2.1 Η εξελικτική πορεία των χρωμάτων	3
2.1.1 Προϊστορική εποχή	3
2.1.2 Αρχαίοι Πολιτισμοί.....	3
2.1.3 Μεσαίωνας και Αναγέννηση	4
2.1.4 18ος και 19ος Αιώνας	4
2.1.5 20ός Αιώνας: Επιστημονική Εξέλιξη και Κανονισμοί	5
2.1.6 Σύγχρονη Εποχή: Βιωσιμότητα και Φυσικά Συστατικά.....	5
2.2 Εφαρμογή χρωστικών στα καλλυντικά προϊόντα	6
2.2.1 Μορφές Καλλυντικών που περιλαμβάνουν χρωστικές	6
Κεφάλαιο 3	9
3.1 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών	9
3.2 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών βάσει Διαλυτότητας	9
3.2.1 Πιγμέντα (Pigments).....	9
3.2.2 Λάκες (Lacquer)	11

3.2.3 Χρωστικές (Dyes)	11
3.3 Κατηγορίες Χρωστικών ουσιών βάσει Νομοθεσίας.....	12
3.4 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών βάσει Χημικής Σύνθεσης	13
3.4.1 Οργανικές Χρωστικές	13
3.4.2 Ανόργανες Χρωστικές	22
Κεφάλαιο 4	26
4.1 Τοξικότητα Χρωστικών Ουσιών σε Καλλυντικά Προϊόντα.....	26
Κεφάλαιο 5	31
5.1 Νομοθετικό Πλαίσιο για τις χρωστικές στα καλλυντικά προϊόντα	31
Κεφάλαιο 6	35
6.1 Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού Χρωστικών σε Καλλυντικά Προϊόντα.....	35
6.1.1 Προσδιορισμός Χρωστικών Ουσιών σε Προϊόντα Καλλυντικών	36
6.2 Μέθοδοι Προσδιορισμού Συνθετικών Χρωστικών σε Καλλυντικά Προϊόντα.....	37
6.2.1 Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography/LC)	37
6.2.2 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography/HPLC).....	38
6.2.3 Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography/GC)	41
6.2.4 Φασματομετρία Υπεριώδους – Ορατού (UV-Vis Spectroscopy).....	44
6.3 Εφαρμογές Μεθόδων Προσδιορισμού Χρωστικών	52
6.4 Εφαρμογές Μεθόδων Προσδιορισμού Οξειδωτικών Χρωστικών.....	67
6.5 Μέθοδοι Προσδιορισμού Ανόργανων Χρωστικών / Βαρέων Μετάλλων σε Καλλυντικά Προϊόντα.....	70
6.6 Εφαρμογές Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα (FAAS) για τον προσδιορισμό Ανόργανων Χρωστικών / Βαρέων Μετάλλων σε Καλλυντικά Προϊόντα ...	71
Κεφάλαιο 7	73
7.1 Συμπεράσματα	73
Βιβλιογραφία	78

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Εικόνα 1. Διάφορες καλλυντικοτεχνικές μορφές στις οποίες χρησιμοποιούνται χρωστικές	8
Εικόνα 2. Χημική δομή του α) Bixin, b) Norbixin	14
Εικόνα 3. Χημική δομή Β-καροτενίου	15
Εικόνα 4. Χημική δομή Χλωροφύλλης α	16
Εικόνα 5. Χημική δομή 2-υδροξυ-1,4-ναφθοκινόνης	16
Εικόνα 6. Χημική δομή Ερυθρού Κοχενίλης	17
Εικόνα 7. Χημική δομή Ταρτραζίνης (FD&C Yellow No5)	18
Εικόνα 8. Χημική δομή της (Α)ανοιχτής και (Β) κλειστής Ροδαμίνης Β.....	19
Εικόνα 9. Χημική δομή Κινολίνης D&C Yellow No 10	19
Εικόνα 10. Χημική δομή Ext. D&C Yellow No7 (CI 10316)	20
Εικόνα 11. Χημική δομή της Indigo Carmine (CI 73015)	21
Εικόνα 12. Χημική δομή FD&C Blue No1 (CI 42090).....	22
Εικόνα 13. 10 συνθετικές χρωστικές που χρησιμοποιούνται περισσότερο στα καλλυντικά προϊόντα.....	35
Εικόνα 14. HPLC Κανονικής Φάσης (επάνω) και Αντίστροφης Φάσης (κάτω).....	39
Εικόνα 15. Οργανολογία HPLC	41
Εικόνα 16. Διαδικασία Μικρό Διασποράς Μήτρας Στερεής Φάσης	57

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Ανόργανα Πιγμέντα τα οποία χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία	10
Πίνακας 2. Οργανικά Πιγμέντα τα οποία χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία	10
Πίνακας 3. Πίνακας των δημοφιλέστερων λάκων που χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία	11
Πίνακας 4. Οι περισσότερο μελετημένες ουσίες για την τοξικότητα τους σε καλλυντικά προϊόντα	29
Πίνακας 5. Επιτρεπόμενες Χρωστικές σε Καλλυντικά Προϊόντα	33
Πίνακας 6. Δεδομένα προσδιορισμού 5 χρωστικών σε ημι μόνιμες βαφές μαλλιών με την χρήση HPLC-DAD και LC-MS/MS	59
Πίνακας 7. Σύγκριση υπάρχοντων μεθόδων και τις μεθόδου των Ozkantar et al. για τον προσδιορισμό Ροδαμίνης Β σε καλλυντικά προϊόντα	64
Πίνακας 8. Όρια Ανίχνευσης και συγκεντρώσεις ($\mu\text{g g}^{-1}$) των προσδιοριζόμενων χρωστικών στα 3 εμπορικά δείγματα	69
Πίνακας 9. Βασικές μέθοδοι προσδιορισμού οργανικών, συνθετικών και οξειδωτικών χρωστικών	76
Πίνακας 10. Σύγκριση των 6 μεθόδων προσδιορισμού πολλαπλών χρωστικών με βάση βασικές παραμέτρους	76
Πίνακας 11. Σύγκριση των 5 μεθόδων προσδιορισμού συγκεκριμένων/απαγορευμένων χρωστικών με βάση βασικές παραμέτρους	77

Συντομογραφίες και Ακρωνύμια

GMP	Good Manufacturing Practise
FDA	Food & Drug Administration
EK	Ευρωπαϊκός Κανονισμός
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
UV	Ultra Violet
BB	Blemish Balm
UVA	Ultra Violet A
UVB	Ultra Violet B
UV-Vis	Ultra Violet Visible Spectroscopy
GC	Gas Chromatography
FCF	For Coloring Food
EMA	European Medicines Agency
E.E.	Ευρωπαϊκή Ένωση
INCI	International Nomenclature Cosmetic Ingredient
CI	Color Index
CPNP	Cosmetic Product Notification Portal
EC	European Commission
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare
NPMA	National Pest Management Association
TGA	Therapeutic Goods Administration
LC	Liquid Chromatography
PS – DVB	Polystyrene Divinylbenzene
MB	Μοριακό Βάρος
DAD	Diode Array Detector
MS	Mass Spectrometry
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
FID	Flame Ionization Detector
TCD	Thermal Conductivity Detector
ECD	Electron Capture Detector
PID	Photoionization Detector
FPD	Flame Photometric Detector
PMT	Photomultiplier Tube

LLE	Liquid Liquid Extraction
SLE	Solid Liquid Extraction
SPE	Solid Phase Extraction
MIP	Molecular Imprinted Polymer
SPME	Solid Phase Microextraction
PDMS	Polydimethylsiloxane
DVB	Divilbenzene
DI – SMPE	Direct Immersion Solid Phase Micro Extraction
HS – SMPE	Headspace Solid Phase Micro Extraction
MP – SMPE	Membrane Protected Solid Phase Micro Extraction
MSPD	Matrix Solid Phase Dispersion
LPME	Liquid Phase Micro Extraction
SDME	Single Drop Micro Extraction
TP – SDME	Three Phase Single Drop Micro Extraction
DI – SDME	Direct Immersion Single Drop Micro Extraction
HF – LPME	Hollow Fiber Liquid Phase Micro Extraction
DLLME	Dispersive Liquid Liquid Micro Extraction
AALLME	Air Assisted Liquid Liquid Micro Extraction
OS – AALLME	Organic Solvent Air Assisted Liquid Liquid Micro Extraction
DMF	Dimethylformamide
TBAH	Tetrabutylammonium Hydroxide
PTFE	Polytetrafluoroethylene
RSD	Relative Standard Deviation
EDTA	Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
[BMIM][NTF2]	1-Butyl-3-methylimidazolium BIS (Trifluoromethanesulfonyl) imide
LOD	Limit of Detection
LOQ	Limit of Quantification
[C10MIM][BF4]	1-Decyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate
[C8MIM][BF4]	1-Octyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate
[C6MIM][PF6]	1-Hexyl-3-methylimidazolium bis (trifluoromethylsulfonyl) imide
THF	Tetrahydrofuran
CPE	Cloud Point Extraction
VE	Vortex Extraction
UAE	Ultra Sound Extraction

AAS	Atomic Absorption Spectrometry
FAAS	Flame Atomic Absorption Spectrometry
ICP – MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
CVAAS	Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry
AFS	Atomic Fluorescence Spectrometry
ICP – OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry
XRF	X-Ray Fluorescence

Κεφάλαιο 1

1.1 Εισαγωγή

Η καθημερινή ζωή του σύγχρονου ανθρώπου συχνά φαντάζει παγιδευμένη μέσα στην ατέλειωτη επανάληψη του γκριζου αστικού τοπίου. Αυτή η αίσθηση της μονοτονίας οδηγεί σε μια φυσική ανάγκη για χρώμα και ζωντάνια, μια αναζήτηση που βρίσκει διέξοδο μέσα από τη χρήση καλλυντικών. Τα καλλυντικά, πέρα από την προσφορά αισθητικής φροντίδας, επιτρέπουν στον χρήστη να εκφράσει την προσωπικότητά του, να ενισχύσει τη φυσική του ομορφιά και να αποδώσει συναισθηματική έκφραση μέσω της εμφάνισής του. Από καθημερινά προϊόντα περιποίησης, όπως σαπούνια και κρέμες, έως το μακιγιάζ που αναδεικνύει τα χαρακτηριστικά του προσώπου, τα καλλυντικά αναδεικνύονται ως εργαλεία προσωπικής έκφρασης και αισθητικής ανάγκης.

Η εξέλιξη της καλλυντικής τεχνολογίας έχει οδηγήσει σε αυξημένες απαιτήσεις από τους καταναλωτές, οι οποίοι πλέον αναζητούν όχι μόνο τη λειτουργικότητα και την ευχαρίστηση από τη χρήση των προϊόντων, αλλά και άλλες αξίες. Στη σύγχρονη εποχή, το χρώμα έχει καταστεί ένα κρίσιμο στοιχείο που ενισχύει τα καλλυντικά, δίνοντάς τους αξία πέρα από την αισθητική, καθώς προσφέρει και συγκεκριμένες λειτουργικές δυνατότητες. Οι χρωστικές ουσίες, που χρησιμοποιούνται για να βελτιώσουν την ελκυστικότητα του προϊόντος, διαδραματίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στην ανάδειξη χαρακτηριστικών και στη δημιουργία επιθυμητών αισθητικών εφέ, όπως στο μακιγιάζ των χειλιών και των ματιών.

Η ανθρώπινη ανάγκη για χρώμα και την αντίστοιχη έκφρασή του έχει τις ρίζες της στην αρχαιότητα, όταν ο άνθρωπος στράφηκε στη φύση για να βρει χρωστικές ουσίες, κυρίως μέσα από φυτά και ζώα. Αυτές οι φυσικές χρωστικές χρησιμοποιούνται ακόμα και σήμερα, και η κληρονομιά τους συνεχίζεται στις σύγχρονες καλλυντικές συνθέσεις. Στην παρούσα εποχή, ωστόσο, η αυξανόμενη ζήτηση για καλλυντικά προϊόντα και η ανάγκη για ασφαλή και αποτελεσματική παραγωγή οδήγησαν στη θέσπιση αυστηρών κανονισμών, οι οποίοι διασφαλίζουν την ασφαλή χρήση των προϊόντων από τους τελικούς καταναλωτές.

Με την υπάρχουσα νομοθεσία και μέσω της εφαρμογής των καλών πρακτικών παραγωγής (GMP) εξασφαλίζεται η ποιότητα και η ασφάλεια των καλλυντικών, μειώνοντας έτσι την πιθανότητα κινδύνου για τον καταναλωτή. Ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο διαδραματίζει ο

αυστηρός ποιοτικός έλεγχος των πρώτων υλών που χρησιμοποιούνται ως χρωστικές στα καλλυντικά προϊόντα, ώστε να διασφαλίζεται ότι πληρούν τις προδιαγραφές που καθορίζονται από την ισχύουσα νομοθεσία. Ο έλεγχος αυτός διασφαλίζει την ασφάλεια του καταναλωτή, εμποδίζοντας την παρουσία αυξημένης συγκέντρωσης υφιστάμενων ή εν δυνάμει επικίνδυνων ουσιών.

Ορισμένες από αυτές χρησιμοποιούνται συνειδητά ως χρωστικές, ενώ άλλες, όπως τα βαρέα μέταλλα, μπορεί να εμφανιστούν ως αποτέλεσμα προσμίξεων πρώτων υλών αλλά και μέσω μετανάστευσης από τα σκεύη παραγωγής.

Ορισμένες χρωστικές ενέχουν κίνδυνο για την ανθρώπινη υγεία όταν η έκθεση σε αυτές υπερβαίνει ορισμένα όρια. Σύμφωνα με τη νομοθεσία, πολύ μικρές ποσότητες αυτών των χρωστικών θεωρούνται αμελητέες και δεν θέτουν σε άμεσο κίνδυνο τον τελικό χρήστη. Ωστόσο, καθορίζονται συγκεκριμένα όρια συγκέντρωσης, τα οποία δεν πρέπει να ξεπερνιούνται, ώστε τα καλλυντικά προϊόντα να θεωρούνται ασφαλή για χρήση από τους καταναλωτές.

Η παρούσα εργασία εξετάζει την ιστορία του χρώματος στην ανθρώπινη ζωή, εστιάζοντας στις διάφορες χρωστικές που χρησιμοποιούνταν στην αρχαιότητα αλλά και πλέον στις σύγχρονες εφαρμογές της βιομηχανίας καλλυντικών. Επίσης, αναφέρονται οι ουσίες που ενδέχεται να εντοπιστούν σε καλλυντικά προϊόντα, είτε ως ανεπιθύμητες προσμίξεις είτε ως συστατικά χρωστικών και οι μέθοδοι προσδιορισμού τους. Τέλος, παρουσιάζεται ο ισχύων κανονισμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης που αφορά τη χρήση χρωστικών και βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά, ο οποίος διασφαλίζει την ασφάλεια των προϊόντων που κυκλοφορούν στην αγορά.

Κεφάλαιο 2

2.1 Η εξελικτική πορεία των χρωμάτων

Το χρώμα είναι άρρηκτα συνδεδεμένο με την ανθρώπινη ζωή από την αρχή της ύπαρξής μας. Παντού γύρω μας, σε κάθε τι που παρατηρούμε, το χρώμα έχει έναν συγκεκριμένο ρόλο και σκοπό. Ακόμα και τα φυσικά τοπία, με την πληθώρα χρωμάτων τους, είναι διαμορφωμένα με τέτοιο τρόπο ώστε να υποστηρίζουν την επιβίωση των διάφορων ειδών.

Καθ' όλη την εξελικτική πορεία του ανθρώπου, το χρώμα έχει διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο σε πολλούς τομείς της ζωής του, όπως η θρησκεία, οι τελετές, οι παραδόσεις, αλλά και η έκφραση συναισθημάτων και μηνυμάτων, προσφέροντας ζωντάνια σε όλα όσα τον περιβάλλουν.

2.1.1 Προϊστορική εποχή

Από την προϊστορική εποχή, οι άνθρωποι χρησιμοποίησαν πρώτες ύλες από το περιβάλλον τους για να δημιουργήσουν χρώματα, τα οποία χρησιμοποίησαν για να απεικονίσουν σκηνές από την καθημερινότητά τους σε τοιχογραφίες, να διακοσμήσουν τις τελετές τους ή ακόμη και για να βάψουν το σώμα τους με σκοπό να μεταδώσουν κάποια έμμεση σημασία, όπως το να προσελκύσουν το αντίθετο φύλο ή να εκφράσουν επιθετικότητα. Παράδειγμα αποτελεί το σπήλαιο στην Λουσάκα της Ζάμπια, στο οποίο βρέθηκαν αρκετές χρωματισμένες, συνήθως με χρώμα της ώχρας (οξείδιο του σιδήρου), τοιχογραφίες καθώς και πάνω από 300 θραύσματα χρωστικών ουσιών (Power, 2004; BBC News, 2000).

2.1.2 Αρχαίοι Πολιτισμοί

Η χρήση χρωστικών στα καλλυντικά έχει τις ρίζες της στους αρχαίους πολιτισμούς. Στην Αρχαία Αίγυπτο, η χρήση του μακιγιάζ ήταν ευρέως διαδεδομένη και είχε τόσο αισθητική όσο και θρησκευτική σημασία. Οι Αιγύπτιοι χρησιμοποίησαν φυσικές χρωστικές για να δημιουργήσουν τις πρώτες μορφές μακιγιάζ. Χρησιμοποιούσαν, για παράδειγμα, το **κίτρινο ορείχαλκο** για το βάψιμο του προσώπου, το **μωβ μαργαρίτης** και το **χρυσό** για τη δημιουργία αξεσουάρ και μακιγιάζ, και **κάρβουνο** για το μαύρισμα των ματιών (eyeliner) (Cordua, 2000; Walter, 1999).

Οι αρχαίοι Έλληνες και Ρωμαίοι ακολούθησαν παρόμοιες πρακτικές, αν και η χρήση των καλλυντικών περιοριζόταν συχνά σε καλλιτεχνήματα και θεατρικές παραστάσεις. Παρόλαυτα οι γυναίκες του Ρωμαϊκού κράτους ήταν γνωστές για την υπερβολική χρήση λευκών και κόκκινων χρωμάτων στο πρόσωπό τους, χρησιμοποιώντας σκόνες και κερί (Adkins, 1998; Tsatsarou et al., 2023).

2.1.3 Μεσαίωνας και Αναγέννηση

Κατά τον Μεσαίωνα, η χρήση καλλυντικών περιορίστηκε αρκετά, κυρίως λόγω της επιρροής της Εκκλησίας, που απέτρεπε την υπερβολική ομορφιά και τον κοσμικό χαρακτήρα του μακιγιάζ. Ωστόσο, η χρήση της **λευκής σκόνης** για το άσπρισμα του προσώπου ήταν δημοφιλής μεταξύ των ευγενών, και πολλές γυναίκες χρησιμοποιούσαν επικίνδυνες ουσίες όπως το **υδραργυρικό λευκό** για να επιτύχουν μια εξαιρετικά λευκή επιδερμίδα.

Η Αναγέννηση σηματοδότησε μια αλλαγή στη χρήση των καλλυντικών, με τις γυναίκες να επαναφέρουν τη χρήση χρωστικών για να τονίσουν τα χαρακτηριστικά τους. Για παράδειγμα, το **κόκκινο κραγιόν** και οι **πορφυρές χρωστικές** έγιναν δημοφιλή και χρησιμοποιούνταν για τα χείλη και τα μάτια (Medievalists, n.d).

2.1.4 18ος και 19ος Αιώνας

Κατά τον 18ο αιώνα, τα καλλυντικά έγιναν περισσότερο προσβάσιμα εμπορικά. Οι χρωστικές και οι βαφές για το πρόσωπο και τα χείλη έγιναν ευρύτερα διαθέσιμες και άρχισαν να παράγονται σε εμπορική κλίμακα. Τα καλλυντικά συχνά περιλάμβαναν επικίνδυνες χημικές ουσίες, όπως ο **μόλυβδος** και ο **υδράργυρος**, που χρησιμοποιούνταν για να δημιουργήσουν λευκές και κόκκινες αποχρώσεις.

Κατά τον 19ο αιώνα, με την ανάπτυξη της χημείας και της τεχνολογίας, ξεκίνησαν οι πρώτες βιομηχανικές παραγωγές καλλυντικών, και οι χρωστικές άρχισαν να παράγονται με ασφαλέστερες μεθόδους. Οι βιομηχανίες άρχισαν να χρησιμοποιούν φυσικές και συνθετικές χρωστικές ουσίες, αν και πολλές από αυτές παρέμεναν ακόμα επικίνδυνες (Turner, 2023).

2.1.5 20ός Αιώνας: Επιστημονική Εξέλιξη και Κανονισμοί

Στον 20ό αιώνα, η βιομηχανία καλλυντικών γνώρισε τεράστια ανάπτυξη, και οι χρωστικές ουσίες εξελίχθηκαν σημαντικά. Η παραγωγή ασφαλών, συνθετικών χρωστικών εξελίχθηκε, με τη χρήση οργανικών και ανόργανων ενώσεων για την παραγωγή φυσικών και έντονων χρωμάτων.

Οι καλλυντικές εταιρείες άρχισαν να υιοθετούν αυστηρότερους κανονισμούς και έρευνες για την ασφάλεια των χρωστικών. Στη δεκαετία του 1930, ο οργανισμός **FDA** (η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων) ξεκίνησε να ελέγχει τη χρήση των χρωστικών στα καλλυντικά, απαγορεύοντας την κυκλοφορία κάποιων επικίνδυνων χημικών ουσιών, όπως ο μόλυβδος και άλλες τοξικές ενώσεις.

Από τη δεκαετία του 1950 και μετά, άρχισαν να εμφανίζονται νέες, ασφαλείς συνθετικές χρωστικές. Οι πρώτες σύγχρονες χρωστικές που χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά προήλθαν από την ανάπτυξη της οργανικής χημείας και τη δυνατότητα να παράγονται χρωστικές που ήταν πιο σταθερές και ασφαλείς για τον άνθρωπο (Barrows et al., 2003).

2.1.6 Σύγχρονη Εποχή: Βιωσιμότητα και Φυσικά Συστατικά

Στη σύγχρονη εποχή, η βιομηχανία καλλυντικών συνεχώς εξελίσσεται, με έμφαση στην ασφάλεια, τη βιωσιμότητα και τη φυσικότητα των συστατικών. Υπάρχει έντονη τάση για τη χρήση **οργανικών και φυσικών χρωστικών**, προερχόμενων από φυτά, όπως η **ανθρακή** από την **Aloe Vera**, τα **κοκτέιλ φρούτων** ή τα **βότανα** για την παραγωγή καλλυντικών προϊόντων.

Πολλές εταιρείες επικεντρώνονται στην ανάπτυξη χρωστικών που να είναι ασφαλείς για το δέρμα και το περιβάλλον, αποφεύγοντας επικίνδυνες χημικές ουσίες, όπως τα **parabens** και άλλες συνθετικές ενώσεις.

Η σύγχρονη έρευνα επικεντρώνεται επίσης στη δημιουργία πιο βιώσιμων και μη τοξικών χρωστικών, χρησιμοποιώντας **φυσικές πηγές** και συνθετικά μοριακά μοντέλα για τη δημιουργία προϊόντων που να μην είναι μόνο αποτελεσματικά, αλλά και περιβαλλοντικά φιλικά.

2.2 Εφαρμογή χρωστικών στα καλλυντικά προϊόντα

Οι χρωστικές στα καλλυντικά χρησιμοποιούνται προκειμένου να προσφέρουν αισθητική βελτίωση, να καλύψουν ατέλειες, να ενισχύσουν τα χαρακτηριστικά και να εκφράσουν το προσωπικό στυλ του κάθε ανθρώπου ενώ παράλληλα εξυπηρετούν την αναγνώριση του προϊόντος, μέχρι τη βελτίωση της υφής και της σύνθεσης του. Οι χρωστικές καθιστούν το προϊόν πιο ελκυστικό, λειτουργικό και προσαρμοσμένο στις ανάγκες του καταναλωτή.

2.2.1 Μορφές Καλλυντικών που περιλαμβάνουν χρωστικές

Ο χρωματισμός των καλλυντικών είναι συχνά απαραίτητος για να βελτιώσει την εμφάνιση, να βοηθήσει στη χρήση του προϊόντος και να το κάνει πιο ελκυστικό. Χρησιμοποιείται σε πολλές μορφές καλλυντικών, είτε για να τονίσει και να καλύψει ατέλειες, είτε για αισθητικούς και λειτουργικούς σκοπούς.

1)Χρωματισμός του καλλυντικού

Προϊόντα Μακιγιάζ

- i) Ρουζ
- ii) Σκιές Ματιών
- iii) Κραγιόν
- iv) Μάσκαρα
- v) Foundation
- vi) Concealer

Προϊόντα Περιποίησης Δέρματος

- i) Κρέμες Προσώπου και Σώματος
- ii) Σαμπούνια και Shower Gels

Προϊόντα για την περιοχή των νυχιών

- i) Βερνίκια Νυχιών
- ii) Top Coats και Base Coats

Προϊόντα για την περιοχή των μαλλιών

- i) Χρώματα Μαλλιών (Hair Dyes)

- ii) Σαμπουάν και Μαλακτικά

Αρωματικά Καλλυντικά Προϊόντα

- i) Αρωματικά Σπρέι και Αντιδρωτικά

Προϊόντα για την περιοχή του σώματος

- i) Λοσιόν και Βούτυρα Σώματος
- ii) Αυτομαυριστικά

Καλλυντικά Προϊόντα Προστασίας Από τον Ήλιο

- i) Κρέμες Αντηλιακής Προστασίας (Sunscreens)

2) Χρωματισμός της περιοχής στην οποία εφαρμόζεται

Προϊόντα Μακιγιάζ (Makeup)

- i) Κραγιόν
- ii) Σκιές Ματιών
- iii) Ρουζ
- iv) Foundation
- v) Concealer
- vi) Μάσκαρα

Προϊόντα για την περιοχή των μαλλιών

- i) Χρώματα Μαλλιών (Hair Dyes)
- ii) Σαμπουάν Χρωματισμού

Αυτομαυριστικά (Self-Tanners)

- i) Αυτομαυριστικές Κρέμες ή Λοσιόν

Προϊόντα για την περιοχή των νυχιών

- i) Βερνίκια Νυχιών

Προϊόντα για την περιοχή του σώματος

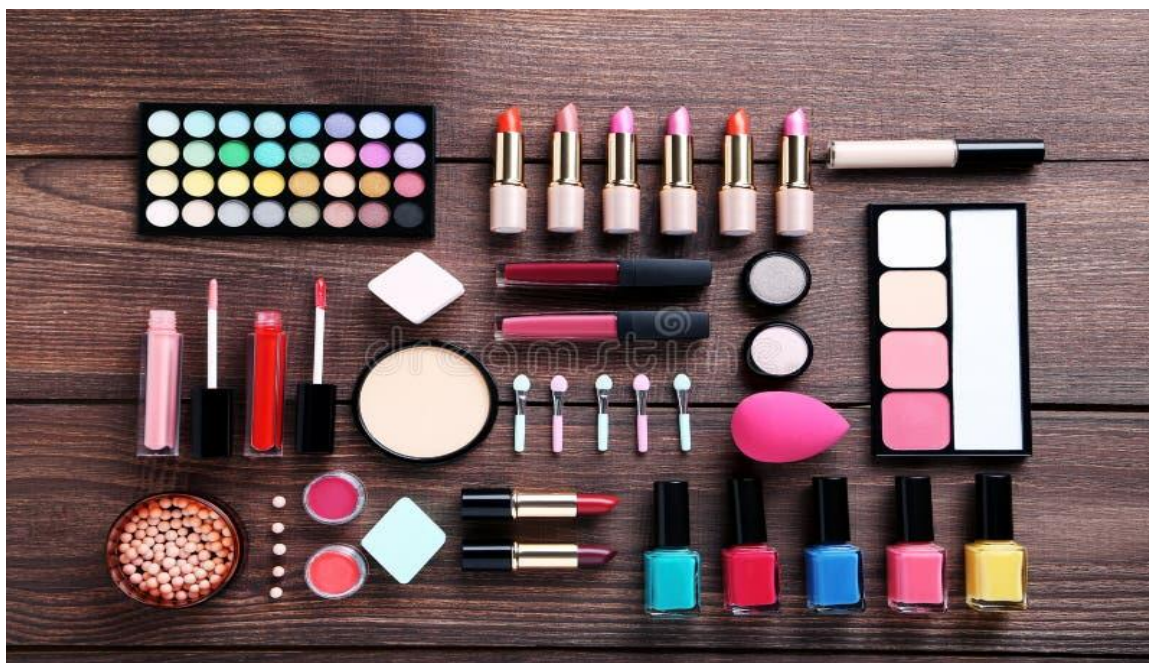
- i) Λοσιόν και Κρέμες Χρωματισμού

Προϊόντα για την περιοχή του προσώπου

- i) Highlighters
- ii) Μάσκες Προσώπου
- iii) Scub Προσώπου

Καλλυντικά για το σώμα

- i) Αρωματικά Σπρέι και Λοσιόν Χρωματισμού
- ii) Scrub Σώματος



Εικόνα 1. Διάφορες καλλυντικοτεχνικές μορφές στις οποίες χρησιμοποιούνται χρωστικές

Κεφάλαιο 3

3.1 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η χρήση χρωστικών ουσιών στα καλλυντικά προϊόντα στοχεύει 1) στην λειτουργικότητα του προϊόντος μέσω της απόδοσης χρώματος στην περιοχή στην οποία εφαρμόζονται π.χ. ρουζ, σκιές ματιών, κραγιόν κ.α. και 2) στην βελτίωση της εμφάνισης του προϊόντος προκειμένου να γίνει πιο ελκυστικό προς τον καταναλωτή. Οι χρωστικές ουσίες διακρίνονται σε 3 κατηγορίες : α) Κατηγορίες με βάση την διαλυτότητα, β) Κατηγορίες με βάση την Νομοθεσία (Καταλληλότητα Χρήσης), γ) Κατηγορίες με βάση την Χημική Σύσταση (Saek-artas, n.d).

3.2 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών βάσει Διαλυτότητας

3.2.1 Πιγμέντα (Pigments)

Με τον όρο πιγμέντα ονομάζονται οι χημικές ουσίες οι οποίες παραμένουν αδιάλυτες στο μέσο στο οποίο διασπείρονται. Μπορεί να είναι λευκές ή έγχρωμες αλλά και οργανικές ή ανόργανες. Ανάλογα με το μέσο στο οποίο διασπείρονται χωρίζονται σε 3 κατηγορίες: 1) Πιγμέντο για το νερό, όταν παραμένουν αδιάλυτα στο νερό ως διαλύτη, 2) πιγμέντο για το λάδι όταν παραμένουν αδιάλυτα σε ελαιώδη διαλύτη και 3) πιγμέντο για το νερό και το λάδι, όταν δεν διαλύονται σε κανένα από τα δύο μέσα και ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται σταθεροποιητές προκειμένου να διασπαρεί το πιγμέντο ομοιόμορφα. Παρακάτω παρουσιάζονται 2 αναλυτικοί πίνακες των ανόργανων και οργανικών πιγμένων που χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά προϊόντα (Saek-artas, n.d; Τσιρίβας και συν., 2013).

Ανόργανα Πιγμέντα		
Ονομασία	Χρώμα	Εφαρμογή
Διοξείδιο του Τιτανίου	Λευκό	Αντηλιακές κρέμες, foundation, πούδρες, σκιές ματιών
Οξείδιο του Σιδήρου	Κόκκινο, Κίτρινο, Καφέ, Πορτοκαλί	Ρουζ, σκιές ματιών, foundation, κραγιόν
Οξείδιο του Ψευδαργύρου	Λευκό	Αντηλιακές κρέμες, foundation, πούδρες

Θεϊκό Βάριο	Λευκό	Πούδρες, foundation, σκιές ματιών
Οξείδιο του Χρωμίου	Πράσινο	Πούδρες, σκιές ματιών
Οξείδιο του Μαγγανίου	Μωβ	Ρουζ, σκιές ματιών
Οξείδιο του Κοβαλτίου	Μπλε	Σκιές ματιών
Οξείδιο του Αλουμινίου	Λευκό	Σκιές ματιών, Ρουζ, Πούδρες
Κιτρικό Ασβέστιο	Λευκό	Πούδρες, Foundation, Σκιές Ματιών
Mica	Διαφανής, Χρυσό, Ροζ, Ασημί, Μπρονζέ	Σκιές Ματιών, Ρουζ, Πούδρες
Χαλκός	Χάλκινο	Σκιές Ματιών, Κραγιόν
Κινναμάτη	Ροζ	Ρουζ, Κραγιόν
Οξυχλωριούχο Βισμούθιο	Λευκό με ιριδίζοντες τόνους	Πούδρες, Ρουζ, Foundation, Σκιές Ματιών

**Δεν αναγράφονται τα Οξείδιο του Καλίου, Μικροκρυσταλλική Κυτταρίνη και Πυριτικό
Ασβέστιο, καθώς χρησιμοποιούνται ως σταθεροποιητές και πληρωτικά μέσα.*

Πίνακας 1. Ανόργανα Πιγμέντα τα οποία χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία

Οργανικά Πιγμέντα		
Ονομασία	Χρώμα	Εφαρμογή
Καρμίνιο	Κόκκινο	Κραγιόν, Ρουζ, Σκιές Ματιών
Βενζανθρόνη	Πορτοκαλί	Κραγιόν, Ρουζ, Βερνίκια νυχιών
Ταρτραζίνη	Κίτρινο	Σκιές Ματιών, Ρουζ, Foundation
Χλωροφύλλη	Πράσινο	Σκιές Ματιών, Ρουζ
Ίντιγκο	Μπλε	Σκιές Ματιών, Ρουζ
Ανθοκυανίνη	Μωβ-Βιολετί	Ρουζ, Κραγιόν Σκιές Ματιών
Πιγμέντα Καδμίου	Κίτρινο	Σκιές Ματιών, Ρουζ
Άνθρακας	Μαύρο	Σκιές Ματιών, Eyeliner
Μπετανίνη	Κόκκινο-Κίτρινο	Κραγιόν, Ρουζ

Πίνακας 2. Οργανικά Πιγμέντα τα οποία χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία

3.2.2 Λάκες (Lacquer)

Λάκες ονομάζονται τα φυσικά ή συνθετικά άλατα πιστοποιημένων χρωστικών, συνήθως K, Na, Ca, Ba και Al τα οποία προσροφώνται σε υπόστρωμα Διοξειδίου του Τιτανίου, Αλουμίνας, Οξειδίου του Ψευδαργύρου κ.α. προκειμένου να επιτευχθεί σταθεροποίηση του χρώματος. Οι λάκες παραμένουν αδιάλυτες στα έλαια και στο νερό ή σε οποιοδήποτε διαλύτη και σε αυτό ξεχωρίζουν από τα πιγμέντα. Οι λάκες οι οποίες χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά προϊόντα περιέχουν συνήθως υψηλό ποσοστό χρωστικής, 20-50 % του συνολικού βάρους της λάκας, και γι αυτό μπορούν να προσφέρουν πιο έντονη απόδοση χρώματος. Ως ενώσεις προσφέρουν υψηλή σταθερότητα έναντι του φωτός και της θέρμανσης γι αυτό είναι λιγότερο πιθανό να αλλοιωθούν ή να αλλοιώσουν το προϊόν κατά την αποθήκευση ή την χρήση. Χρησιμοποιούνται σε προϊόντα καλλωπισμού όπως κραγιόν, ρουζ, σκιές ματιών και βερνίκια νυχιών. Παρακάτω παρουσιάζεται πίνακας με κάποιες από τις πιο κοινές λάκες που χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα (Saek-artas, n.d; Τσιρίβας και συν., 2013).

Ονομασία	Colour Index (CI)	Εφαρμογή
FD&C Red 6	CI 77491	Περιοχή ματιών, χειλιών
FD&C Violet No. 2	CI 77742	Σκιές Ματιών, Ρουζ
FD&C Yellow No.5	CI 19140	Περιοχές χειλιών, ματιών
FD&C Blue No.1	CI 42090	Σκιές ματιών, βερνίκια νυχιών
D&C Red No.30	CI 73360	Make up
D&C Red No.28	CI 45410	Make up, περιοχή μαλλιών

Πίνακας 3. Πίνακας των δημοφιλέστερων λάκων που χρησιμοποιούνται στην Κοσμητολογία

3.2.3 Χρωστικές (Dyes)

Με τον όρο χρωστικές ουσίες ονομάζονται οι χημικές ενώσεις οι οποίες είναι διαλυτές στο μέσο στο οποίο διασπείρονται, είτε αυτό είναι έλαιο (λιποδιαλυτές), νερό (υδατοδιαλυτές), είτε οποιοσδήποτε άλλος οργανικός διαλύτης. Χρησιμοποιούνται συνήθως σε προϊόντα μαλλιών (βαφές), σε βερνίκια νυχιών αλλά και σε προϊόντα καλλωπισμού προκειμένου να δώσουν

χρώμα στα χείλη ή να προσδώσουν εφέ χρώματος και λάμψης στην περιοχή του προσώπου (Saek-artas, n.d; Τσιρίβας και συν., 2013).

3.3 Κατηγορίες Χρωστικών ουσιών βάσει Νομοθεσίας

Βάσει Νομοθεσίας, σύμφωνα με τον Κανονισμό 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και ειδικότερα στο παράρτημα IV, αναφέρονται και οι 153 χρωστικές ουσίες, οι οποίες επιτρέπονται να χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα. Ο κατάλογος περιλαμβάνει :

- Την χημική ονομασία της ένωσης
- Τον Δείκτη Χρώματος (Color Index)
- Τον χρωματισμό
- Το είδος προϊόντος / πεδίο εφαρμογής

Παρόλαυτα, το παράρτημα IV του 1223/2009 Ευρωπαϊκού Κανονισμού δεν προσδιορίζει τα όρια προσμίξεων για διάφορες χρωστικές και παραπέμπει στην οδηγία 95/45/EK για την θέσπιση πιο ειδικών κριτηρίων καθαρότητας των χρωστικών ουσιών, οι οποίες χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα.

Σύμφωνα με την Νομοθεσία του Αμερικανικού Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA), οι χρωστικές ουσίες που επιτρέπονται να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά, φάρμακα και τρόφιμα κατατάσσονται σε 3 κατηγορίες:

1. **FD&C χρώματα** : Χρώματα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά, φάρμακα και τρόφιμα
2. **D&C χρώματα**: Χρώματα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά και φάρμακα αλλά δεν επιτρέπεται η χρήση τους σε προϊόντα τροφίμων
3. **Ext. D&C χρώματα** : Χρώματα τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά και φάρμακα αλλά προορίζονται μόνο για εξωτερική χρήση και δεν έρχονται σε επαφή με τους βλεννογόνους.

Στις Η.Π.Α δεν είναι επιτρεπτή η χρήση καμίας χρωστικής εκ των τριών κατηγοριών στην περιοχή των ματιών σε αντίθεση με την Ευρωπαϊκή Ένωση η οποία επιτρέπει περιορισμένο αριθμό χρωστικών για χρήση στην περιοχή αυτή.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία οι χρωστικές οι οποίες δύναται να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικά προϊόντα θα πρέπει να πληρούν τα εξής χαρακτηριστικά:

- i. Σταθερότητα κατά την έκθεση τους στο φως του ήλιου
- ii. Μη διάχυση της χρωστικής στο δέρμα
- iii. Συμβατότητα της εκάστοτε χρωστικής με τα υπόλοιπα υλικά του προϊόντος
- iv. Ομοιόμορφα διασκορπισμένη χρωστική στο τελικό προϊόν
- v. Μέσα από τεκμηριωμένες μελέτες, θα πρέπει να εξασφαλίζεται η μη αλλεργιογόνος δράση της χρωστικής (Saek-artas, n.d; Μπογιαντζής, Επιστήμη Υλικών II; European Union, 2009).

3.4 Κατηγορίες Χρωστικών Ουσιών βάσει Χημικής Σύνθεσης

Οι χρωστικές ουσίες βάσει της χημικής τους σύστασης διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, τις οργανικές και τις ανόργανες.

3.4.1 Οργανικές Χρωστικές

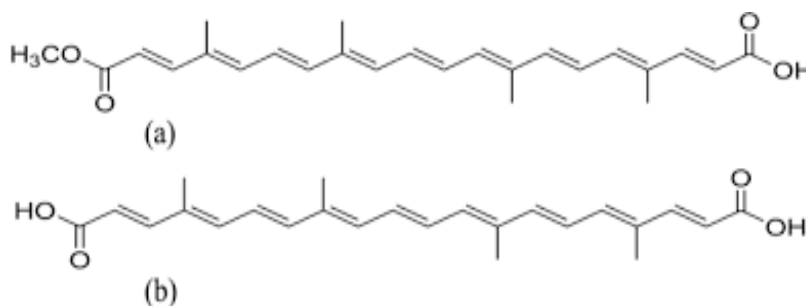
Ως οργανικές χαρακτηρίζονται οι χρωστικές ουσίες οι οποίες περιλαμβάνουν ενώσεις με βάση τον άνθρακα. Οι συγκεκριμένες χρωστικές μπορούν να χωριστούν και σε 2 άλλες υποκατηγορίες με βάση την πηγή προέλευσης τους, τις φυσικές και τις συνθετικές (Saek-artas, n.d).

Φυσικές Χρωστικές

Ως φυσικές χρωστικές χαρακτηρίζονται οι χρωστικές ουσίες οι οποίες έχουν ως βάση προέλευσης την φύση, τα ζώα και τα ορυκτά πετρώματα. Η τάση προς την χρήση πιο φυσικών προϊόντων, έχει ενισχυθεί τα τελευταία χρόνια, με αποτέλεσμα την αυξανόμενη δημοτικότητα των φυσικών χρωστικών σε προϊόντα ομορφιάς και περιποίησης. Παρόλο που χαρακτηρίζονται από ευαισθησία έναντι του φωτός, της θέρμανσης, των αλλαγών του pH αλλά και από υψηλό κόστος τα τελευταία χρόνια προτιμώνται κυρίως λόγω της μειωμένης πιθανότητας τους να προκαλέσουν ερεθισμούς ή αλλεργικές αντιδράσεις αλλά και λόγω των αντιοξειδωτικών ιδιοτήτων τους. Παρακάτω παρατίθενται οι κυριότερες και οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες φυσικές χρωστικές.

Αννάτο

Το Αννάτο είναι μία φυσική χρωστική η οποία προέρχεται από τους σπόρους του φυτού *Bixa Orellana*, το οποίο καλλιεργείται σε τροπικές περιοχές, κυρίως σε Λατινική Αμερική, Ασία και Αφρική. Οι σπόροι του φυτού περιέχουν τα καροτενοειδή Bixin και Norbixin τα οποία είναι υπεύθυνα για το κίτρινο έως πορτοκαλί χρώμα της χρωστικής. Καθώς το Bixin χαρακτηρίζεται ως λιποδιαλυτό ενώ το Norbixin ως υδατοδιαλυτό, χρησιμοποιείται για την απομόνωση τους εκχύλιση σε ελαιώδη διαλύτη και εκχύλιση σε υδατικό διαλύτη αντίστοιχα. Το αννάτο δεν προκαλεί συχνά ερεθισμούς ή αλλεργικές αντιδράσεις αλλά χαρακτηρίζεται από μειωμένη σταθερότητα όταν εκτίθεται στο φως ή σε θερμότητα (Smith, 2006; Gupta, 1997).

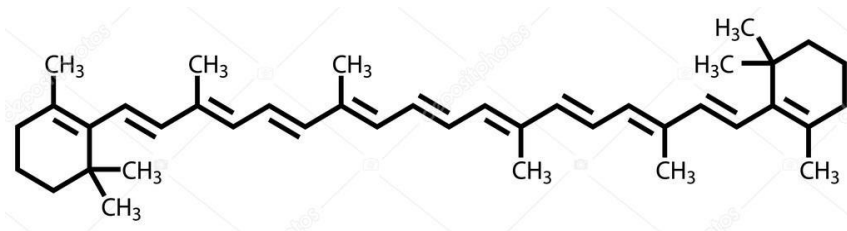


Εικόνα 2. Χημική δομή του a) Bixin, b) Norbixin

Καροτένιο

Το β-καροτένιο είναι μία φυσική χρωστική η οποία ανήκει, και αυτή, στην οικογένεια καροτενοειδών, και είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό κίτρινο, πορτοκαλί και κόκκινο χρώμα πολλών φρούτων και λαχανικών. Παραμένει αδιάλυτη σε υδατικό διαλύτη και ελάχιστα διαλυτή σε ελαιώδεις διαλύτες, ενώ χαρακτηρίζεται από ευαισθησία στο φως, το οξυγόνο, και τα αλκάλια. Τις πιο διαδεδομένες πηγές β-καροτενίου αποτελούν το καρότο και το πορτοκάλι, ενώ μπορεί επίσης να ληφθεί από γλυκοπατάτες, σπανάκι, πιπεριές, κολοκύθια, μάνγκο και πεπόνι. Προκειμένου να διασφαλιστούν η ποιότητα και η καθαρότητα του β-καροτενίου στα καλλυντικά προϊόντα, χρησιμοποιείται η μέθοδος Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC), προς απομόνωση της χρωστικής από άλλα καροτενοειδή τα οποία περιέχονται στα φρούτα και λαχανικά, όπως το λυκοπένιο και το α-καροτένιο. Εκτός από τον χρωματισμό του υλικού, το β-καροτένιο προσφέρει ισχυρή αντιοξειδωτική δράση καθώς συμβάλει στην προστασία του δέρματος από τις βλαβερές συνέπειες των ελεύθερων ριζών που σχετίζονται με

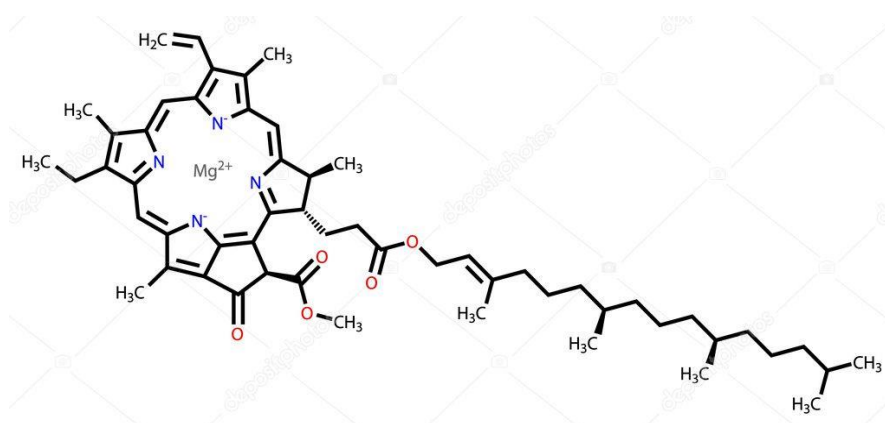
την γήρανση του δέρματος και την εμφάνιση ρυτίδων. Επιπλέον το β-καροτένιο μπορεί να προσφέρει μία στοιχειώδη προστασία στο δέρμα έναντι των UV ακτίνων του ηλίου γι αυτό πολλές φορές χρησιμοποιείται σε αντιηλιακά προϊόντα (Τσιρίβας και συν., 2013; Rüegg, 1984).



Εικόνα 3. Χημική δομή Β-καροτενίου

Χλωροφύλλη

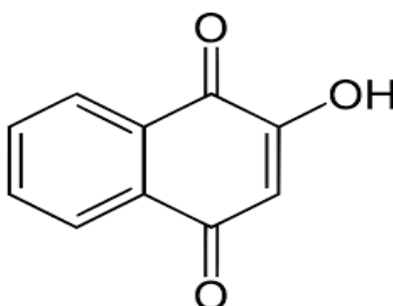
Η Χλωροφύλλη είναι η κύρια χρωστική ουσία που βρίσκεται στα φυτά και είναι υπεύθυνη για το χαρακτηριστικό τους πράσινο χρώμα. Κύρια διεργασία της αποτελεί η απορρόφηση φωτός προκειμένου να επιτελεστεί η λειτουργία της φωτοσύνθεσης. Η χλωροφύλλη χαρακτηρίζεται ως ελαιοδιαλυτή ενώ παραμένει αδιάλυτη σε υδατικούς διαλύτες. Οι πιο διαδεδομένες πηγές της χρωστικής είναι το σπανάκι, το πράσινο τσάι, τα φύλλα βασιλικού και τα φύλλα μέντας. Η Χλωροφύλλη απαντάται σε 4 κατηγορίες, την χλωροφύλλη α, την χλωροφύλλη β, την χλωροφύλλη γ και την χλωροφύλλη δ. Από τις 4 κατηγορίες στα καλλυντικά προϊόντα χρησιμοποιούνται συνήθως οι χλωροφύλλες α και β λόγω του πιο έντονου πράσινου χρώματος το οποίο αποδίδουν. Πέραν του χρώματος η χλωροφύλλη, λόγω των αντιοξειδωτικών και καταπραϋντικών ιδιοτήτων της, χρησιμοποιείται και σε ενθυλακωμένη μορφή (encapsulated) υπό της μορφή συμπλόκου χλωροφύλλης α -χαλκού ή χλωροφύλλης α-μαγνησίου. Ειδικά το σύμπλοκο χλωροφύλλης-χαλκού προσφέρει υψηλή σταθερότητα και διαλυτότητα της χλωροφύλλης στο τελικό προϊόν (Gross, 1991; Larkum, 2003).



Εικόνα 4. Χημική δομή Χλωροφύλλης α

Χέννα

Η Χέννα αποτελεί χρωστική η οποία προέρχεται από τα φύλλα του φυτού με την ίδια ονομασία ή αλλιώς Lawsonia Inermis. Αποτελεί ελαιοδιαλυτή χρωστική και ελάχιστα διαλυτή σε υδατικούς διαλύτες για αυτό και στα καλλυντικά προϊόντα χρησιμοποιείται κυρίως σε φόρμουλες που περιέχουν έλαια ή λιπαρές βάσεις όπως μάσκες μαλλιών και βαφές. Η χημική ένωση η οποία είναι υπεύθυνη για την χαρακτηριστική πορτοκαλοκόκκινη απόχρωση που προσδίδει στα μαλλιά, το δέρμα και τα νύχια είναι η 2 - υδροξύ - 1,4 - ναφθοκινόνη. Η ένωση αυτή είναι γνωστή με την ονομασία Lawson και αποτελεί την κύρια δραστική χρωστική που εξάγεται από τα φύλλα του φυτού Lawsonia Inermis (Τσιρίβας και συν., 2013; Ebrahimi, 2016; Alam, 2007).

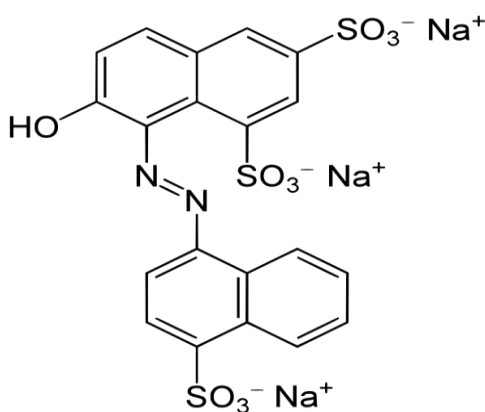


Εικόνα 5. Χημική δομή 2-υδροξύ-1,4-ναφθοκινόνης

Κοχενίλη

Η Κοχενίλη αποτελεί μία φυσική χρωστική η οποία προέρχεται από τα αποξηραμένα έντομα Dactylopius Coccu, τα οποία ανήκουν στην οικογένεια των κοχενιλιδών. Η κύρια δραστική χρωστική ένωση που περιέχεται στην κοχενίλη είναι το καρμίνιο το οποίο είναι υπεύθυνο για

την έντονη κόκκινη απόχρωση της χρωστικής. Το καρμίνιο αποτελεί αντιοξειδωτικό και αντιβακτηριδιακό συστατικό που προσδίδει τη χαρακτηριστική κόκκινη ή συνήθως ροζ απόχρωση στα καλλυντικά προϊόντα. Η χρωστική της κοχενίλης χαρακτηρίζεται από υψηλή σταθερότητα, ανθεκτικότητα έναντι της οξείδωσης και της θερμότητας και δεν αποχρωματίζεται εύκολα. Χρησιμοποιείται για να προσδώσει ροζ απόχρωση σε στερεούς και υγρούς σάπωνες, αλλά και σε προϊόντα καλλωπισμού όπως ρουζ, κραγιόν και σκιές ματιών. Χρησιμοποιείται προσεκτικά και σε μικρές συγκεντρώσεις καθώς ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμούς ή αλλεργικές αντιδράσεις σε άτομα με ευαίσθητο δέρμα (Τσιρίβας και συν., 2013; Lloyd, 1980; Miller, 2022).



Εικόνα 6. Χημική δομή Ερυθρού Κοχενίλης

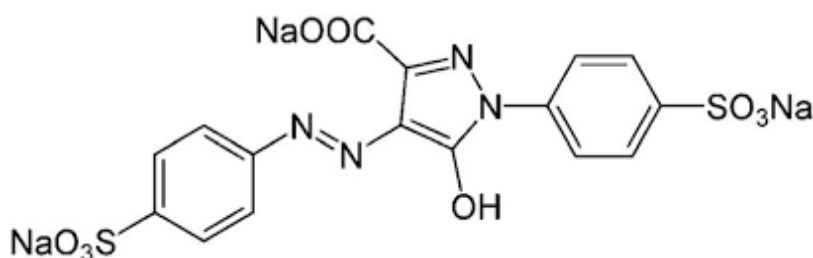
Συνθετικές Χρωστικές

Ως συνθετικές χρωστικές χαρακτηρίζονται οι φυσικές οργανικές χρωστικές ουσίες οι οποίες έχουν πιστοποιημένες προδιαγραφές σύμφωνα με την νομοθεσία του Αμερικανικού Οργανισμού Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA).

Αζωχρώματα (Azo Dyes)

Τα **αζωχρώματα** είναι μια κατηγορία συνθετικών χρωστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται ευρέως σε καλλυντικά προϊόντα, τρόφιμα, φάρμακα και άλλα καταναλωτικά αγαθά. Η χημική τους δομή περιλαμβάνει την ομάδα $-N=N-$, γνωστή ως **αζωομάδα**, της οποίας η αλληλεπίδραση με έναν ή δύο αρωματικούς δακτυλίους αποδίδει έντονα και εκτυφλωτικά χρώματα. Τα αζωχρώματα είναι δημοφιλή στα καλλυντικά γιατί προσφέρουν ζωντανά και σταθερά χρώματα σε προϊόντα όπως κραγιόν, σκιές ματιών, ρουζ, βερνίκια νυχιών και πολλά άλλα. Τα αζωχρώματα διακρίνονται ως ιδιαίτερα σταθερά έναντι του φωτός και της θερμότητας. Ανάλογα με την διαλυτότητα τους διακρίνονται σε Σουλφωμένα και μη

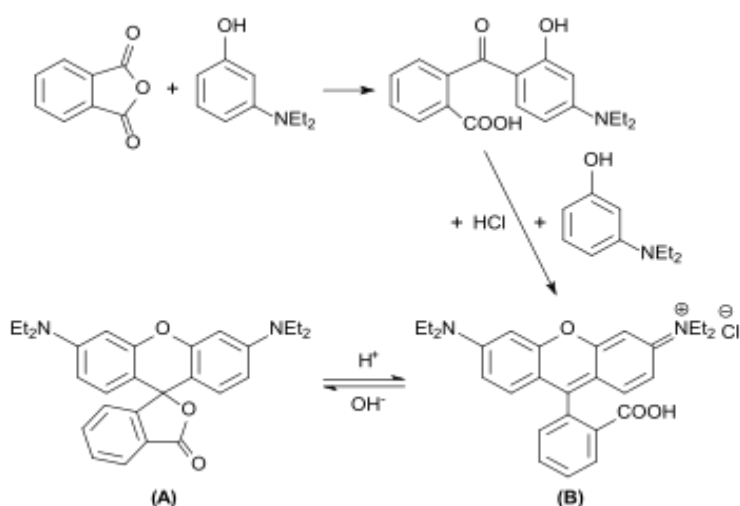
Σουλφωμένα. Τα Σουλφωμένα Αζωχρώματα περιέχουν τουλάχιστον μία ομάδα $-SO_3H$ η οποία τα καθιστά υδατοδιαλυτά και ως εκ τούτου χρησιμοποιούνται ευρέως σε προϊόντα τα οποία απαιτούν καλή διαλυτότητα και έντονα χρώματα όπως, σκιές ματιών και ρουζ. Από την άλλη τα μη Σουλφωμένα Αζωχρώματα δεν περιέχουν καθόλου ομάδες $-SO_3H$ τα οποία τα καθιστά λιποδιαλυτά και γι αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται κυρίως σε στερεά προϊόντα ή προϊόντα τα οποία απαιτούν λιγότερη διαλυτότητα όπως κραγιόν και βερνίκια νυχιών (Τσιρίβας και συν., 2013; Benkhaya et al., 2020; Britannica, n.d).



Εικόνα 7. Χημική δομή Ταρτραζίνης (FD&C Yellow No5)

Ξανθένιο

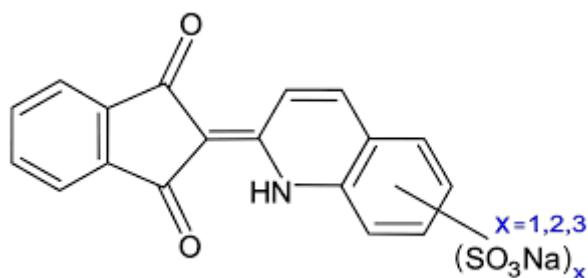
Τα χρώματα ξανθενίου αποτελούν μία κατηγορία χρωστικών ουσιών που έχουν ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό: δημιουργούν έντονα, φωτεινά χρώματα κυρίως σε αποχρώσεις κίτρινου, πράσινο, ροζ και κόκκινου. Τα χρώματα ξανθενίου παράγονται μέσω αντίδρασης φαινόλης με φθαλικό ανυδρίτη. Αποτέλεσμα αυτής της αντίδρασης είναι η δημιουργία παραγώγων φλουορεσκεΐνης όπως η Εωσίνη, η Ροδαμίνη, η Ξανθίνη κ.α. Το πιο δημοφιλές παράγωγο και αυτό το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως σε καλλυντικά προϊόντα είναι η Ροδαμίνη Β, η οποία απαντάται σε δύο μορφές, την ανοιχτή και την κλειστή. Η ανοιχτή κυριαρχεί συνήθως σε καταστάσεις όξινου περιβάλλοντος ενώ η κλειστή σε αλκαλικό περιβάλλον. Ως χρωστική μπορεί να δώσει εξαιρετικά ζωντανά χρώματα. Μέχρι πρότινος χρησιμοποιούνταν κυρίως σε προϊόντα για χείλη, ρουζ και σκιές ματιών για να αποδώσει ροζ και κόκκινες αποχρώσεις, αλλά απαγορεύτηκε για χρήση σε καλλυντικά προϊόντα λόγω των επιβλαβών επιδράσεων της (ερεθισμούς στο δέρμα και την περιοχή των ματιών) στον ανθρώπινο οργανισμό (Τσιρίβας και συν., 2013; Naval Jelly, 1998).



Εικόνα 8. Χημική δομή της (Α)ανοιχτής και (Β) κλειστής Ροδαμίνης Β

Κινολίνη

Τα χρώματα Κινολίνης αποτελούν χρωστικές οι οποίες δίνουν αποχρώσεις πράσινου και κίτρινου. Οι χρωματικές αποδόσεις προκύπτουν από τα παράγωγα της Κινολίνης όπως Κίτρινο 10 Κινολίνης (CI 47000) , Κίτρινο 10 Κινολίνης (CI 47005) και πράσινο Κινολίνης (CI 61565). Τα συγκεκριμένα χρώματα χαρακτηρίζονται από υψηλή ανθεκτικότητα στο φως και τις υψηλές θερμοκρασίες και παράγουν φωτεινές και έντονες αποχρώσεις του κίτρινου και του πράσινου (Τσιρίβας και συν., 2013; Hunger, 2003).



Εικόνα 9. Χημική δομή Κινολίνης D&C Yellow No 10

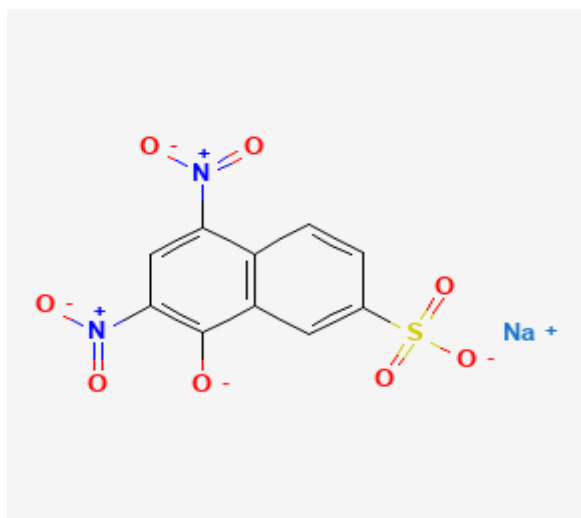
Ανθρακοκινόνη

Τα χρώματα Ανθρακοκινόνης είναι μία σειρά οργανικών ενώσεων τα οποία προέρχονται από τις ρίζες των φυτών Rhamnus Alaternus L και Rubia. Τα χρώματα ανθρακοκινόνης χρησιμοποιούνται ως χρωστικές σε καλλυντικά προϊόντα όπως οι βαφές μαλλιών αλλά ορισμένα από τα παράγωγα τους, όπως η Αλιζαρίνη, δύναται να χρησιμοποιηθούν και σε προϊόντα καλλωπισμού όπως κραγιόν, ρουζ και σκιές ματιών. Αν και τα παράγωγα της

ανθρακοκινόνης μπορούν να αποδώσουν διάφορα χρώματα όπως κόκκινο, κίτρινο, καφέ και πορτοκαλί, τα συνήθη χρώματα που χρησιμοποιούνται σε βαφές μαλλιών είναι τα παράγωγα που αποδίδουν μωβ και πράσινο χρώμα. Ενώ ορισμένα παράγωγα της ανθρακινόνης είναι ασφαλής για καλλυντική χρήση, ορισμένες μορφές έχουν προκαλέσει ανησυχίες λόγω της πιθανότητάς τους να ερεθίσουν το δέρμα ή να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις. Γι αυτό στην Ευρωπαϊκή ένωση η χρήση τους ρυθμίζεται μέσω αυστηρών ορίων συγκέντρωσης (Hunger, 2003; Choudhury, 2011).

Νιτροχρώματα

Τα νιτροχρώματα αποτελούν μία κατηγορία συνθετικών χρωστικών ουσιών τα οποία χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία καλλυντικών για να χρωματίσουν βερνίκια νυχιών, καλλυντικά προσώπου και προϊόντα μαλλιών. Η χρήση των περισσότερων έχει περιοριστεί ή απαγορευτεί λόγω ανησυχιών για την τοξικότητά τους και την δυνατότητα τους να προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις. Οι συγκεκριμένες χρωστικές ερευνώνται και για καρκινογένεσεις μέσα από υψηλές συγκεντρώσεις ή μετά από παρατεταμένη χρήση. Η μοναδική πιστοποιημένη χρωστική νιτροχρώματος είναι η Ext. D&C Yellow No 7 (CI 10316) η οποία αποδίδει έντονο κίτρινο χρώμα και χρησιμοποιείται σε Serum, μάσκες μαλλιών και σαπούνια (Τσιρίβας και συν., 2013; FDA, 2025).

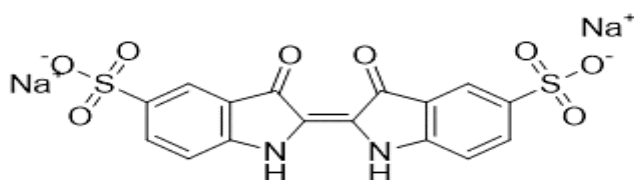


Εικόνα 10. Χημική δομή Ext. D&C Yellow No7 (CI 10316)

Ινδικό

Τα χρώματα Ινδικού έχουν ιστορικά χρησιμοποιηθεί στα καλλυντικά προϊόντα κυρίως για τις πλούσιες και έντονες μπλε αποχρώσεις τους. Κύρια πηγή αυτών των χρωμάτων αποτελεί το

φυτό *Indigofera tinctoria*. απο το οποίο εξάγεται η φυσική χρωστική ουσία Indigo. Οι συνθετικές εκδοχές του ινδικού προκύπτουν μέσω της διαδικασίας Heumann-Pfleger. Κατά την συγκεκριμένη διαδικασία ποσότητα ανιλίνης αντιδρά με χλωροοξικό οξύ προς δημιουργία του ενδιάμεσου προϊόντος φαινυλογλυκίνης. Στην συνέχεια και μετά από επεξεργασία με αμίδιο νατρίου προκύπτει προϊόν Ινδοξυλίου το οποίο, μετά από οξείδωση δίνει το τελικό προϊόν του ινδικού. Από τις συνθετικές χρωστικές ινδικού ξεχωρίζουν οι Indigo Carmine (CI 73015) και Indigotin (CI 73000) οι οποίες χρησιμοποιούνται σε σκιές ματιών, κραγιόν και βερνίκια νυχιών (Dietrich et al., 2016; Kröppel, 2024).

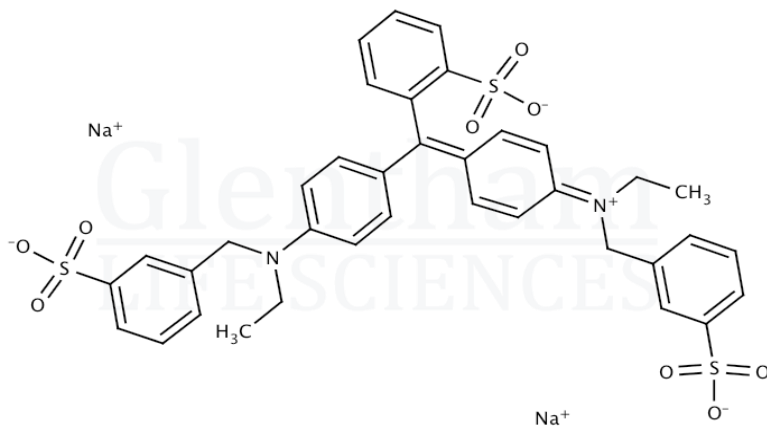


Εικόνα 11. Χημική δομή της Indigo Carmine (CI 73015)

Τριφαινυλομεθάνιο

Τα χρώματα τριφαινυλομεθανίου είναι μια ομάδα συνθετικών οργανικών χρωστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται συνήθως σε προϊόντα προσωπικής φροντίδας και καλλωπισμού. Οι χρωστικές αυτές χαρακτηρίζονται από τα ζωντανά τους χρώματα, τα οποία περιλαμβάνουν αποχρώσεις του μπλε, του πράσινου και μερικές φορές του μωβ. Χρησιμοποιούνται συχνά σε προϊόντα όπως οι βαφές μαλλιών, μακιγιάζ και σε σκευάσματα περιποίησης δέρματος για να παρέχουν έντονα χρωματικά εφέ. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι χρωμάτων τριφαινυλομεθανίου, τα αλκαλικά και τα όξινα. Ωστόσο, μόνο οι όξινες μορφές λαμβάνονται ως πιστοποιημένες χρωστικές ουσίες, καθώς θεωρούνται ασφαλέστερες και πιο σταθερές για χρήση σε καλλυντικές εφαρμογές. Χαρακτηρίζονται από έντονες χρωματικές αποδόσεις αλλά θεωρούνται ιδιαίτερα ευαίσθητα στο φως και στο αλκαλικό περιβάλλον. Δημοφιλέστερα χρώματα του τριφαινυλομεθανίου αποτελούν τα χρώματα FD&C Blue No1 (CI 42090) το οποίο χρησιμοποιείται ως χρωστική στα σαπούνια και το Malachite Green (Victoria Green B) το οποίο χρησιμοποιείται σε βαφές μαλλιών. Το Malachite Green χρησιμοποιείται όλο και λιγότερο σήμερα λόγω της πιθανής τοξικότητάς του και της ταξινόμησης του ως πιθανό

καρκινογόνο (Τσιρίβας και συν., 2013; Gessner, 2000; National Library of Medicine, Malachite Green, n.d; National Library of Medicine, FD&C Blue No 1, n.d).



Εικόνα 12. Χημική δομή FD&C Blue No1 (CI 42090)

3.4.2 Ανόργανες Χρωστικές

Οι ανόργανες χρωστικές αποτελούν έναν σημαντικό τομέα στην βιομηχανία των καλλυντικών προσφέροντας σταθερότητα και ανθεκτικότητα σε μία ποικιλία προϊόντων. Οι ανόργανες χρωστικές παραμένουν αδιάλυτες σε έλαια, στο νερό και σε οργανικούς διαλύτες και χαρακτηρίζονται από υψηλή σταθερότητα έναντι του φωτός. Παρακάτω παρατίθενται οι πιο συνήθεις χρησιμοποιούμενες ανόργανες χρωστικές (Saek-artas, n.d).

Διοξείδιο του Τιτανίου (TiO₂)

Το διοξείδιο του τιτανίου (TiO₂) είναι ένα από τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα συστατικά στη βιομηχανία καλλυντικών, γνωστό κυρίως για το ρόλο του ως χρωστική ουσία και ως UV filter. Στην φύση συναντάται υπό την μορφή ορυκτών Ιλμενίτη και Ρουτίλιο. Πρόκειται για μια λευκή ανόργανη χρωστική η οποία εμφανίζεται υπό την μορφή σκόνης και είναι γνωστή για την εξαιρετική ενίσχυση αδιαφάνειας του λευκού που μπορεί να προσφέρει, δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο φωτεινότερα προϊόντα. Χρησιμοποιείται σε μία ευρεία γκάμα καλλυντικών προϊόντων όπως foundation, BB creams, κραγιόν, make up, βερνίκια νυχιών, οδοντόκρεμες, αδιάβροχες κρέμες προστασίας για βρέφη κ.α. Πλέον του ρόλου του ως χρωστική το διοξείδιο του τιτανίου προσφέρεται και ως φίλτρο UV-BB (ευρυζωνικό φίλτρο), καθώς έχει την δυνατότητα να προσφέρει στο δέρμα προστασία έναντι των ακτίνων

UVB, κυρίως, αλλά και UVA. Γενικά θεωρείται ασφαλές ως προϊόν καθώς φαίνεται πως τα σωματίδια του TiO_2 παραμένουν στην κεράτινη στοιβάδα του δέρματος και δεν εισχωρούν προς τα βαθύτερα στρώματα προσεγγίζοντας την κυκλοφορία του αίματος. Σε προϊόντα τα οποία έρχονται σε επαφή με το στόμα και τα χείλη, όπως κραγιόν και οδοντόκρεμες, θεωρείται ασφαλές όταν χρησιμοποιείται σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις καθώς έρευνες έχουν δείξει την δυνητική του καρκινογόνο δράση όταν εντοπίζεται σε υψηλές δόσεις (Emsley, 2001; Völz et al., 2006; Alderman et al., 2014).

Οξείδιο του Ψευδαργύρου (ZnO)

Το οξείδιο του Ψευδαργύρου, όπως και το TiO_2 , αποτελεί ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο συστατικό στην βιομηχανία των καλλυντικών. Στην φύση συναντάται υπό την μορφή ορυκτού Ζινκίτη. Πρόκειται για λευκή ανόργανη ουσία υπό την μορφή σκόνης και χρησιμοποιείται, ως χρωστική σε προϊόντα καλλωπισμού όπως make up και πούδρες προκειμένου να φωτίσει λιγότερο φωτεινά και μουντά χρώματα, αλλά και σε προϊόντα περιποίησης σώματος όπως γαλακτώματα, σαπούνια, αδιάβροχες κρέμες προστασίας για τα βρέφη κ.α. προκειμένου να δημιουργήσει την αίσθηση λευκού στο προϊόν. Εκτός των λευκαντικών του ιδιοτήτων, το ZnO διαθέτει αντιμικροβιακές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Αρκετά συχνά συναντάται σε προϊόντα προστασίας από την ηλιακή ακτινοβολία, υπό την μορφή νανοσωματιδίων, και αυτό διότι μπορεί να δράσει ως φίλτρο UV-BB και να παρέχει στο δέρμα προστασία έναντι των UVB και UVA ακτίνων.. Γενικά θεωρείται ασφαλές προϊόν προς κατανάλωση σε καλλυντικά προϊόντα καθώς τα νανοσωματίδια δεν προσεγγίζουν την κυκλοφορία του αίματος παραμένοντας στα εξωτερικά στρώματα του δέρματος. Παρόλαυτα έρευνες έχουν δείξει πως όταν τα σωματίδια ZnO ξεπερνούν το επιτρεπόμενο μέγεθος χρήσης, την επιτρεπόμενη συγκέντρωση αλλά και μετά από μακροχρόνια έκθεση τους στο δέρμα, παρουσιάζουν έντονη τοξικότητα, και δύναται να προκαλέσουν οξειδωτικό στρες, μεταλλάξεις στο γενετικό υλικό και καρκινογενέσεις (CDC, n.d; Dr. Dembnay, 2019; More BD, 2007).

Οξείδια Σιδήρου

Τα οξείδια του Σιδήρου θεωρούνται αρκετά δημοφιλείς ανόργανες χρωστικές ουσίες καθώς προσφέρουν πλούσια και σταθερά χρώματα σε μια ποικιλία καλλυντικών προϊόντων όπως πούδρες, make up, βερνίκια νυχιών, μολύβια φρυδιών και κραγιόν. Οι συνθετικές μορφές οξειδίων του σιδήρου, αποτελούν τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες χρωστικές, κυρίως λόγω της δυνατότητας ελέγχου της καθαρότητας τους και τυχόν επικίνδυνων προσμίξεων όπως

μόλυβδος και αρσενικό. Μπορούν να προσδώσουν διάφορες αποχρώσεις όπως κίτρινο (CI 77492), κόκκινο (CI 77491), μαύρο (CI 77499) και πορτοκαλί (CI 77489). Θεωρούνται ασφαλή προς χρήση σε καλλυντικοτεχνικές μορφές, Σε ορισμένες περιπτώσεις, λόγω έλλειψης καλής καθαρότητας της χρωστικής, δύναται να εντοπιστούν μικρές συγκεντρώσεις Νικελίου στην δομή του σιδήρου. Ως εκ τούτου ορισμένα από τα προϊόντα που περιλαμβάνουν οξείδια του σιδήρου (και πάντα με την παρουσία Νικελίου), μπορεί να προκαλέσουν αλλεργική αντίδραση σε ευαίσθητους οργανισμούς, με αποτέλεσμα οξεία δερματίτιδα (Dr. Baumann, 2024; Lamav, n.d; SpecialChem, n.d).

Ουλτραμαρίνες

Οι ουλτραμαρίνες αποτελούν ανόργανες χρωστικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σε προϊόντα καλλωπισμού και προσωπικής φροντίδας. Το γνήσιο χρώμα Ultramarine προέρχεται από το ορυκτό Lapis lazuli το οποίο συναντάται στην Ασία και χρησιμοποιήθηκε αρχικά για τον χρωματισμό τοιχογραφιών και πινάκων. Στα καλλυντικά χρησιμοποιούνται οι συνθετικές μορφές των πιγμέντων κυρίως λόγω καθαρότητας. Οι συνθετικές μορφές αποτελούν αργίλοπυριτικά σουλφονικά άλατα του νατρίου και κατασκευάζονται μέσω θέρμανσης μείγματος καολίνης, ανθρακικού νατρίου, θείου, ξυλάνθρακα και θειϊκού νατρίου. Σημαντική αποτελεί η μορφή τους καθώς αποτελούνται από λεπτούς και λείους κόκκους οι οποίοι ενσωματώνονται άμεσα στην φόρμουλα του προϊόντος χωρίς να επηρεαστεί η υφή. Προσδίδουν έντονες και ζωηρές αποχρώσεις του μπλε, βιολετί, πράσινου και ροζ, και χρησιμοποιούνται σε προϊόντα μακιγιάζ και βερνίκια νυχιών καθώς παρέχουν μακρά σταθερότητα έναντι του φωτός. Στην πλειοψηφία τα προϊόντα που χρησιμοποιούν ουλτραμαρίνες θεωρούνται ασφαλή, εκτός των προϊόντων τα οποία έρχονται σε επαφή με βλεννογόνους. Λόγω της ορυκτής προέλευσης των ουλτραμαρινών, και υπό την υποψία προσμίξεων βαρέων μετάλλων ελλείψει καθαρότητας των ουσιών, ο FDA και η Ευρωπαϊκή επιτροπή έχουν απαγορεύσει την χρήση ουλτραμαρινών χρωστικών σε κραγιόν (Ashok, 1993; Freepatentsonline, n.d; Ultramarine-Blue-Pigment, 2018; Cosmetics info, n.d).

Πράσινα οξείδια του Χρωμίου

Το οξείδιο του Χρωμίου συναντάται στην φύση μέσω του ορυκτού Eskolaite, αλλά η χρωστική πράσινο οξείδιο του χρωμίου, η οποία χρησιμοποιείται στα καλλυντικά, αποτελεί προϊόν της αναγωγής διχρωμικού νατρίου προς άνυδρο οξείδιο του χρωμίου. Η συγκεκριμένη χρωστική συχνά χρησιμοποιείται ταυτόχρονα με το TiO_2 προκειμένου να μετασχηματιστεί το έντονο της

πράσινο προς ηπιότερες αποχρώσεις σε προϊόντα μακιγιάζ. Όπως όλες οι ανόργανες χρωστικές προσφέρει έντονη σταθερότητα έναντι του φωτός και της θερμότητας. Θεωρείται ασφαλές ως υλικό για χρήση σε προϊόντα μακιγιάζ και βαφές μαλλιών, αλλά δεν επιτρέπεται η χρήση του σε προϊόντα που έρχονται σε επαφή με βλεννογόνους. Το χρώμιο δύναται να εντοπισθεί σε αρκετές μορφές καλλυντικών προϊόντων ως πρόσμιξη γι αυτό είναι απαραίτητοι οι συστηματικοί έλεγχοι του ποσοστού του σε καλλυντικοτεχνικές μορφές (Vellis, n.d; EWG's Skin Deep, n.d).

Κεφάλαιο 4

4.1 Τοξικότητα Χρωστικών Ουσιών σε Καλλυντικά Προϊόντα

Τα καλλυντικά προϊόντα, από τα πολύχρωμα κραγιόν μέχρι τις ζωηρές σκιές ματιών, βασίζονται σε συνθετικές βαφές για να επιτύχουν τις εντυπωσιακές αποχρώσεις τους. Ενώ οι χρωστικές αυτές συμβάλλουν στην ενίσχυση της ελκυστικότητας των προϊόντων ομορφιάς, υπάρχει αυξανόμενη ανησυχία σχετικά με την πιθανή τοξικότητά τους. Πολλές βαφές που χρησιμοποιούνται στα καλλυντικά είναι χημικά πολύπλοκες ουσίες και ορισμένες έχουν συνδεθεί με σοβαρά προβλήματα υγείας. Παρακάτω εξετάζεται η τοξικότητα των χρωστικών ουσιών, ο τρόπος με τον οποίο εισέρχονται στον οργανισμό μας, οι μηχανισμοί δράσης τους και το ρυθμιστικό τοπίο που τις περιβάλλει.

Με τον όρο τοξικότητα αναφερόμαστε στο βαθμό στον οποίο μια ουσία μπορεί να προκαλέσει βλάβη σε έναν οργανισμό. Στο πλαίσιο των καλλυντικών προϊόντων, η τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί με διάφορους τρόπους, από τον ερεθισμό του δέρματος έως μακροπρόθεσμα προβλήματα υγείας, όπως ο καρκίνος, τα αναπαραγωγικά ζητήματα και οι ενδοκρινικές διαταραχές. Οι τοξικές ουσίες από τις χρωστικές καλλυντικών μπορούν να εισέλθουν στον οργανισμό μέσω διαφόρων οδών:

- **Μέσω Δερματικής Απορρόφησης:** Το δέρμα είναι το μεγαλύτερο όργανο του σώματος και χρησιμεύει ως φραγμός. Ωστόσο, ορισμένες χημικές ουσίες σε καλλυντικά προϊόντα μπορούν να διεισδύσουν στο δέρμα, ιδίως όταν τα προϊόντα εφαρμόζονται συχνά ή παραμένουν στο δέρμα για μεγάλο χρονικό διάστημα.
- **Μέσω Κατάποσης:** Ορισμένα καλλυντικά προϊόντα, όπως τα κραγιόν, μπορούν να καταποθούν, είτε κατά λάθος είτε μέσω της τακτικής χρήσης, καθώς εν αγνοία μας καταπίνουμε μικρές ποσότητες του προϊόντος.
- **Μέσω Εισπνοής:** Καλλυντικά όπως σκόνες και σπρέι μπορούν να εισπνευστούν, οδηγώντας σε έκθεση σε τοξικά σωματίδια που εισέρχονται στο αναπνευστικό σύστημα.

Μόλις απορροφηθούν, αυτές οι τοξικές ουσίες μπορούν να κυκλοφορήσουν σε όλο το σώμα μέσω του αίματος, επηρεάζοντας δυνητικά ζωτικά όργανα και συστήματα. Οι επιβλαβείς

επιδράσεις τους χαρακτηρίζονται από ενδοκρινικές διαταραχές, κυτταρική βλάβη, γενοτοξικότητα και νευροτοξικότητα. Ένας από τους πιο άμεσους κινδύνους που σχετίζονται με τις συνθετικές βαφές είναι οι αλλεργικές αντιδράσεις. Πολλές βαφές, ιδίως εκείνες με συγκεκριμένα χημικά πρόσθετα, μπορούν να προκαλέσουν ερεθισμό, ερυθρότητα, κνησμό και πρήξιμο. Τα άτομα με ευαίσθητο δέρμα μπορεί να εμφανίσουν πιο σοβαρές αντιδράσεις. Χρωστικές ουσίες όπως τα αζωχρώματα, οι οποίες βρίσκονται σε πολλά καλλυντικά προϊόντα, είναι ιδιαίτερα γνωστό ότι προκαλούν αλλεργικές αντιδράσεις σε άτομα με ευαισθητοποίηση στον οργανισμό. Ορισμένες συνθετικές χρωστικές ουσίες, ιδίως οι χρωστικές με βάση την πίσσα άνθρακα, έχουν συνδεθεί με καρκίνο σε μελέτες σε ζώα. Ενώ πολλές από αυτές τις χρωστικές ουσίες έχουν εγκριθεί από ρυθμιστικές αρχές όπως ο FDA, εξακολουθούν να υπάρχουν ανησυχίες σχετικά με τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της έκθεσης. Ορισμένες από αυτές τις βαφές περιέχουν καρκινογόνες ουσίες όπως η βενζιδίνη, μια χημική ουσία που έχει ταξινομηθεί ως καρκινογόνος ουσία για τον άνθρωπο. Ενώ οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται συχνά σε πολύ μικρές ποσότητες στα καλλυντικά, η σωρευτική επίδραση της συνεχούς έκθεσης σε μικρές ποσότητες εξακολουθεί να αποτελεί θέμα ανησυχίας. Άλλες συνθετικές βαφές περιέχουν συστατικά που ταξινομούνται ως ενδοκρινικοί διαταράκτες. Αυτές οι χημικές ουσίες μπορούν να επηρεάσουν τα ορμονικά συστήματα του οργανισμού, οδηγώντας σε αναπαραγωγικά ζητήματα και αναπτυξιακά προβλήματα. Ορισμένες χρωστικές έχει βρεθεί ότι μιμούνται τα οιστρογόνα, γεγονός που θα μπορούσε ενδεχομένως να οδηγήσει σε ορμονικές διαταραχές. Τέλος πολλά καλλυντικά με έντονα χρώματα περιέχουν χρωστικές ουσίες που περιλαμβάνουν τοξικά μέταλλα όπως ο μόλυβδος, ο υδράργυρος και το αρσενικό. Αυτά τα βαρέα μέταλλα μπορούν να συσσωρευτούν στον οργανισμό με την πάροδο του χρόνου, οδηγώντας ενδεχομένως σε σοβαρά προβλήματα υγείας, όπως νευρολογικές βλάβες, νεφρικά προβλήματα και αναπτυξιακές διαταραχές, ιδίως σε παιδιά και εγκύους.

Ο πίνακας που ακολουθεί περιλαμβάνει τις χρωστικές οι οποίες είναι από τις πλέον μελετημένες και έχουν αναλυθεί με τη χρήση προηγμένων τεχνικών όπως η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC), η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού (UV-Vis) και η αέρια χρωματογραφία (GC) για τις χημικές τους ιδιότητες και τις τοξικολογικές τους επιπτώσεις.

Χρωστική	Καλλυντικοτεχνική Μορφή που χρησιμοποιείται	Επιπτώσεις στην υγεία
Red 40 (Allura Red AC)	Κραγιόν, Lip gloss, Βερνίκια Νυχιών, Σκιές Ματιών, Βαφές Μαλλιών	Αλλεργικές Αντιδράσεις, Υπερκινητικότητα σε παιδιά
Blue 1 (Brilliant Blue FCF)	Σκιές ματιών, Mascara, Lip gloss, Βερνίκια Νυχιών, Σαμπουάν, Conditioner	Ήπιος ερεθισμός δέρματος, σε υψηλές συγκεντρώσεις βλάβη στο ήπαρ
Yellow 5 (Ταρτραζίνη)	Κραγιόν, Σκιές Ματιών, Βερνίκια Νυχιών, Body Lotion, Βαφές Μαλλιών	Αλλεργικές Αντιδράσεις, Υπερκινητικότητα και αλλαγή συμπεριφοράς σε παιδιά
C.I. 19140 (Sunset Yellow)	Κραγιόν, Βερνίκια Νυχιών, Σκιές Ματιών, Οδοντόκρεμες	Αλλεργικές αντιδράσεις, Καρκινογόνες επιδράσεις
Green 3 (Fast Green FCF)	Σκιές Ματιών, Βερνίκια Νυχιών, Κραγιόν	Ερεθισμός δέρματος, Αλλεργικές Αντιδράσεις
Ροδαμίνη Β	Κραγιόν, Ρουζ, Σκιές Ματιών, Βαφές Μαλλιών	Καρκινογόνος, Μεταλλαξιογόνος,, Επιβλαβής για το συκώτι και τα νεφρά
C.I. 10316 (Para Red)	Κραγιόν, Σκιές Ματιών, Ρουζ, Βερνίκια Νυχιών	Καρκινογόνος Ουσία, Αλλεργικές Αντιδράσεις

C.I. 15510 (Ροδαμίνη 6G)	Κραγιόν, Βερνίκια Νυχιών, Βαφές Μαλλιών, Σκιές Ματιών	Επιβλαβής για μάτια και δέρμα. Υποπτη για καρκινογενέσεις
C.I. 12085 (Πιγμέντο Red 57)	Κραγιόν, Ρουζ, Σκιές Ματιών, Βερνίκια Νυχιών	Δερματικές Αντιδράσεις, Τοξικότητα σε Όργανα
C.I. 14700 (Red 3, Ερυθροσίνη)	Κραγιόν, Ρουζ, Σκιές Ματιών, Mascara	Τοξικότητα του Θυροειδούς
Μόλυβδος (Pb)	Κραγιόν, Lip Balm, Eye Liner, Βαφές Μαλλιών	Καθυστέρηση Ανάπτυξης, Νεφρική Βλάβη, Καρκίνος
Υδράργυρος (Hg)	Κρέμες Λεύκανσης, Mascara, Μολύβια Ματιών, Βαφές Μαλλιών	Νευρολογικές Βλάβες, Βλάβη στα Νεφρά, Ενδοκρινικές Διαταραχές, Βλάβη στο Δέρμα
Αρσενικό (As)	Σκιές και Μολύβια Ματιών, Προϊόντα Λεύκανσης Δέρματος	Βλάβες στο Δέρμα, Καρδιοαγγειακές Βλάβες, Νευρολογικές Βλάβες
Χρώμιο (Cr)	Mascara, Μολύβια Ματιών, Βερνίκια Νυχιών, Βαφές Μαλλιών	Βλάβες στο Δέρμα, Βλάβες στο Συκώτι και τα Νεφρά, Καρκίνος Πνεύμονα

Πίνακας 4. Οι περισσότερο μελετημένες ουσίες για την τοξικότητά τους σε καλλυντικά προϊόντα

Η χρήση συνθετικών χρωστικών ουσιών στα καλλυντικά είναι ευρέως διαδεδομένη, αλλά το ίδιο ισχύει και για τις ανησυχίες σχετικά με την πιθανή τοξικότητά τους. Ενώ ρυθμιστικοί οργανισμοί όπως ο FDA και ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Φαρμάκων (EMA) εργάζονται για να διασφαλίσουν την ασφάλεια αυτών των προϊόντων, εξακολουθεί να υπάρχει σημαντικός κίνδυνος που συνδέεται με ορισμένες χρωστικές ουσίες. Οι καταναλωτές ενθαρρύνονται να είναι προσεκτικοί, ιδίως όταν χρησιμοποιούν προϊόντα που περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις

συνθετικών χρωστικών ουσιών. Η επιλογή φυσικών ή βιολογικών εναλλακτικών λύσεων, οι οποίες χρησιμοποιούν ορυκτές χρωστικές ουσίες και χρωστικές ουσίες φυτικής προέλευσης, μπορεί να παρέχει μια ασφαλέστερη επιλογή, ελαχιστοποιώντας την έκθεση σε επιβλαβείς χημικές ουσίες. Το μέλλον της ασφάλειας των καλλυντικών θα εξαρτηθεί πιθανότατα από την αυστηρότερη έρευνα, τη ρύθμιση και την ευαισθητοποίηση των καταναλωτών σχετικά με τις χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σε αυτά τα προϊόντα (Wargala et. al, 2021; Nohvnek et. al, 2004; Khan, 2019; Wiley, 1999).

Κεφάλαιο 5

5.1 Νομοθετικό Πλαίσιο για τις χρωστικές στα καλλυντικά προϊόντα

Η χρήση χρωστικών ουσιών στα καλλυντικά προϊόντα αποτελεί έναν κρίσιμο παράγοντα για την λειτουργικότητα τους αλλά και την αισθητική τους αξία, ωστόσο η ασφαλής χρήση τους είναι καθοριστικής σημασία για την υγεία των καταναλωτών. Η νομοθεσία που ρυθμίζει τη χρήση των χρωστικών στα καλλυντικά προϊόντα έχει στόχο να εξασφαλίσει την προστασία της ανθρώπινης υγείας, θέτοντας αυστηρούς κανόνες και πρότυπα ασφαλείας. Οι κανονισμοί περιλαμβάνουν την έγκριση των χρωστικών ουσιών, τις επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις τους, καθώς και τις μεθόδους αξιολόγησης της ασφάλειας τους πριν από την κυκλοφορία τους στην αγορά. Αυτοί οι κανονισμοί ισχύουν τόσο σε Εθνικό όσο και σε Ευρωπαϊκό επίπεδο, προκειμένου να εξασφαλιστεί η συνεχιζόμενη προστασία των καταναλωτών από ενδεχόμενους κινδύνους που μπορεί να προκύψουν από την χρήση ακατάλληλων ή επικίνδυνων χρωστικών ουσιών.

Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, η χρήση χρωστικών ρυθμίζεται κυρίως από τον Κανονισμό (ΕΕ) 1223/2009 για τα καλλυντικά προϊόντα, ο οποίος καθορίζει τις απαιτήσεις ασφαλείας και τις διαδικασίες έγκρισης για τα καλλυντικά. Ο κανονισμός αυτός ισχύει για όλα τα καλλυντικά προϊόντα που διατίθενται στην αγορά της ΕΕ και αφορά την ασφάλεια των προϊόντων, περιλαμβανομένων των χρωστικών ουσιών.

Σε εθνικό επίπεδο, η νομοθεσία για τα καλλυντικά προϊόντα είναι απόλυτα συμβατή με τον κανονισμό 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και είναι υποχρεωμένη να προσαρμόζεται αναλόγως, κάθε φορά που ο κανονισμός επικαιροποιείται..

Ο κανονισμός 1223/2009 για τα καλλυντικά προϊόντα θέτει κανόνες για την ασφάλεια των καλλυντικών προϊόντων που διατίθενται στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Αφορά τη σύνθεση, την επισήμανση, τη συσκευασία, τις απαιτήσεις για τις κλινικές δοκιμές των προϊόντων και αποσκοπεί στην προστασία της ανθρώπινης υγείας, ενώ παράλληλα διευκολύνει την ελεύθερη κυκλοφορία των προϊόντων στην εσωτερική αγορά της ΕΕ.

Οι κύριες υποχρεώσεις που επιβάλλει ο κανονισμός περιλαμβάνουν:

- Την υποχρέωση για την εκπόνηση αξιολόγησης ασφάλειας πριν από την κυκλοφορία ενός καλλυντικού προϊόντος.
- Τη δημιουργία ενός μητρώου προϊόντων (***Cosmetic Products Notification Portal – CPNP***)
- Την ενημέρωση των καταναλωτών για τα συστατικά του προϊόντος μέσω της επισήμανσης.

Ο Ευρωπαϊκός κανονισμός 1223/2009 επίσης περιλαμβάνει διάφορα παραρτήματα στα οποία αναφέρονται οι επιτρεπόμενες και απαγορευμένες ουσίες στα καλλυντικά προϊόντα, οι επισημάνσεις των συμβόλων που χρησιμοποιούνται στην συσκευασία, καθώς και οι μέθοδοι αντικατάστασης δοκιμών πάνω σε ζώα:

- 1) Παράρτημα I : Παράρτημα το οποίο αναφέρεται στην έκθεση ασφάλειας για το καλλυντικό προϊόν
- 2) Παράρτημα II: Παράρτημα το οποίο αναφέρει έναν πλήρη κατάλογο ουσιών οι οποίες απαγορεύονται στα καλλυντικά.
- 3) Παράρτημα III: Παράρτημα το οποίο αναφέρει έναν πλήρη κατάλογο ουσιών οι οποίες δεν πρέπει να περιέχονται στην σύνθεση καλλυντικού προϊόντος πέραν των ήδη καθορισμένων περιορισμών
- 4) Παράρτημα IV: Παράρτημα το οποίο αναφέρει έναν πλήρη κατάλογο χρωστικών οι οποίες επιτρέπονται στην σύνθεση καλλυντικού προϊόντος
- 5) Παράρτημα V: Παράρτημα το οποίο αναφέρει έναν πλήρη κατάλογο συντηρητικών τα οποία επιτρέπονται στην σύνθεση καλλυντικού προϊόντος
- 6) Παράρτημα VI: Παράρτημα το οποίο αναφέρει ένα πλήρη κατάλογο των φίλτρων UV τα οποία επιτρέπονται στην σύνθεση καλλυντικού προϊόντος
- 7) Παράρτημα VII: Παράρτημα στο οποίο αναφέρονται τα σύμβολα και οι σημάνσεις που χρησιμοποιούνται επάνω στην συσκευασία του καλλυντικού προϊόντος
- 8) Παράρτημα VIII: Παράρτημα το οποίο αναφέρεται στις εναλλακτικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται έναντι των δοκιμών σε ζώα

Στον κανονισμό 1223/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου, οι χρωστικές εντάσσονται στα παραρτήματα II, III και IV. Συγκεκριμένα στο Παράρτημα IV αναφέρονται όλες οι χρωστικές

(153 στο σύνολο), οργανικές ή ανόργανες, οι οποίες επιτρέπονται για χρήση σε καλλυντικά προϊόντα. Εδώ η ταυτοποίηση των ουσιών γίνεται με βάση το INCI (International Nomenclature Cosmetic Ingredient) όνομα τους αλλά και με CI (Color Index), δηλαδή τον δείκτη χρώματος ο οποίος αποτελεί την ταυτότητα της εκάστοτε χρωστικής παγκοσμίως. Πέραν των παραπάνω, ο κατάλογος αναφέρει τον χρωματισμό που προσδίδει η κάθε χρωστική αλλά και το είδος του προϊόντος στο οποίο την σύνθεση επιτρέπεται ή όχι να χρησιμοποιηθεί η ουσία. Η πλειοψηφία των χρωστικών οι οποίες αναφέρονται στον συγκεκριμένο κατάλογο αφορά ουσίες που θα χρησιμοποιηθούν σε εκπλενόμενα προϊόντα και ως εκ τούτου δεν αναγράφεται η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση της χρωστικής στο τελικό προϊόν. Σε τέτοια προϊόντα η χρωστική δεν έχει την δυνατότητα να παραμείνει στο δέρμα για μεγάλο χρονικό διάστημα και έτσι αποφεύγεται η συσσώρευση της στον οργανισμό. Παρακάτω ακολουθεί πίνακας με ενδεικτικά παραδείγματα του παραρτήματος IV.

INCI	CI	Χρωματισμός	Είδος προϊόντος
2,4-διυδρο-5-μεθυλο-2-φαινυλο-4- (φαινυλαζω)-3H-πυραζολόνη-3	12700	Κίτρινο	Εκπλενόμενο προϊόν
4 (-2-Υδροξυ-1-ναφθυλ)αζω) ναφθαλινοσουλφονικό νάτριο	15620	Κόκκινο	Εκπλενόμενο προϊόν
δισ[3-υδροξυ-4-(φαινυλαζω)-2-ναφθοϊκό] ασβέστιο	15800	Κόκκινο	Δεν επιτρέπεται για χρήση σε προϊόντα εφαρμοζόμενα στους βλεννογόνους
Πολυχλωρο-χαλκοφθαλοκυανίνη	74260	Πράσινο	Δεν επιτρέπεται η χρήση σε προϊόντα ματιών
Διοξειδίο του Τιτανίου	77891	Λευκό	Σε όλα τα προϊόντα
β -Καροτένιο	40800	Πορτοκαλί	Σε όλα τα προϊόντα

Πίνακας 5. Επιτρεπόμενες Χρωστικές σε Καλλυντικά Προϊόντα

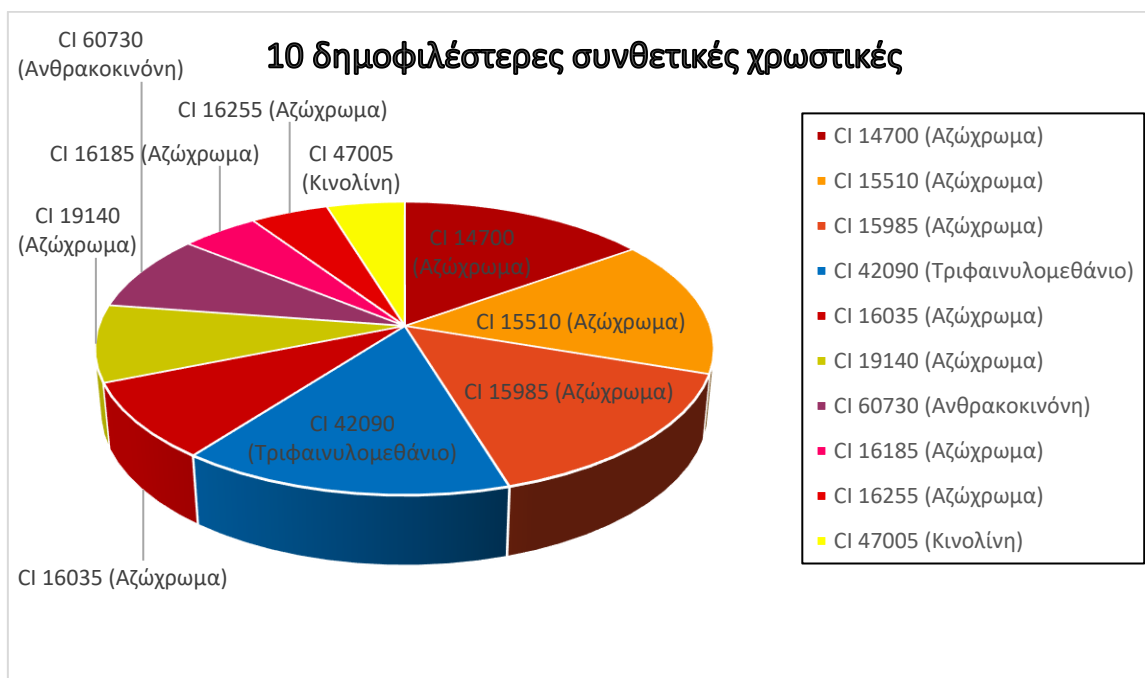
Σημαντικό ρόλο στην νομοθεσία των καλλυντικών διαδραματίζουν τα Παραρτήματα II και III. Εδώ αναφέρονται όλες οι χρωστικές οι οποίες απαγορεύεται ή δύναται να χρησιμοποιηθούν υπό περιορισμούς, σε τελικά προϊόντα. Συγκεκριμένα στο Παράρτημα II περιέχονται όλες οι χρωστικές οι οποίες απαγορεύεται να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικοτεχνικές μορφές. Η ταυτοποίηση της ουσίας πραγματοποιείται με το INCI όνομα της αποκλειστικά.

Στο Παράρτημα ΙΙΙ, αναφέρονται οι χρωστικές οι οποίες απαγορεύεται να χρησιμοποιηθούν σε καλλυντικοτεχνικές μορφές πέραν των περιορισμών των οποίων αναφέρει ο κατάλογος. Και εδώ η ταυτοποίηση της ουσίας δεν πραγματοποιείται με το CI αλλά με το INCI όνομα της κάθε ουσίας. Πέραν αυτού στον συγκεκριμένο κατάλογο αναφέρονται α) το είδος του προϊόντος για το οποίο αναγράφονται οι περιορισμοί, β) η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση της χρωστικής στο τελικό προϊόν και γ) επιπρόσθετες υποδείξεις προκειμένου να διασφαλιστεί η σωστή και ασφαλής χρήση του προϊόντος από τον καταναλωτή. Η πλειοψηφία των χρωστικών οι οποίες αναφέρονται στο συγκεκριμένο παράρτημα αφορά χρωστικές ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούνται σε βαφές μαλλιών, οξειδωτικές ή μη οξειδωτικές. Στις χρωστικές οι οποίες χρησιμοποιούνται σε οξειδωτικές βαφές, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση τους για κάθε προϊόν το οποίο δύναται να χρησιμοποιηθούν. Επιπρόσθετα γίνεται σαφής καθορισμός του τελικού χρήστη, είτε πρόκειται για επαγγελματία είτε για απλό καταναλωτή και αναγράφονται σαφείς οδηγίες των όρων χρήσης προκειμένου να αποφεύγεται οποιαδήποτε παρενέργεια μπορεί να προκαλέσει η χρωστική ουσία (European Union, 2009).

Κεφάλαιο 6

6.1 Αναλυτικές Μέθοδοι Προσδιορισμού Χρωστικών σε Καλλυντικά Προϊόντα

Το χρώμα διαδραματίζει καθοριστική και στρατηγική σημασία στα καλλυντικά προϊόντα. Από την πλειονότητα των ουσιών που χρησιμοποιούνται για την απόδοση χρώματος οι συνθετικές βαφές, ήταν μέχρι πρότινος, οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενες στην καλλυντική βιομηχανία λόγω του χαμηλότερου κόστους παραγωγής αλλά και των σταθερών ιδιοτήτων που μπορούν να προσδώσουν. Από την οικογένεια των συνθετικών χρωστικών ουσιών, τα αζωχρώματα αποτελούν την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη ομάδα χρωστικών σε καλλυντικοτεχνικές μορφές κυρίως λόγω της εμφανώς χαμηλότερης τιμής τους, ακολουθούμενη από τα χρώματα ανθρακοκινόνης και κινολίνης (Buzek, 2009).



Εικόνα 13. 10 συνθετικές χρωστικές που χρησιμοποιούνται περισσότερο στα καλλυντικά προϊόντα

Παρόλ αυτά η εν δυνάμει πιθανότητα να προκαλούν δευτερογενείς επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία, καθώς και οι διαφορές στις απαιτήσεις ως προς την χρήση τους στην Ευρωπαϊκή και Παγκόσμια αγορά, καθιστούν απαραίτητη τη διεξοδική ανάλυση τους προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφαλής χρήση καλλυντικών προϊόντων.

Ωστόσο υπάρχει μεγάλος περιορισμός ως προς τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των χρωστικών ουσιών στα καλλυντικά σε σχέση με αυτές που χρησιμοποιούνται για άλλα συστατικά, όπως π.χ τα συντηρητικά ή τα φίλτρα UV. Επιπλέον, οι περισσότερες υπάρχουσες τεχνικές εξετάζουν μόνο μερικές από τις χρωστικές. Αντίθετα έχουν αναπτυχθεί περισσότερες μέθοδοι για άλλους τομείς εκτός των καλλυντικών, όπως είναι αυτός των τροφίμων. Παρατηρείται μια τάση προς την εφαρμογή τεχνικών μικροσκοπικής εκχύλισης. Λόγω της υδρόφιλης φύσης των χρωστικών ουσιών, η υγρή χρωματογραφία αποτελεί την πιο συνηθισμένη μέθοδο, συζευγμένη με φασματομετρία μάζας.

6.1.1 Προσδιορισμός Χρωστικών Ουσιών σε Προϊόντα Καλλυντικών

Ο προσδιορισμός των χρωστικών ουσιών σε προϊόντα καλλυντικών είναι σημαντικός για διάφορους λόγους, οι οποίοι περιλαμβάνουν:

- Για να επισφραγιστεί πως το τελικό προϊόν πληρεί τις προϋποθέσεις των διαφορετικών κανόνων και απαιτήσεων μεταξύ των αρχών ελέγχου (FDA, EC, MHLW, NMPA, TGA).
- Για να εξασφαλιστεί πως χρησιμοποιούνται μόνο επιτρεπόμενες χρωστικές από τη νομοθεσία σε ένα καλλυντικό προϊόν.
- Για να διασφαλιστεί πως δεν θα προκαλέσουν ερεθισμούς ή άλλες ανεπιθύμητες αντιδράσεις στην περιοχή του δέρματος και των ματιών αλλά και να διερευνηθεί η αιτία τους σε περίπτωση αλλεργικής αντίδρασης
- Για τον καθορισμό της σταθερότητας μία χρωστικής ουσίας με βάση διαφορετικές μήτρες
- Για να εξασφαλιστεί πως οι πληροφορίες οι οποίες αναγράφονται σε μία ετικέτα καλλυντικού προϊόντος είναι αληθείς και πλήρεις.
- Για να εξασφαλιστεί η ποιοτική συνέπεια ενός καλλυντικού προϊόντος
- Για να προσφερθεί ταυτοποίηση σε δείγματα από εγκληματικές δραστηριότητες

6.2 Μέθοδοι Προσδιορισμού Συνθετικών Χρωστικών σε Καλλυντικά Προϊόντα

6.2.1 Υγρή Χρωματογραφία (Liquid Chromatography/LC)

Η Υγρή Χρωματογραφία (LC) είναι μια τεχνική ανάλυσης που χρησιμοποιείται ευρέως στην χημεία και τη βιοχημεία για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση ουσιών σε υγρά δείγματα. Αποτελεί μία ισχυρή και αξιόπιστη μέθοδο για τον διαχωρισμό, τον καθορισμό και την ταυτοποίηση χημικών ενώσεων προσφέροντας υψηλή ευαισθησία, ακρίβεια και ταχύτητα.

Βασικές Αρχές

Ο διαχωρισμός, στην τεχνική LC, πραγματοποιείται μέσω του διαφορετικού βαθμού αλληλεπίδρασης του κάθε συστατικού του δείγματος, με τις δύο φάσεις, την κινητή (mobile phase) και την στατική φάση (stationary phase).

Κινητή Φάση: Η κινητή φάση αποτελεί έναν διαλύτη ή μείγμα διαλυτών το οποίο ρέει μέσα στην στήλη και μεταφέρει το δείγμα προκειμένου τα συστατικά του να αλληλεπιδράσουν με την στατική φάση και να διαχωριστούν. Συνήθως χρησιμοποιείται νερό, ακετονιτρίλιο ή μεθανόλη ως διαλύτης ή κάποιο σύστημα αυτών ανάλογα με την φύση του δείγματος, των συστατικών του και το είδος της στήλης που χρησιμοποιείται σε κάθε ανάλυση.

Στατική φάση: Η στατική φάση αποτελείται συνήθως από ένα πορώδες υλικό ή κάποια επιφανειακά καλυπτόμενα σωματίδια. Συνήθως χρησιμοποιούνται σωματίδια από SiO₂, σιλικεπιστρωμένα σφαιρίδια με C8 ή C18 ή πολυμερικά υλικά όπως το PS-DVB (polystyrene – divinylbenzene).

Το κάθε συστατικό του δείγματος αλληλεπιδρά σε διαφορετικό βαθμό και έτσι ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με βάση την φυσικοχημική συγγένεια του κάθε συστατικού με τις 2 φάσεις.

Ανάλογα με την φύση του δείγματος και την στατική φάση, η τεχνική διαχωρισμού μπορεί να διακριθεί σε :

- *Χρωματογραφία Προσρόφησης :* Οι διαφορετικοί συντελεστές προσρόφησης των συστατικών του δείγματος στην επιφάνεια της στατικής φάσης οδηγούν στον

διαχωρισμό τους κατά τη διάρκεια της μετακίνησης τους μέσω του συστήματος χρωματογραφίας. Οι φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των συστατικών και της στατικής φάσης πραγματοποιούνται μέσω δυνάμεων Van der Waals και δεσμών Υδρογόνου.

- *Χρωματογραφία κατανομής* : Για πολικές, μη ιοντικές ενώσεις. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται όταν ανάμεσα στην υγρή στατική και υγρή κινητή φάση πραγματοποιείται διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός δείγματος.
- *Χρωματογραφία Ιοντοανταλλαγής* : Για ιοντικές ενώσεις. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στις θετικά/αρνητικά φορτισμένες ομάδες της στατικής φάσης και των αντίθετα φορτισμένων ιόντων του δείγματος.
- *Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού* : Για ενώσεις με MB (μοριακό βάρος) μεγαλύτερο των 10.000 Da. Ο διαχωρισμός των συστατικών του δείγματος επιτυγχάνεται μέσω του διαφορετικού μεγέθους των μορίων του, καθώς τα πιο μικρά μόρια συγκρατούνται από την στατική φάση ενώ τα μεγαλύτερα εξέρχονται γρηγορότερα καθώς δεν δύναται να εισέλθουν στους πόρους της.
- *Χημικής συγγένειας* : Για εναντιομερείς ενώσεις. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω εκλεκτικής δέσμευσης των προσδιοριζόμενων συστατικών του δείγματος, από ακινητοποιημένους υποκαταστάτες στην περιοχή της στατικής φάσης (Skoog et al., 2007).

6.2.2 Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography/HPLC)

Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης αποτελεί μία προηγμένη μορφή υγρής χρωματογραφίας κατά την οποία χρησιμοποιούνται μεγαλύτερες πιέσεις μέσω αντλίας και όχι μέσω βαρύτητας προκειμένου να επιτευχθεί η αποτελεσματική ροή της κινητής φάσης. Μέσω της συγκεκριμένης τεχνικής δίνεται η δυνατότητα χρησιμοποίησης στηλών με μικρότερα μεγέθη σωματιδίων πλήρωσης αλλά ταυτόχρονα μεγαλύτερου εμβαδού επιφάνειας με αποτέλεσμα τον αποτελεσματικότερο διαχωρισμό των αναλυόμενων συστατικών.

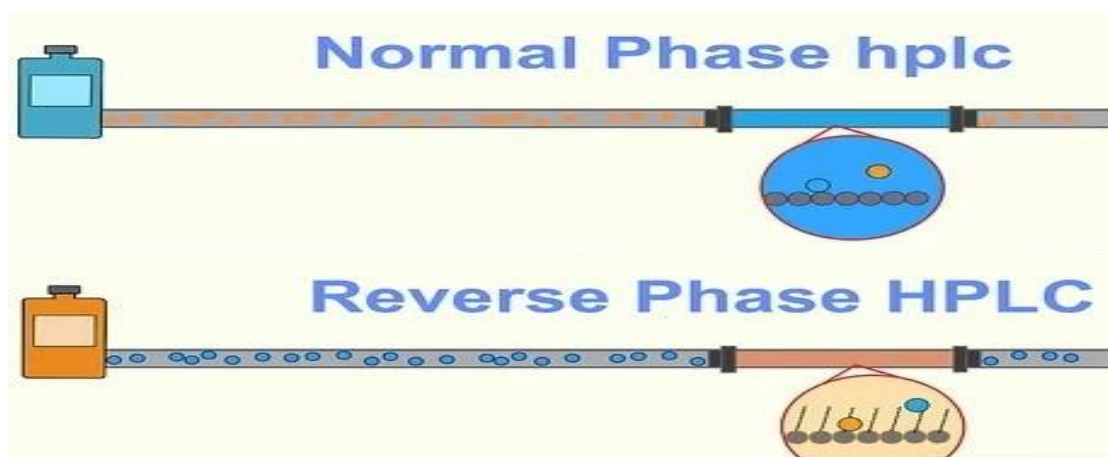
Με βάση την πολικότητα μεταξύ των δύο φάσεων, στατικής και κινητής διακρίνεται σε :

1) HPLC Κανονικής Φάσης (Normal Phase HPLC)

Η HPLC κανονικής φάσης βασίζεται στην αλληλεπίδραση των ενώσεων του δείγματος με μία πολική στατική φάση (SiO_2 , Al_2O_3) και μία μειωμένης πολικότητας κινητή φάση (**χλωροφόρμιο, εξάνιο**). Με αυτό τον τρόπο ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται όταν τα πολικά προσδιοριζόμενα συστατικά αλληλεπιδρούν και προσροφώνται ευκολότερα από την πολική στατική φάση με αποτέλεσμα την μειωμένη ροή τους στην στήλη εν αντιθέσει με τα λιγότερο πολωμένα τα οποία δεν αλληλεπιδρούν και εξέρχονται νωρίτερα.

2) HPLC Αντίστροφης Φάσης (Reverse Phase HPLC/ RP-HPLC)

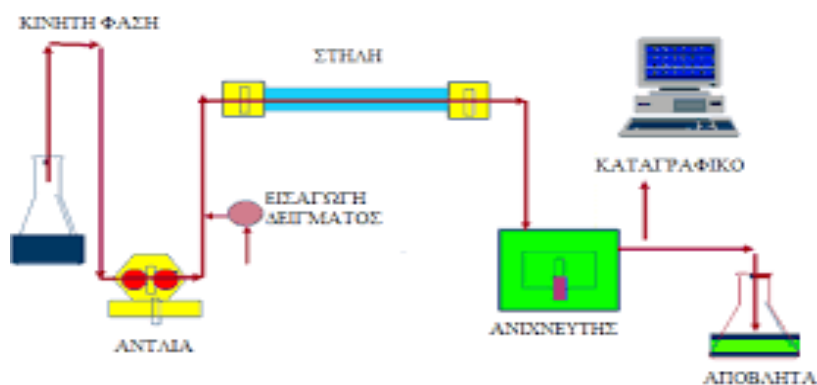
Η HPLC αντίστροφης φάσης, αντίθετα της κανονικής, βασίζεται στην αλληλεπίδραση των υδρόφοβων μορίων του δείγματος με μία μη πολική στατική φάση (**SiO_2 συζευγμένο με αλκύλια, διόλες, κυανομάδες, αμινομάδες κ.α**) και μίας αυξημένης πολικότητας κινητή φάση (**μείγμα νερού ή αλκοόλης με οργανικούς διαλύτες**). Όταν η σύνθεση του μείγματος των διαλυτών παραμένει σταθερή, η έκλυση παρουσιάζεται ως Ισοκρατική. Όταν υπάρχει μεταβολή της σύνθεσης του μείγματος, η έκλυση αναφέρεται ως Βαθμιδωτή. Εν αντιθέσει με την HPLC κανονικής φάσης, εκλούνται νωρίτερα τα πολικά μόρια του προσδιοριζόμενου μείγματος ενώ τα μη πολικά αλληλεπιδρούν με την στατική φάση και εμφανίζουν μειωμένη ροή και ως εκ τούτου εμφανή διαχωρισμό (Skoog et al., 2007).



Εικόνα 14. HPLC Κανονικής Φάσης (επάνω) και Αντίστροφης Φάσης (κάτω)

Οργανολογία HPLC

1. **Πηγή κινητής φάσης** : Ειδικά δοχεία ή φιάλες τα οποία περιέχουν τους διαλύτες που χρησιμοποιούνται ως κινητή φάση.
2. **Αντλία** : Η αντλία είναι υπεύθυνη στο να παρέχει σταθερή πίεση προκειμένου να εξασφαλιστεί η σταθερή προώθηση της κινητής φάσης, από την πηγή της μέχρι το δοχείο συλλογής αποβλήτων.
3. **Σύστημα έκχυσης δείγματος** : Βαλβίδα - βρόγχος ή σύστημα αυτόματης έκχυσης σταθερού όγκου
4. **Χρωματογραφική στήλη** : Το σημαντικότερο συστατικό του συστήματος καθώς σε αυτό το σημείο επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των συστατικών του προσδιοριζόμενου δείγματος. Αποτελεί σωλήνα ανοξείδωτου χάλυβα ο οποίος περιέχει την στατική φάση. Ανάλογα με την εφαρμογή επιλέγεται στήλη συγκεκριμένου μήκους, διαμέτρου και μεγέθους σωματιδίων.
5. **Ανιχνευτής** : Ο ανιχνευτής καταγράφει τις ουσίες που εξέρχονται από τη στήλη, παρέχοντας πληροφορίες σχετικά με την ποσότητα και τη φύση τους. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφορων ειδών ανιχνευτές όπως:
 - **UV/Vis Detector**
 - **DAD** (Diode Array Detector)
 - **MS** (Mass Spectroscopy Detector)
 - **NMR** (Nuclear Magnetic Resonance Detector)
 - **Φθορισμού** (Fluorescence Detector)
 - **Αγωγιμομετρίας** (Conductivity Detector)
 - **Ηλεκτροχημικοί** (Electrochemical Detector)
6. **Επεξεργαστής Δεδομένων/ Καταγραφικό** : Σύστημα επεξεργασίας δεδομένων το οποίο συλλέγει τις μετρήσεις και τις αποστέλλει σε υπολογιστή προκειμένου να παραχθεί το χρωματογράφημα.
7. **Δεξαμενή αποβλήτων** : Δεξαμενή προς συλλογή της κινητής φάσης (Skoog et al., 2007).



Εικόνα 15. Οργανολογία HPLC

Στάδια Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Ανάλυσης (HPLC)

1. Ορισμένη ποσότητα του προσδιοριζόμενου δείγματος εισάγεται με την κινητή φάση στην αρχή της χρωματογραφικής στήλης
2. Το δείγμα ρέει κατά μήκος της στήλης μέσω της κινητής φάσης με την βοήθεια της αντλίας
3. Τα συστατικά του προσδιοριζόμενου δείγματος κινούνται με διαφορετική ταχύτητα μέσα στην στήλη και ξεχωρίζουν με βάση τις διαφορετικές τους αλληλεπιδράσεις με την στατική φάση
4. Τα συστατικά του δείγματος εξέρχονται της στήλης, όπου ανιχνεύονται από τον ανιχνευτή
5. Τα αποτελέσματα καταγράφονται από το καταγραφικό και παράγεται το χρωματογράφημα προς αξιολόγηση
6. Η κινητή φάση (διαλύτες – δείγμα) ή κλάσμα αυτής συλλέγεται στην δεξαμενή αποβλήτων (Skoog et al., 2007).

6.2.3 Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography/GC)

Η αέρια χρωματογραφία (GC) είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική τεχνική για το διαχωρισμό και την ανάλυση πτητικών ενώσεων σε ένα μείγμα. Ως τεχνική είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση πτητικών ουσιών, διότι είναι εξαιρετικά ακριβής, ταχεία και ευαίσθητη. Συνδυάζοντας αυτή τη μέθοδο με σύγχρονα συστήματα και λογισμικό ανάλυσης, οι επιστήμονες μπορούν να αποκτήσουν πολύτιμες πληροφορίες για την σύνθεση και την καθαρότητα των δειγμάτων τους.

Βασικές Αρχές

Στη GC, το δείγμα εισάγεται, εξατμίζεται και στη συνέχεια μεταφέρεται από ένα αδρανές αέριο (συνήθως Ήλιο, Υδρογόνο, Αργό ή Άζωτο) μέσω μίας στήλης η οποία περιέχει την στερεή ή υγρή στατική φάση. Καθώς τα συστατικά του δείγματος αλληλεπιδρούν με τη στατική φάση, διαχωρίζονται και εκλύονται με βάση τον διαφορετικό χρόνο κατακράτησης της κάθε ένωσης. Η ακριβής ανάλυση των συστατικών ενός δείγματος γίνεται με βάση την χρονική διάρκεια παραμονής του κάθε συστατικού στη στήλη και με την ανίχνευση των διαχωρισμένων συστατικών με ανιχνευτές, όπως ο ανιχνευτής ιοντισμού φλόγας (FID) ή φασματογραφίας μαζών (MS) (Skoog et al., 2007).

Οργανολογία

1. **Φέρον Αέριο** : Χημικά αδρανές αέριο. Συνήθως χρησιμοποιείται αέριο Ήλιο, Υδρογόνο, Αργό ή Άζωτο πεπιεσμένο σε οβίδα. Η ταχύτητα ροής του φέροντος αερίου ρυθμίζεται με ρυθμιστές ροής προκειμένου να επιτευχθούν ταχύτητες 25-150 mL/min σε πληρωμένες στήλες και 1-25 mL/min σε τριχοειδείς στήλες.
2. **Σύστημα έκχυσης** : Η περιοχή στην οποία το δείγμα εισάγεται στο σύστημα. Η εισαγωγή επιτυγχάνεται με :
 - Διαμοιραστή δείγματος (για τριχοειδείς στήλες)
 - Ένεση χωρίς διαμοιρασμό (για πληρωμένες στήλες)
 - Είσοδος δείγματος απευθείας στην στήλη

Το στόμιο εισόδου του συστήματος έγχυσης βρίσκεται πάντα σε υψηλότερη θερμοκρασία (περίπου 50°C μεγαλύτερο) σε σχέση με το σημείο βρασμού του λιγότερου πτητικού συστατικού του εκάστοτε δείγματος.

3. **Στήλη** : Η περιοχή η οποία περιέχει την στατική φάση και στην οποία επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός του δείγματος. Μπορεί να είναι τριχοειδείς ή πληρωμένες.
 - Πληρωμένες στήλες: Διατίθενται σε μήκος 2-3 m και συνήθως έχουν σπειροειδή μορφή διαμέτρου περίπου 15 cm. Κατασκευάζονται από χάλκινους, αλουμινίου, ανοξείδωτου χάλυβα ή υάλινους σωλήνες.
 - Τριχοειδείς στήλες: Συνήθως τριχοειδείς στήλες από τηγμένη πυριτία με επικάλυψη εσωτερικών τοιχωμάτων. Διατίθενται με εσωτερική διάμετρο 0.32 και 0,25 mm. Τελευταία έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται και στήλες με

εσωτερική διάμετρο 530 μm (Megabore Columns) προς μείωση μεγέθους του εισαγόμενου δείγματος.

4. **Ανιχνευτής:** Σύστημα που προσδιορίζει και ποσοτικοποιεί τα διαχωρισμένα συστατικά του δείγματος καθώς αυτά εκλούνται από τη στήλη. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι ανιχνευτών:

- Ανιχνευτής Ιοντισμού Φλόγας (Flame Ionization Detector/FID)
- Ανιχνευτής Θερμικής Αγωγιμότητας (Thermal Conductivity Detector/TCD)
- Ανιχνευτής Σύλληψης Ηλεκτρονίων (Electron Capture Detector/ECD)
- Ανιχνευτής Φωτοϊοντισμού (Photoionization Detector/PID)
- Φωτομετρικός Ανιχνευτής Φλόγας (Flame Photometric Detector/FPD)
- Ανιχνευτής Φασματογραφίας Μαζών (Mass Spectrometry Detector/MS) (Skoog et al., 2007).

Στάδια Αέριας Χρωματογραφίας

1. Το δείγμα εισάγεται στο σύστημα έγχυσης υπο την μορφή αερίου ή υγρού μέσω συστήματος διαμοίρασης ή χωρίς διαμοιρασμό.
2. Καθώς το δείγμα εισάγεται, μετατρέπεται σε αέριο καθώς το σύστημα έγχυσης έχει θερμοκρασία μεγαλύτερη από το σημείο βρασμού του λιγότερο πτητικού συστατικού του προσδιοριζόμενου δείγματος.
3. Το δείγμα μεταφέρεται μέσω της κινητής φάσης (Ηλιο, Υδρογόνο, Αργό, Άζωτο) στην στήλη που περιέχει την στατική φάση. Εδώ τα συστατικά του δείγματος αλληλεπιδρούν με το υλικό της στατικής φάσης και μετακινούνται με ταχύτητα ανάλογη της συγγένειας με το υλικό καθώς διαπερνούν την στήλη. Για διαχωρισμό ενώσεων με ευρεία περιοχή τιμών βρασμού, πραγματοποιείται προγραμματισμός θερμοκρασίας με σταδιακή αύξηση της κατά την διάρκεια της ανάλυσης.
4. Πραγματοποιείται προσδιορισμός των διαχωρισμένων συστατικών μέσω ανιχνευτή. Συνήθως χρησιμοποιείται ανιχνευτής FID ή MS.
5. Η απόκριση του ανιχνευτή εμφανίζεται ως χρωματογράφημα (Skoog et al., 2007).

6.2.4 Φασματομετρία Υπεριώδους – Ορατού (UV-Vis Spectroscopy)

Η φασματοσκοπία UV-Vis (Φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού) είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική τεχνική που μετρά την απορρόφηση υπεριώδους και ορατού φωτός από ένα δείγμα. Η μέθοδος αυτή παρέχει πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με την ηλεκτρονική δομή των μορίων, ιδίως όσον αφορά τον τρόπο με τον οποίο απορροφούν το φως σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Η φασματοσκοπία UV-Vis χρησιμοποιείται συνήθως στη χημική ανάλυση, τη βιοχημεία και την περιβαλλοντική επιστήμη για την ποιοτική και ποσοτική ανάλυση διαφόρων ενώσεων.

Βασικές Αρχές

Η φασματοσκοπία UV-Vis βασίζεται στην αρχή ότι όταν ένα μόριο απορροφά φως στην υπεριώδη (UV) ή ορατή (Vis) περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος, προκαλεί μια ηλεκτρονική μετάβαση στο εσωτερικό του μορίου. Αυτές οι μεταβάσεις περιλαμβάνουν συνήθως τη μετακίνηση ηλεκτρονίων από ένα μοριακό τροχιακό χαμηλότερης ενεργειακής κατάστασης (θεμελιώδη κατάσταση) σε ένα τροχιακό υψηλότερης ενεργειακής κατάστασης (διεγερμένη κατάσταση). Η ποσότητα του φωτός που απορροφάται σε κάθε μήκος κύματος καταγράφεται για την παραγωγή ενός φάσματος.

- Περιοχή UV: Η υπεριώδης περιοχή κυμαίνεται συνήθως από 190 nm έως 400 nm
- Ορατή περιοχή: Η ορατή περιοχή κυμαίνεται συνήθως από 400 nm έως 780 nm.

Το φάσμα που λαμβάνεται αντιπροσωπεύει την ποσότητα του φωτός που απορροφάται από το δείγμα σε κάθε μήκος κύματος, το οποίο μπορεί να συσχετιστεί με τη συγκέντρωση και τη δομή της ουσίας που αναλύεται.

Απορρόφηση

Τα μόρια απορροφούν συγκεκριμένα μήκη κύματος φωτός ανάλογα με την ηλεκτρονική τους δομή. Το απορροφούμενο φως αντιστοιχεί στην ενέργεια που απαιτείται για τη διέγερση ενός ηλεκτρονίου σε μια κατάσταση υψηλότερης ενέργειας.

Η σχέση μεταξύ της απορρόφησης (A), της διαπερατότητας T, της συγκέντρωσης (C), του μήκους διαδρομής (b) και της μοριακής απορροφητικότητας (ε) περιγράφεται από το νόμο Lambert-Beer :

$$A = -\log T = \epsilon b c$$

όπου

- A, η απορρόφηση
- T, η διαπερατότητα
- ε, η μοριακή απορροφητικότητα της ουσίας
- b, το μήκος της διαδρομής της ακτινοβολίας στο διάλυμα (cm)
- c, η συγκέντρωση της ουσίας που αναλύεται (mol/l) (Skoog et al., 2007).

Οργανολογία και στάδια Φασματομετρίας Υπεριώδους-Ορατού

1. **Πηγή φωτός:** Μια λυχνία Δευτερίου ή Υδρογόνου χρησιμοποιείται συνήθως ως πηγή για την υπεριώδη ακτινοβολία (190-400 nm) και μια λάμπα νήματος βολφραμίου για την ορατή και εγγύς υπέρυθρη (400-780 nm). Σε ορισμένα φασματοφωτόμετρα χρησιμοποιείται λυχνία τόξου Ξένου η οποία παράγει έντονη ακτινοβολία και δίνει συνεχές φάσμα εκπομπής στα 200-1000 nm.
2. **Μονοχρωμάτορας:** Μία συσκευή για ανάλυση της ακτινοβολίας σε επι μέρους μήκη κύματος. Η πηγή φωτός παράγει ένα ευρύ φάσμα φωτός που περιλαμβάνει διάφορα μήκη κύματος (από το υπεριώδες έως το ορατό φως). Ωστόσο, για να μετρηθεί η απορρόφηση ή η διαπερατότητα ενός δείγματος σε ένα συγκεκριμένο μήκος κύματος, το όργανο πρέπει να απομονώσει το συγκεκριμένο μήκος κύματος. Ο μονοχρωμάτορας εκτελεί αυτό το έργο επιλέγοντας ένα μήκος κύματος (ή ένα μικρό εύρος μηκών κύματος) από τη δέσμη φωτός που θα κατευθυνθεί στο δείγμα.
3. **Υποδοχή δείγματος :** Μία διαφανής κυψελίδα, όπου τοποθετείται το δείγμα προκειμένου να διαπεράσει το φως από μέσα του. Για μέτρηση στην υπεριώδη περιοχή χρησιμοποιούνται κυψελίδες χαλαζία ή τηγμένη πυριτία. Για μέτρηση στο ορατό χρησιμοποιούνται υάλινες ή πλαστικές κυψελίδες.
4. **Ανιχνευτής :** Μετρά την ένταση του εκπεμπόμενου φωτός αφού περάσει μέσα από το δείγμα. Οι κοινοί ανιχνευτές περιλαμβάνουν φωτοδιόδους, σωλήνα φωτοπολλαπλασιαστή (PMTs) ή μία διάταξη σύζευξης γραμμικού φορτίου.
5. **Επεξεργαστής δεδομένων :** Το σύστημα παράγει ένα φάσμα με βάση την έξοδο του ανιχνευτή, συνήθως χρησιμοποιώντας λογισμικό για τη γραφική παράσταση της απορρόφησης σε σχέση με το μήκος κύματος.

Ένα φασματοφωτόμετρο μπορεί να χαρακτηριστεί ως απλής δέσμης, διπλής δέσμης, διπλής δέσμης στον χρόνο και πολυδιαυλικό.

Απλής δέσμης χαρακτηρίζεται όταν όλη η ποσότητα του φωτός περνάει μέσα από την κυψελίδα του δείγματος.

Διπλής δέσμης χαρακτηρίζεται όταν η δέσμη διαμοιράζεται και η μία περνάει από το δείγμα αναφοράς ενώ η άλλη περνάει από το δείγμα. Η μέτρηση που εμφανίζεται είναι ο λόγος των εντάσεων των δύο ακτίνων..

Διπλής δέσμης στον χρόνο χαρακτηρίζεται όταν οι δέσμες χωρίζονται χρονικά μέσω ενός περιστρεφόμενου δίσκου με κατοπτρικούς και διαφανείς τομείς εναλλάξ. Οι κατοπτρικοί στέλνουν την δέσμη από τον μονοχρωμάτορα στην κυψελίδα αναφοράς, ενώ οι διαφανείς στην κυψελίδα δείγματος.

Ως πολυδιαυλικά αναφέρονται τα φασματοφωτόμετρα με ανιχνευτές διάταξης σύζευξης γραμμικού φορτίου. Μετά την κυψελίδα δείγματος τοποθετείται φασματογράφος οπτικού φάσματος ο οποίος αποτελεί το διασπείρον στοιχείο. Η ακτινοβολία σκεδάζεται και προσπίπτει τελικά στον ανιχνευτή συστοιχίας (Skoog et al., 2007).

Προετοιμασία Δείγματος

Τα καλλυντικά προϊόντα τα οποία κυκλοφορούν στην αγορά διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την σύνθεση αλλά και ως προς την τελική τους μορφή (υγρά, στερεά, κεριά, σκόνες κ.α). Το υψηλότερο ποσοστό περιεκτικότητας σε χρωστικές ουσίες παρουσιάζουν τα προϊόντα καλλωπισμού όπως κραγιόν, mascara, ρουζ, σκιές ματιών και τα βερνίκια νυχιών γι αυτό και οι περισσότερες μελέτες έχουν εστιάσει στις συγκεκριμένες μήτρες. Τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση της τάσης για μεθοδολογίες φιλικότερες προς το περιβάλλον γι αυτό κι ακολουθούνται στρατηγικές τεχνικών μικροεκχύλισης με μειωμένες ποσότητες διαλυτών ή εναλλακτικών λύσεων κοντά στις αρχές της πράσινης χημείας.

Η κύρια προτεραιότητα, κατά την προετοιμασία ενός δείγματος προς ανάλυση, παραμένει η αποτελεσματική εκχύλιση και ο αποτελεσματικός διαχωρισμός του προσδιοριζόμενου αναλύτη από τα υπόλοιπα συστατικά του καλλυντικού. Ως εκ τούτου οι προϋπάρχουσες τεχνικές όπως LLE (Liquid-Liquid Extraction) και SLE (Solid-Liquid Extraction) φαίνεται πως δεν μπορούν πλέον να ανταποκριθούν στις συγκεκριμένες ανάγκες. Με την χρήση των παραπάνω μεθόδων έχουν εμφανιστεί σαφή μειονεκτήματα όπως, συνεκχύλιση ουσιών, δημιουργία γαλακτώματος και χρήση μεγάλης ποσότητας επικίνδυνων τοξικών διαλυτών.

Πλέον έχουν αναπτυχθεί τεχνικές προετοιμασίας δείγματος οι οποίες μπορούν να καλύψουν μεγαλύτερο φάσμα προϊόντων στον τομέα της Κοσμητολογίας.

Εκχέλιση Στερεάς Φάσης (SPE/ Solid Phase Extraction)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης αποτελεί μία τεχνική η οποία χρησιμοποιείται συχνά ως εναλλακτική μέθοδο για τις τεχνικές LLE και SLE. Εδώ χρησιμοποιούνται μειωμένες ποσότητες οργανικών διαλυτών και λαμβάνονται σαφώς καθαρότερα εκχυλίσματα. Στα μειονεκτήματα της συγκαταλέγονται ο αυξημένος χρόνος εκχύλισης και η μερική απώλεια διαλυτών. Το σύστημα βασίζεται στην παγίδευση των επιλεγμένων ουσιών σε ένα κατάλληλο προσροφητικό υλικό, και απομάκρυνση τους μέσω κατάλληλου διαλύτη έκλουσης.

Κατά την τεχνική ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Το δείγμα προετοιμάζεται για την διαδικασία της εκχέλισης. Ενδέχεται να περιέχονται μικρά στερεά σωματίδια, γι αυτό το δείγμα φιλτράρεται προκειμένου να αφαιρεθούν τυχόν ακαθαρσίες.
- Το δείγμα φορτίζεται σε μία κάψουλα, στήλη ή φυσίγγι η οποία περιέχει στερεό υλικό προσρόφησης. Ο τύπος του προσροφητικού υλικού εξαρτάται από την φύση των αναλυτών που θέλουμε να απομονώσουμε. Επιλέγονται συνθετικά πολυμερικά υλικά (MIPs), στήλες με υδροφοβικές ιδιότητες (C18, C8), ενεργός άνθρακας, ιοντοεναλλακτικές ρητίνες, νανοσωλήνες πολλαπλών τοιχωμάτων άνθρακα κ.α.
- Το δείγμα περνάει μέσα από την στήλη, όπου οι ουσίες προσροφώνται στο υλικό.
- Η κάψουλα εκπλένεται με κατάλληλο διαλύτη για απομάκρυνση των ουσιών πέραν των αναλυτών. Χρησιμοποιούνται διαλύτες χαμηλής πολικότητας, αλκόολες, ακετόνη, μίγμα νερού-μεθανόλης, χλωροφόρμιο, διχλωρομεθάνιο.
- Το δείγμα εκπλένεται εκ νέου με κατάλληλο διαλύτη για αποδέσμευση των αναλυτών από την στήλη. Ανάλογα με την πολικότητα των αναλυτών επιλέγεται ως διαλύτης ακετόνη, ακετονιτρίλιο, μεθανόλη, ισοπροπανόλη, διχλωρομεθάνιο, μίγμα νερού και οργανικών διαλυτών, πολυμερικοί και ιοντικοί διαλύτες (Buszewski et al., 2012; Hennion, 1999; Supelco, 1998).

Διαφορετικές μέθοδοι και μηχανισμοί αλληλεπίδρασης SPE

Μικροεκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPME)

Η μικροεκχύλιση στερεάς φάσης (SPME) είναι μια ευέλικτη αναλυτική τεχνική, παραλλαγή της SPE, που χρησιμοποιείται για την προετοιμασία και την εκχύλιση δειγμάτων, κυρίως για την ανάλυση πτητικών και ημι-πτητικών ενώσεων. Περιλαμβάνει τη χρήση μιας μικρής ίνας πυριτίου επικαλυμμένης με ένα υλικό στερεάς φάσης που προσροφά τους αναλυτές-στόχους από ένα δείγμα. Η ίνα εισάγεται στη συνέχεια σε ένα αναλυτικό όργανο, όπως η αέρια χρωματογραφία (GC) ή η υγρή χρωματογραφία (HPLC), για διαχωρισμό και ανίχνευση. Η SPME αποτελεί μία απλή, γρήγορη και αποτελεσματική τεχνική χωρίς την απαίτηση χρήσης πολύπλοκου εξοπλισμού αλλά και εκτεταμένης προετοιμασίας του δείγματος. Εδώ δεν χρησιμοποιούνται διαλύτες καθιστώντας την μία μέθοδο φιλικότερη προς το περιβάλλον. Η SPME θεωρείται εξαιρετικά ευαίσθητη και είναι ικανή να ανιχνεύει χαμηλές συγκεντρώσεις αναλυτών σε πολύπλοκα δείγματα.

Η SPME λειτουργεί με βάση την αρχή του καταμερισμού ή της προσρόφησης των αναλυτών στο υλικό στερεάς φάσης της ίνας. Αυτή είναι συνήθως επικαλυμμένη με υλικά όπως η πολυδιμεθυλοσιλοξάνη (PDMS) ή το διβινυλοβενζόλιο (DVB), νανοσωλήνες άνθρακα κ.α. Η ίνα εκτίθεται στο δείγμα και οι αναλύτες κατανέμονται κατά μήκος της από την μήτρα του δείγματος (υγρή, στερεή ή αέρια). Μετά την εκχύλιση, εισάγεται στην είσοδο ενός αναλυτικού οργάνου (συνήθως GC ή HPLC), όπου οι αναλύτες εκροφώνται θερμικά ή απελευθερώνονται χημικά από την ίνα προς ανίχνευση.

Κατηγορίες SPME

- **DI-SPME (Direct Immersion Solid Phase Micro Extraction)** : Η σύριγγα που περιέχει την ίνα βυθίζεται απευθείας μέσα στο προσδιοριζόμενο δείγμα
- **HS-SPME (Headspace Solid Phase Micro Extraction)** : σύριγγα βυθίζεται και αφήνεται στον διάκενο χώρο προκειμένου να εκχυλίσει πτητικές ενώσεις που έχουν εξατμιστεί πάνω από το δείγμα
- **MP-SPME (Membrane Protected Solid Phase Micro Extraction)** : Ενσωματώνεται μια μεμβράνη για την προστασία της ίνας στερεάς φάσης κατά τη διαδικασία εκχύλισης. Η μεμβράνη λειτουργεί ως φράγμα, επιτρέποντας μόνο σε ορισμένους

αναλυτές να αλληλεπιδράσουν με την ίνα, γεγονός που μπορεί να ενισχύσει την επιλεκτικότητα και τον έλεγχο της διαδικασίας εκχύλισης.

Παραλλαγές SPME

- ***MSPD (Matrix Solid Phase Dispersion)***

Αποτελεί μια ισχυρή και αποτελεσματική τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση και την προσυγκέντρωση αναλυτών από στερεές μήτρες. Η αρχή της MSPD περιλαμβάνει τη διασπορά ενός στερεού δείγματος με ένα προσροφητικό υλικό για τη βελτίωση της εκχύλισης των αναλυτών. Εν αρχή το στερεό δείγμα ομογενοποιείται προς αύξηση της επιφάνειας και εξασφάλιση της ομοιομορφίας της μήτρας. Στην συνέχεια προστίθεται προσροφητικό υλικό (C18, Si) και μαζί με το δείγμα τριβελίζονται προς καλύτερη διασπορά. Στην συνέχεια προστίθεται ο κατάλληλος διαλύτης (οργανικοί διαλύτες όπως ακετόνη, μεθανόλη, διχλωρομεθάνιο). Μετά την εκχύλιση, το δείγμα φιλτράρεται προς απομάκρυνση της στερεάς μήτρας και άλλων σωματιδίων. Το διηθημένο εκχύλισμα (το οποίο περιέχει τους αναλυτές) είναι στη συνέχεια έτοιμο για περαιτέρω ανάλυση. Παραλλαγή της MSPD αποτελεί η MSPMD (Micro Matrix Solid Phase Extraction) η οποία χρησιμοποιείται σε αναλύσεις μικρότερης κλίμακας με περιορισμένες ποσότητες δειγμάτων, προσροφητικού υλικού και διαλυτών (Buszewski et al., 2012; Hennion, 1999; Supelco, 1998).

Μικροεκχύλιση Υγρής Φάσης (LPME)

Η μικροεκχύλιση υγρής φάσης (LPME) είναι μια αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση αναλυτών από υγρά δείγματα με τη χρήση ελάχιστων όγκων οργανικού διαλύτη. Η LPME είναι μια μικροσκοπική εκδοχή της παραδοσιακής εκχύλισης υγρού-υγρού (LLE), αλλά λειτουργεί σε πολύ μικρότερη κλίμακα, χρησιμοποιώντας συνήθως μικρόλιτρα οργανικού διαλύτη. Η χρήση ελάχιστου όγκου διαλύτη μειώνει τις ανησυχίες για την περιβαλλοντική ασφάλεια που σχετίζονται με τη χρήση και τη διάθεση μεγάλων ποσοτήτων οργανικών διαλυτών και παρέχει μια πιο βιώσιμη προσέγγιση για την προετοιμασία δειγμάτων.

Η βασική αρχή της τεχνικής LPME στηρίζεται στην κατανομή των αναλυτών ανάμεσα στη μήτρα ενός δείγματος και στον διαλύτη εκχύλισης. Ο συγκεκριμένος διαλύτης δεν είναι

συνήθως αναμίξιμος και συμβατός με την μήτρα του δείγματος και οι ουσίες προς ανάλυση, ανάλογα με την συγγένεια τους προς κάθε φάση, κατατάσσονται μεταξύ των 2 φάσεων. Η διαδικασία εκχύλισης δύναται να βελτιωθεί μέσω παραμέτρων όπως ανάδευση, pH και η θερμοκρασία.

Κατηγορίες LPME

- **SDME (Single Drop Micro Extraction):** Η SDME είναι ένας τύπος τεχνικής εκχύλισης LPME που χρησιμοποιεί μία μόνο σταγόνα οργανικού διαλύτη για την εξαγωγή αναλυτών από ένα υγρό δείγμα. Μια σταγόνα οργανικού διαλύτη τοποθετείται στο άκρο μιας μικροσύριγγας, η οποία στη συνέχεια βυθίζεται στο υδατικό δείγμα (DI-SDME/ Direct Immersion SDME). Οι αναλύτες στο υδατικό διάλυμα διαχέονται στην σταγόνα λόγω αυξημένης συγγένειας τους προς τον διαλύτη σε σχέση με το υδατικό διάλυμα και κατανέμονται σύμφωνα με το συντελεστή κατανομής της κάθε μίας. Έπειτα η σύριγγα απομακρύνεται και μεταφέρεται στο σύστημα χρωματογραφίας. Η HS-SDME (Headspace SDME) και η TP-SDME (Three Phase SDME) αποτελούν ακόμα 2 παραλλαγές της τεχνικής εκχύλισης, Η HS-SDME αποτελεί την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδο ανάμεσα στις 3, κατά την οποία η σταγόνα τοποθετείται στο διάκενο χώρο. Με τον τρόπο αυτό εξαλείφονται οι παρεμβολές σε σύνθετα μίγματα και περιορίζεται η ανάγκη για ανάδευση του δείγματος. Στην TP-SDME, οι αναλύτες προεκχυλίζονται από μία υδατική φάση σε μία ενδιάμεση με οργανικό διαλύτη, και εκχυλίζονται ξανά σε μία σταγόνα υδατικού δέκτη. Χρησιμοποιείται κυρίως σε πολύπλοκα δείγματα για πιο επιλεκτικό διαχωρισμό.
- **HF-LPME (Hollow Fiber Liquid Phase Phase Micro Extraction) :** Η HF-LPME λειτουργεί με τη χρήση μιας μεμβράνης διάκενης ίνας που είναι γεμάτη με έναν οργανικό διαλύτη, ο οποίος λειτουργεί ως φάση εκχύλισης. Οι αναλύτες από την υδατική φάση στο δείγμα διαχέονται μέσω του τοιχώματος της μεμβράνης στη φάση του οργανικού διαλύτη μέσα στην διάκενη ίνα.. Η έκταση της διάχυσης εξαρτάται από τη συγκέντρωση, τη διαλυτότητα και τον συντελεστή κατανομής των αναλυτών μεταξύ του δείγματος και της φάσης του διαλύτη. Ο διαλύτης στο εσωτερικό της ίνας είναι συνήθως μη αναμίξιμος με τη μήτρα του δείγματος (π.χ. νερό) και οι αναλύτες μεταναστεύουν κατά προτίμηση στην οργανική φάση με βάση τη διαλυτότητά τους και τις χημικές τους ιδιότητες.

- ***DLLME (Dispersive Liquid Liquid Micro Extraction)*** : Η μικροεκχύλιση υγρού-υγρού διασποράς (DLLME) είναι μια εξαιρετικά αποδοτική, οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον τεχνική προετοιμασίας δειγμάτων που χρησιμοποιείται για την εξαγωγή αναλυτών από υγρά δείγματα. Η DLLME είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για την εξαγωγή ιχνοποσοτήτων αναλυτών από υδατικές μήτρες. Η DLLME βασίζεται στην αρχή της εκχύλισης υγρού-υγρού (LLE), αλλά εκτελείται σε μικροκλίμακα. Περιλαμβάνει τη χρήση ενός διαλύτη διασποράς (ακετόνη, μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο) προς σχηματισμό μικρογαλακτώματος μικρών σταγονιδίων του διαλύτη εκχύλισης (τετραχλωροάνθρακας, διχλωρομεθάνιο, χλωροφόρμιο) στο υδατικό δείγμα, το οποίο αυξάνει την επιφάνεια επαφής μεταξύ του οργανικού διαλύτη και των αναλυτών. Στη συνέχεια, οι αναλυτές εκχυλίζονται από την υδατική φάση στην οργανική φάση με βάση τη διαλυτότητά τους και τον συντελεστή κατανομής τους. Ακολουθεί φυγοκέντριση προς καθίζηση των διεσπαρμένων σωματιδίων του διαλύτη εκχύλισης και συλλογή της φάσης εκχύλισης με σύριγγα προς ανάλυση. Και σε αυτή την τεχνική χρησιμοποιείται ελάχιστη ποσότητα μη τοξικών ή χαμηλής τοξικότητας διαλυτών και χαρακτηρίζεται από καλή αποτελεσματικότητα, υψηλή ευαισθησία και ελάχιστου χρόνου εκχυλιστικής διαδικασίας. Παραλλαγή της συγκεκριμένης μεθόδου αποτελεί η Μικροεκχύλιση Ιοντικού Υγρού Διασποράς Υγρού Υγρού η οποία ενσωματώνει ιοντικά υγρά ως διαλύτη εκχύλισης, προσφέροντας αρκετά πλεονεκτήματα έναντι των παραδοσιακών οργανικών διαλυτών, όπως αυξημένη εκλεκτικότητα, χαμηλότερη τοξικότητα και καλύτερη απόδοση εκχύλισης για ορισμένους αναλυτές.
- ***AALLME (Air Assisted Liquid Liquid Micro Extraction)*** : Η AALLME (Μικροεκχύλιση υγρού-υγρού με τη βοήθεια αέρα) είναι μια τεχνική εκχύλισης που συνδυάζει στοιχεία τόσο της μικροεκχύλισης υγρού-υγρού (LLME) όσο και των μεθόδων εκχύλισης με τη βοήθεια αέρα. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται κυρίως για την εκχύλιση αναλυτών από υδατικά δείγματα σε φάση οργανικού διαλύτη, αξιοποιώντας τον αέρα για την υποβοήθηση της διαδικασίας εκχύλισης. Στο δείγμα εισάγεται πεπιεσμένος αέρας, ο οποίος δημιουργεί φυσαλίδες ή μικροσκοπικά σταγονίδια του διαλύτη εκχύλισης που είναι διασκορπισμένα σε όλη την υδατική φάση. Ο αέρας προάγει την καλύτερη επαφή μεταξύ του υδατικού δείγματος και του διαλύτη αυξάνοντας την επιφάνεια για αλληλεπίδραση.

Οι φυσαλίδες αέρα βοηθούν επίσης στην ανάδευση του μείγματος, βελτιώνοντας τη μεταφορά μάζας και την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης, οδηγώντας σε αποτελεσματικότερη εκχύλιση των αναλυτών. Παραλλαγή της αποτελεί η μέθοδος OS-AALLME (Organic Solvent Assisted -AALLME), η οποία ενσωματώνει τη χρήση ενός οργανικού διαλύτη για την ενίσχυση της διαδικασίας εκχύλισης σε συνδυασμό με τη βοήθεια αέρα. Η συμπερίληψη ενός οργανικού διαλύτη ως φάση διασποράς βελτιστοποιεί τη μεταφορά μάζας και τον καταμερισμό των αναλυτών από την υδατική φάση στην οργανική φάση (Przyjazny, 2019; Nuhu et al., 2011; Xu et al., 2018).

6.3 Εφαρμογές Μεθόδων Προσδιορισμού Χρωστικών

Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, ο προσδιορισμός χρωστικών σε καλλυντικά προϊόντα περιορίζεται αρκετά ως προς τις τεχνικές ανάλυσης σε σχέση με άλλες ουσίες που περιλαμβάνονται σε αυτά όπως τα συντηρητικά και τα φίλτρα UV. Οι κύριοι λόγοι ανάπτυξης αναλυτικών μεθοδολογιών προς έλεγχο χρωστικών είναι : οι διαφορετικές κανονιστικές απαιτήσεις ως προς την χρήση χρωστικών σε καλλυντικά προϊόντα μεταξύ των κύριων αγορών (Ευρώπη, Αμερική, Ασία, Αυστραλία), η διασφάλιση μη χρήσης απαγορευμένων χρωστικών, η διασφάλιση χρήσης επιτρεπόμενων χρωστικών μέσα σε συγκεκριμένα όρια συγκέντρωσης, η εξασφάλιση αναγραφής της σωστής και αληθούς πληροφορίας στην ετικέτα του προϊόντος και η διατήρηση της υψηλής ποιότητας του προϊόντος.

Στο πλαίσιο αυτό, το 1997, οι Rastogi et al. προσπάθησαν να δημιουργήσουν μία βιβλιοθήκη, αποτελούμενη από τους χρόνους κατακράτησης καθώς και τα φάσματα UV-Vis, 130 οργανικών χρωστικών με στόχο την ταυτοποίηση τους σε διάφορες καλλυντικοτεχνικές μορφές όπως κραγιόν, βερνίκια νυχιών, σαμπουάν, αποσμητικά roll-on, λοσιόν και κρέμες.

Οι ερευνητές προσδιόρισαν τις χρωστικές με μία μέθοδο βασισμένη σε ανάλυση HPLC συζευγμένη με ανιχνευτή DAD και έπειτα από επεξεργασία του δείγματος με εκχύλιση στερεάς φάσης (SPE). Για τα υγρές μορφές καλλυντικών, καθώς αποτελούν σχετικά απλές μήτρες, προχώρησαν σε ανάλυση, χωρίς περαιτέρω επεξεργασία, με έκχυση έως 50 μL κάθε δείγματος. Σε αντίθεση οι στερεές και κρεμώδεις μορφές, καθώς αποτελούν πιο σύνθετες μήτρες, εκχυλίστηκαν με την μέθοδο SPE και συγκεκριμένα :

- **Για τα κραγιόν:** Σε δοχεία των 25 mL προστέθηκαν 1 g από κάθε κραγιόν, 8 mL αντιδραστήριο διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF/H⁺) και ορισμένοι κόκκοι για την διασφάλιση ομαλού και ελεγχόμενου βρασμού. Τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 90 °C για 15 λεπτά και στην συνέχεια αφέθηκαν για ψύξη προκειμένου να τοποθετηθούν επιπλέον 4 mL υδροξειδίου του τετραβουτυλοαμμωνίου (TBAH) 0.1 mol L⁻¹ και έπειτα να φυγοκεντρηθούν στις 1200 g για 5 λεπτά. Για την εκχείλιση στερεάς φάσης χρησιμοποιήθηκε φυσίγγιο αμινοδεσμευμένου πυριτίου το οποίο εκπλύθηκε με 5 mL ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού άλατος-TBAH /ακετονιτρίλιο/ τετραυδροφουράνιο. Αφού τοποθετήθηκαν 2,3 mL του εκχυλίσματος χρωστικής στο φυσίγγιο, το δείγμα κλασματοποιήθηκε ακολουθώντας 4 βήματα έκλουσης χρησιμοποιώντας ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού άλατος/ακετονιτρίλιου/τετραυδροφουρανίου σε αναλογία 75:12,5:12,5 v/v για το 1^ο βήμα, 0,2 mol /L καυστικό νάτριο για το 2^ο βήμα, ρυθμιστικό διάλυμα ακετονιτρίλιου/τετραυδροφουρανίου σε αναλογία 75/12,5/12,5 v/v για το 3^ο βήμα και ρυθμιστικό διάλυμα ακετονιτρίλιου/τετραυδροφουρανίου σε αναλογία 50:50 για το τελευταίο βήμα.
- **Για τα βερνίκια νυχιών:** Σε ποτήρι ζέσεως προστέθηκε 1 g από το κάθε βερνίκι, 5 mL μεθανόλης. Το δείγμα στην συνέχεια υποβλήθηκε, για 15 λεπτά, σε υπερήχους, φυγοκεντρήθηκε στις 1200 g για 5 λεπτά και στην συνέχεια 2,3 mL του εκχυλίσματος χρωστικής προστέθηκαν στο φυσίγγιο αμινοδεσμευμένου πυριτίου για εκχείλιση σύμφωνα με το ίδιο σχήμα διαλυτών όπως στα κραγιόν.
- **Για τα σαμπουάν/αποσμητικά roll-on :** Σε δοχείο προστέθηκαν 5 g από το κάθε δείγμα και αναμείχθηκαν με 25 mL μεθανόλης. Στην συνέχεια το δείγμα φορτώθηκε σε φυσίγγιο SPE , C 18, το οποίο είχε πρώτα εκπλυθεί με 20 mL μεθανόλης, και εκλούστηκε με αναρρόφηση υπό κενό. Αφού απορρίφθηκαν τα πρώτα 5 mL της έκλουσης, το υπόλοιπο συμπυκνώθηκε σε 4 mL με περιστροφικό εξατμιστή προς αποφυγή δημιουργίας αφρού.
- **Για τις κρέμες/ lotion :** Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με τα σαμπουάν και τα αποσμητικά roll on.

Για τον διαχωρισμό των ουσιών με HPLC χρησιμοποιήθηκε κινητή φάση ρυθμιστικού διαλύματος κιτρικού άλατος-τετραβουτυλοαμμωνίου/ακετονιτρίλιου/τετραυδροφουρανίου και βαθμιδωτή έκλουση. Πριν την ανάμειξη τα συστατικά της κινητής φάσης απαερώνονταν με He. Ο προσδιορισμός των χρωστικών πραγματοποιήθηκε βασισμένος στους χρόνους

κατακράτησης της κάθε ουσίας και στα ορατά φάσματα τους από την υπεριώδη ακτινοβολία σε όλο το εύρος μήκους κύματος από 275 έως 760 nm προκειμένου να εξασφαλιστεί πως θα ανιχνευθούν ακόμα και ουσίες με πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Τα χρωματογραφικά δεδομένα επεξεργάστηκαν έτσι ώστε κάθε κορυφή να αντιπροσωπεύει το λ_{\max} της κάθε εκλούμενης ουσίας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως, παρόλο που δεν υπάρχει κάποια συγκεκριμένη μέθοδος για τον προσδιορισμό χρωστικών σε όλους του τύπους καλλυντικών προϊόντων, η μέθοδος HPLC-DAD κρίνεται ως η καταλληλότερη για την ταυτοποίηση των περισσότερων οργανικών χρωστικών σε καλλυντικά προϊόντα (Rastogi et al., 1997).

Στο ίδιο μήκος κύματος οι Guerra et al. (2015) πρότειναν μία μέθοδο για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό γνωστών συνθετικών χρωστικών ανάμεσα σε μία ευρεία γκάμα καλλυντικών προϊόντων. Οι συγγραφείς ανέπτυξαν την μέθοδο LC-MS/MS βασισμένη σε μικρό διασπορά μήτρας στερεής φάσης (Micro-MSPD) για τον προσδιορισμό 9 συνθετικών χρωστικών σε διάφορα προϊόντα καλλυντικών, ξεφεύγοντας από τις παραδοσιακές μεθόδους ,που χρησιμοποιούσαν μέχρι πρότινος LC συζευγμένη με ανιχνευτές DAD ή Uv-Vis, χαρίζοντας τους αυξημένη ευαισθησία και επιλεξιμότητα.

Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν οι χρωστικές Acid Orange 7, Acid Violet 43, Brilliant Blue FCF, Acid Red 42, Ταρτραζίνη, Allura Red AC, Κινολίνη, Sunset Yellow FCF και Ponceau SX σε προϊόντα καλλυντικών όπως βάλαμο χειλιών, σκιές ματιών, βερνίκια νυχιών, οδοντόκρεμες, σαμπουάν και make up.

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα φιαλίδια των 10 ml στα οποία τοποθετήθηκαν 0,1 g του κάθε δείγματος καλλυντικού προϊόντος. Σε ορισμένες περιπτώσεις χρειάστηκε εμπλουτισμός κάποιων δειγμάτων με 10 μ L από το αντίστοιχο δείγμα εργασίας προκειμένου να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση. Στην συνέχεια το κάθε δείγμα αναμείχθηκε με 0,3 g άνυδρου Na_2SO_4 και 0,4 g απορροφητικού μέσου διασποράς Florisil και μεταφέρθηκε σε πιπέτα Pasteur με μικρή ποσότητα υαλοβάμβακα στο κάτω μέρος της, η οποία περιείχε μικρή ποσότητα Florisil για περαιτέρω καθαρισμό του δείγματος. Εκτός του Florisil ως απορροφητικό μέσο, χρησιμοποιήθηκαν επίσης άμμος και C18 προκειμένου να ελεγχθεί η ικανότητα τους να εκχυλίζουν χρωστικές ουσίες στόχους. Η έκλυση πραγματοποιήθηκε αργά και σταθερά με την χρήση της βαρύτητας χρησιμοποιώντας ως διαλύτη μεθανόλη αλλά

δοκιμάστηκε και το ακετονιτρίλιο. Σε αρκετές των περιπτώσεων χρησιμοποιήθηκαν ως διαλύτες και μείγμα νερού/ μεθανόλης σε αναλογία 1:1 v/v ή ακετόνης. Συλλέχθηκαν 2 mL εκχυλίσματος χρωστικής τα οποία αραιώθηκαν επιπλέον 1:5 στην κινητή φάση και επιπλέον διηθήθηκαν πριν την χρωματογραφική ανάλυση με την χρήση φίλτρου σύριγγας 0,22 μm PTFE.

Για την χρωματογραφική ανίχνευση χρησιμοποιήθηκε σύστημα με αυτόματο δειγματολήπτη εκχέοντας δείγματα της τάξης των 10 μL καθώς και στήλη C18, 1,9 μm , 100 mm x 2.1 mm με ρυθμό ροής 200 $\mu\text{L min}^{-1}$, σε θερμοκρασία 30° C. Το σύστημα της κινητής φάσης αποτελούνταν από νερό και μεθανόλη. Για την ανίχνευση χρησιμοποιήθηκε τετραπολικό φασματοφωτόμετρο μάζας (MS/MS) εξοπλισμένο με ιονισμό θερμαινόμενου ηλεκτροψεκασμού (HESI II).

Τα αποτελέσματα έδειξαν άκρως επιτυχημένο διαχωρισμό χρησιμοποιώντας σύστημα micro MSPD και LC-MS/MS για την ταυτοποίηση συνθετικών χρωστικών ουσιών σε μήτρες καλλυντικών του εμπορίου. Οι παράμετροι επαναληψιμότητα, γραμμικότητα και αναπαραγωγιμότητα κρίθηκαν ικανοποιητικές με τιμές τυπικής απόκλισης RSD <16%.

Η προτεινόμενη μέθοδος micro MSPD εν τέλει θεωρήθηκε επιτυχημένη καθώς μείωσε τον χρόνο προετοιμασίας των δειγμάτων, την κατανάλωση διαλυτών, δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό και εφαρμόζεται σε οποιαδήποτε αναλυτικό εργαστήριο με εξαιρετικά χαμηλό κόστος. Οι μεγαλύτερες και καλύτερες αναλυτικές αποκρίσεις επιτεύχθηκαν με την χρήση των απορροφητικών μέσων Florisil και άμμου.

Επίσης η μεθανόλη, ως διαλύτης έκλουσης φάνηκε πως μπορεί να παρέχει τις καλύτερες αναλυτικές αποκρίσεις και μάλιστα εμφανίζοντας εμφανής και σαφείς διαφορές σε σχέση με το ακετονιτρίλιο.

Η ταρτραζίνη εμφανίστηκε ως η πιο συχνά ανευρεθείσα χρωστική στα προσδιοριζόμενα προϊόντα καλλυντικών. Επίσης παρουσιάστηκαν σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις Sunset Yellow FCF και Κινολίνης (>100 $\mu\text{g g}^{-1}$) σε προϊόντα όπως κραγιόν και σαμπουάν ενώ σε προϊόντα στοματικής υγιεινής συγκεντρώσεις Κινολίνης άνω των 500 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Guerra et al., 2015).

Οι ίδιοι συγγραφείς (Guerra et al.) το 2017 επανήλθαν με νέα έρευνα χρησιμοποιώντας την ίδια τεχνική micro MSPD και χρωματογραφία LC-MS/MS για τον προσδιορισμό, αυτή την

φορά, 19 χρωστικών συμπεριλαμβανομένων και χρωστικών ουσιών οι οποίες έχουν απαγορευτεί πλέον για χρήση σε καλλυντικά προϊόντα όπως η Ροδαμίνη Β σε προϊόντα τα οποία χρησιμοποιούνται κυρίως από παιδιά όπως παιδικό σαμπουάν παιδική οδοντόκρεμα, βαφές προσώπου, σκιάς ματιών, βερνίκια νυχιών και βάλσαμο χειλιών.

Αυτή την φορά η διαδικασία προετοιμασίας δείγματος βελτιστοποιήθηκε με αντικατάσταση της πιπέτας Pasteur με σύριγγα των 2 mL προκειμένου να επιτευχθεί επαρκής έκλυση του διαλύτη και χρησιμοποιώντας πλέον ως απορροφητικό μέσο 0,1 g C18. Το εκχύλισμα και εδώ αραιώθηκε περαιτέρω κατά 1:10 στην κινητή φάση και διηθήθηκε μέσω φίλτρου σύριγγας 0,22 μm. Ως διαλύτης έκλυσης χρησιμοποιήθηκε και εδώ μεθανόλη αλλά και ακετονιτρίλιο, μείγμα μεθανόλης-ακετονιτρίλιου (1:1), μείγμα ακετονιτρίλιου-μεθανόλης-νερού σε αναλογία 1:1:1 v/v, μείγμα ακετόνης-νερού σε αναλογία 1:1 v/v, μείγμα ακετόνης-ακετονιτρίλιου σε αναλογία 1:1 και ακετόνη-μεθανόλη 1:1 v/v.

Για την χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το ίδιο σύστημα χρωματογραφίας με στήλη C18, 2,6 μm, 100 mm x 2,1 mm σε ροή 200 μL min⁻¹, στους 30° C και με αυτόματο δειγματολήπτη. Επίσης δοκιμάστηκε στήλη C18, 1,9 μm, 100 mm x 2,1 mm. Η κινητή φάση που επιλέχθηκε αποτελούταν από μείγμα διαλύτη νερού (το οποίο περιείχε οξικό αμμώνιο) και μεθανόλης.

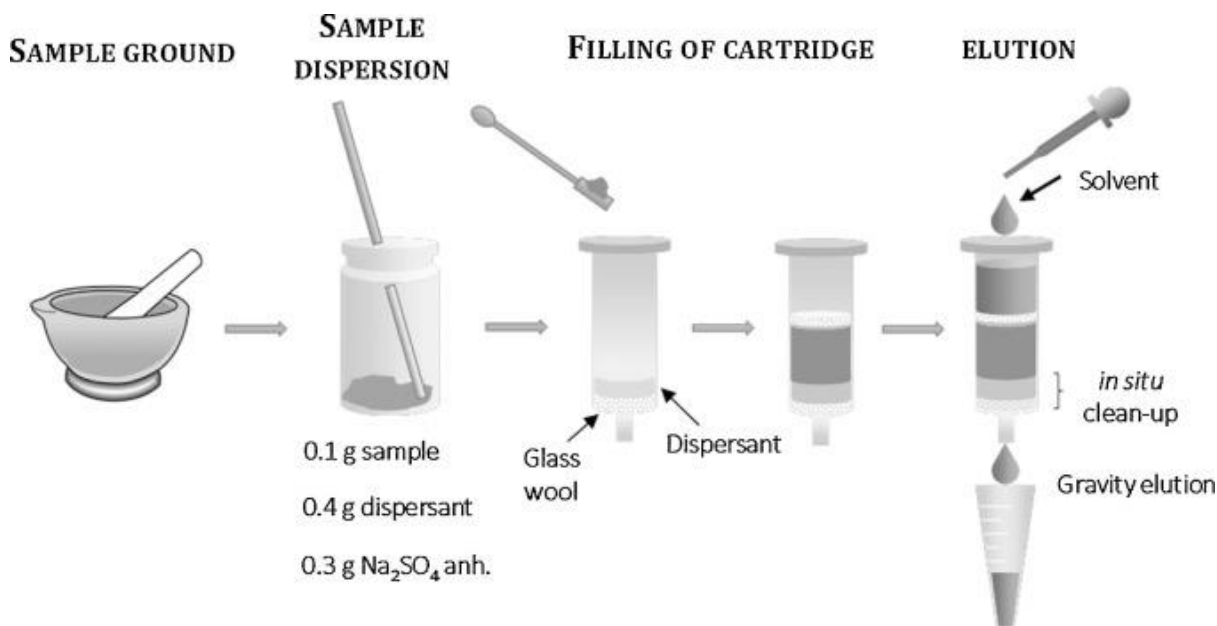
Η μέθοδος πρόσφερε καλή γραμμικότητα με $R > 0.9928$, καλή αναπαραγωγιμότητα με τυπική απόκλιση <15% και καλή επαναληψιμότητα. Το LOD της μεθόδου ήταν <0,476 μg g⁻¹ για τα δείγματα των καλλυντικών.

Και εδώ η μεθανόλη αποτέλεσε τον αποτελεσματικότερο διαλύτη έκλυσης αναφορικά με την συμβατότητα της με την κινητή φάση αλλά και την αποτελεσματικότερη εκχύλιση που προσέφερε.

Το απορροφητικό μέσο C18, ενώ δεν είχε δώσει καλά αποτελέσματα με την ταυτόχρονη χρήση του με πιπέτα Pasteur, στην συγκεκριμένη έρευνα, με την χρήση σύριγγας 2 mL κατάφερε να επιτρέψει επαρκή και αποτελεσματικότερη έκλυση του διαλύτη και ως εκ τούτου συνίσταται για τις συγκεκριμένες προσδιοριζόμενες χρωστικές ουσίες.

Η χρωματογραφική μέθοδος κατέδειξε την παρουσία των στόχων CI 13065, CI 14700, CI 14720, CI 15510, CI 15985, CI 16035, CI 16185, CI 16255, CI 19140, CI 42051, CI 42090, CI

42640, CI 44090, CI 45170, CI 45410, CI 45430, CI 47005, CI 60730, CI 73015 σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των $100 \mu\text{g g}^{-1}$ και σε αρκετές των περιπτώσεων σε ποσοστά υψηλότερα από τα επιτρεπόμενα όρια (Guerra et al., 2017).



Εικόνα 16. Διαδικασία Μικρό Διασποράς Μήτρας Στερεής Φάσης

Μία μέθοδο βασισμένη σε HPLC συζευγμένη με ανιχνευτή DAD, ανέπτυξαν οι Franco et al. για τον προσδιορισμό 5 ημιμόνιμων χρωστικών (Basic Blue 99, Acid Violet 43, Basic Brown 16, Basic Red 76 και Basic Yellow 57) σε ημιμόνιμες βαφές μαλλιών. Οι συγγραφείς προχώρησαν σε επικύρωση των αποτελεσμάτων με LC-MS/MS, οπότε προέκυψε μέσα από την έρευνα τους μία σύγκριση των μεθόδων.

Για την προετοιμασία των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε εκχέλιση στερεάς φάσης με φυσίγγιο Strata X 33U αντίστροφης φάσης με διαστάσεις 200 mg/3 mL.

1,0 g από το κάθε δείγμα αναμείχθηκε με σορβιτόλη, εκχύλισμα φυκιών, EDTA, κιτρικό οξύ, βενζυλική αλκοόλη και 3-χλωρο-2-υδροξυπροπυλοτριμεθυλαμμώνιο χλωρίδιο και τοποθετήθηκε σε δοχείο για αραίωση με 10 mL νερό. Το δείγμα προχώρησε σε εκχύλιση με απορροφητικό Strata X και διαλύτη έκλουσης το μείγμα ακετονιτρίλιο/νερό σε αναλογία

50:50. Στην συνέχεια λήφθηκαν 100 mL του εκχυλίσματος και το δείγμα αναλύθηκε με HPLC – DAD.

Για την χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε σύστημα αυτόματου δειγματολήπτη και στήλη αντίστροφης φάσης C18, 25 cm x 4.6 mm x 5 μ m, 100 Å), συνδεδεμένη με προ στήλη C18, 1 cm x 4,6 mm x 5 μ m, 100 Å)

Οι συνθήκες της ισοκρατικής έκλουσης ήταν ακετονιτρίλιο/ νερό σε αναλογία 65:35 v/v, 2 mL διαλύματος BMIM[NTF2] 0.040 mol L⁻¹, με ταχύτητα ροής 0.4 mL min⁻¹ και θερμοκρασία στήλης 40° C. Ο χρόνος ανάλυσης υπολογίστηκε στα 40 λεπτά.

Τα εκχυλίσματα αναλύθηκαν με HPLC – DAD και στην συνέχεια τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν με την χρήση LC-MS/MS.

Η μέθοδος έδειξε εξαιρετικά αποτελέσματα και επιτρέπει τον ταυτόχρονο και αποτελεσματικό προσδιορισμό χρωστικών σε ημιμόνιμες βαφές μαλλιών σε ιδιαίτερα χαμηλές συγκεντρώσεις καθώς εμφάνισε χαμηλά όρια ανίχνευσης

- 2,98 10⁻⁷ mol L⁻¹ για Basic Blue 99
- 2,71 10⁻⁷ mol L⁻¹ για Acid Violet 43
- 0,53 10⁻⁷ mol L⁻¹ για Basic Brown 16
- 2,91 10⁻⁷ mol L⁻¹ για Basic Red 76
- 1,09 10⁻⁷ mol L⁻¹ για Basic Yellow 57

Η προσθήκη του διαλύματος BMIM[NTF2] στην κινητή φάση αποδείχθηκε καλή επιλογή καθώς βοήθησε στον επιτυχή διαχωρισμό των χρωστικών.

Η χρωματογραφική ανάλυση έδωσε τα εξής αποτελέσματα:

- | | |
|-------------------|----------|
| • Basic Blue 99 | 19% ± 1% |
| • Acid Violet 43 | 4% ± 2% |
| • Basic Brown 16 | 2% ± 1 % |
| • Basic Red 76 | 48% ± 1% |
| • Basic Yellow 57 | 7% ± 1% |

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η μέθοδος που αναπτύχθηκε από τους συγγραφείς, δίνει εξαιρετικά αποτελέσματα, πολύ κοντά σε αυτά τα οποία επιτεύχθηκαν με την μέθοδο LC-MS/MS, σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95 %, και ταυτόχρονα αποτελεί μια πιο οικονομική προσέγγιση (Franco et al., 2015).

Χρωστική Μαλλιών	Συγκέντρωση εμπορικού δείγματος	% ποσοστό με HPLC- DAD	% ποσοστό με LC- MS/MS
Basic Blue 99	$4,33 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$19,0 \pm 0,98$	$22,0 \pm 1,98$
Acid Violet 43	$8,81 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$4,0 \pm 1,05$	$3,7 \pm 1,56$
Basic Brown 16	$5,86 \cdot 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$	$2,0 \pm 0,99$	$2,5 \pm 1,92$
Basic Red 76	$1,31 \cdot 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$	$48,0 \pm 0,96$	$57,0 \pm 2,96$
Basic Yellow 57	$1,99 \cdot 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$	$7,0 \pm 0,97$	$5,4 \pm 2,3$

Πίνακας 6. Δεδομένα προσδιορισμού 5 χρωστικών σε ημι μόνιμες βαφές μαλλιών με την χρήση HPLC-DAD και LC-MS/MS

Η τελευταία και πιο πρόσφατη μέθοδος ανίχνευσης πολλαπλών χρωστικών σε καλλυντικά γράφτηκε το 2018. Οι Guerra et al. (2018) χρησιμοποίησαν μια σχετικά απλή μεθοδολογία η οποία περιλάμβανε εκχέλιση ενός βήματος με την χρήση ηλεκτρονικού αναδευτήρα (Single Step Vortex Extraction) και υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτή MS/MS για να προσδιορίσουν 14 χρωστικές ουσίες (CI 14700, CI 14720, CI 15510, CI 15985, CI 16035, CI 16185, CI 16255, CI 19140, CI 42051, CI 42090, CI 44090, CI 47005, CI 60730, CI 73015) σε δείγματα από κραγιόν, σαμπουάν, shower gel, μάσκες ομορφιάς, οδοντόκρεμες, lip gloss, κρέμες και βούτυρα σώματος.

Κατά την προετοιμασία των δειγμάτων, 0,1 g από το κάθε καλλυντικό προϊόν προστέθηκαν σε σωλήνα Eppendorf μαζί με 1,5 mL μεθανόλη και 100 mg απορροφητικό μέσο C18. Ο σωλήνας τοποθετήθηκε στον ηλεκτρονικό αναδευτήρα για πέντε λεπτά και τελικά το δείγμα διηθήθηκε με την χρήση ενός φίλτρου σύριγγας 0,45 μm PTFE, αραιώθηκε σε διάλυμα 3 mM υδατικού οξικού αμμωνίου και τελικά επαναδιηθήθηκε με την χρήση φίλτρου σύριγγας 0,22 μm πριν την χρωματογραφική ανάλυση.

Για την χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε σύστημα πολλαπλής αυτόματης δειγματοληψίας, με στήλη C18, 2,6 μm , 100 mm x 2,1 mm με θερμοκρασία λειτουργίας τους 40° C.

Το σύστημα της κινητής φάσης αποτελούταν από το μίγμα νερού, το οποίο περιείχε 3 mM οξικό αμμώνιο και μεθανόλη. Ο διαχωρισμός επετεύχθη εντός 11 λεπτών με ρυθμό ροής 300 μLmin^{-1} .

Οι συγγραφείς και εδώ χρησιμοποίησαν το ίδιο σύστημα ανιχνευτή MS/MS εξοπλισμένο με ηλεκτροψεκασμό ιόντων HESI II.

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η συγκεκριμένη μέθοδος ενδείκνυται για τον προσδιορισμό πολλαπλών χρωστικών σε καλλυντικά δείγματα καθώς μπορεί να προσφέρει μία γρηγορότερη προσέγγιση στην ανάλυση, χάρις την συγκεκριμένη μέθοδο εκχύλισης, απαγορευμένων και μη χρωστικών ουσιών με καλή γραμμικότητα ($R^2 > 0.9918$) και καλή ακρίβεια (τυπική απόκλιση % RSD < 13%) και LOQ < 3,437 $\mu\text{g g}^{-1}$.

Σχετικά με τις χρωστικές, οι 8 από τις 14 προσδιοριζόμενες βρέθηκαν στα δείγματα των καλλυντικών προϊόντων που αναλύθηκαν με πιο συχνές τις Ponceaux SX, Brilliant Blue και Alura Red.

Σε δείγμα lip gloss ανιχνεύθηκε το αζώχρωμα Καρμυζίνη σε συγκέντρωση 144 $\mu\text{g g}^{-1}$ γεγονός που εφιστάται προσοχής καθώς η συγκεκριμένη χρωστική βρίσκεται απαγορευμένη στην αγορά της Αμερικής από τον FDA.

Η υψηλότερη περιεκτικότητα σε χρωστική βρέθηκε σε παιδική οδοντόκρεμα, με το Κίτρινο Κινολίνης στα 442 $\mu\text{g g}^{-1}$. Θα πρέπει να αναφερθεί πως η συγκεκριμένη χρωστική δεν επιτρέπεται για χρήση μέσω στόματος στην Αμερική, και θα πρέπει να υπάρξει σχετική επισήμανση επικινδυνότητας στο συγκεκριμένο προϊόν (Guerra et al., 2018).

Όπως φαίνεται και παραπάνω, για την ανάλυση πολλαπλών χρωστικών σε δείγματα καλλυντικών προϊόντων συνίσταται η χρησιμοποίηση, κυρίως ως μέθοδο, της υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτές DAD, UV-Vis και MS/MS δίνοντας πολύ καλά αποτελέσματα. Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις στις οποίες απαιτείται η ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση μίας συγκεκριμένης ουσίας, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις απαγορευμένων χρωστικών ουσιών σε προϊόντα Cosmetic.

Το 2013 οι Guo et al. εφάρμοσαν μία τεχνική για τον προσδιορισμό της χρωστικής Brilliant Blue FCF σε δείγματα σαμπουάν και Eau de Toilette με την χρήση ιοντικής μικροεκχύλισης διασποράς υγρού-υγρού (IL-DLLME) σε συνδυασμό με φασματοσκοπική μέθοδο UV-Vis.

Ως διαλύτες μικροεκχύλισης χρησιμοποιήθηκαν Τετραουροβορικό 1-δεκυλ-3-μεθυλιμιδαζόλιο [C10MIM]-[BF₄], τετραουροβορικό 1-οκτυλ-3-μεθυλιμιδαζόλιο [C8MIM]-[BF₄] και εξαφλουοροφωσφορικό 1-εξυλ-3-μεθυλιμιδαζόλιο [C6MIM]-[PF₆].

Το δείγματα διαλύθηκαν σε νερό και αραιώθηκαν περαιτέρω στα 100 mL με την χρήση υδροχλωρικού οξέος pH 4.

Στην συνέχεια κατάλληλος όγκος του δείγματος τοποθετήθηκε σε γυάλινο κωνικό σωλήνα όπου προστέθηκαν 150 mL [C10MIM]-[BF₄] με την χρήση σύριγγας 1,0 mL. Ο σωλήνας ανακινήθηκε για 30 δευτερόλεπτα μηχανικά και στην συνέχεια αφέθηκε για επώαση σε υδατόλουτρο με θερμοκρασία 25° C ±1 για 10 λεπτά, όπου ο διαλύτης [C10MIM]-[BF₄] συμπυκνώθηκε προς το κάτω μέρος του σωλήνα. Το διάλυμα φυγοκεντρήθηκε στις 3500 rpm για 10 λεπτά. Απομακρύνθηκε το υπερκείμενο με την χρήση σύριγγας και συλλέχθηκε το ίζημα το οποίο στην συνέχεια αποξηράνθηκε σε φούρνο υπό αέρα. Τελικά το αποξηραμένο ίζημα αραιώθηκε μέχρι τα 260 mL με την προσθήκη μεθανόλης και μεταφέρθηκε για ανάλυση UV-Vis. Η τεχνική επαναλήφθηκε με την χρήση [C8MIM]-[BF₄] και [C6MIM]-[PF₆].

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ο διαλύτης [C10MIM]-[BF₄], θεωρήθηκε η καταλληλότερη επιλογή για την χρωστική Brilliant Blue FCF καθώς οι υπόλοιποι διαλύτες έδειξαν δυσκολία στο να διαλυθούν στο εύρος 0-50° C και επομένως εμφάνισαν δυσκολία στην προσυγκέντρωση της χρωστικής. Επιπλέον καθώς η χρήση ιοντικών υγρών συχνά απαιτεί την χρήση υπερήχων ή κάποια επιπρόσθετα χημικά για διασπορά και καθίζηση τους με την χρήση του [C10MIM]-[BF₄] οι συγγραφείς απέφυγαν αυτές τις πρόσθετες απαιτήσεις.

Τα αναλυτικά δεδομένα της εργασίας υποδηλώνουν καλές ανακτήσεις της χρωστικής Brilliant Blue FCF στα δείγματα. Η μέγιστη απορρόφηση της χρωστικής βρέθηκε στα 627 nm. Η καμπύλη αναφοράς ήταν γραμμική στο εύρος 1,5-150 μg L⁻¹ με τύπο $A=5,931C + 0,0005$ και $r = 0,9999$. Το όριο ανίχνευσης ήταν 0,34 μg L⁻¹ και η τυπική απόκλιση 0,82 %.

Η συγκεκριμένη μέθοδος προσφέρει υψηλή επιλεξιμότητα, χαμηλό όριο ανίχνευσης, καλή γραμμικότητα και καλή τυπική απόκλιση. Επιπλέον η μέθοδος IL-DLLME κρίνεται

φιλικότερη προς το περιβάλλον και κατάλληλη για προσδιορισμό ακόμα και ιχνοποσοτήτων του Brilliant Blue FCF (Guo et al., 2013).

Οι Soy lak et al.(2011) ανέπτυξαν μία μέθοδο προσδιορισμού της χρωστικής Ροδαμίνης Β σε δείγματα κραγιόν χρησιμοποιώντας εκχείλιση στερεής φάσης (SPE) και φασματοσκοπία UV-Vis.

Αρχικά, $1 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ μητρικού διαλύματος Ροδαμίνης Β, παρασκευάστηκαν με διάλυση σε νερό και στην συνέχεια πρότυπα διαλύματα με καθημερινές αραιώσεις του μητρικού διαλύματος προκειμένου να κατασκευαστεί η καμπύλη βαθμονόμησης. Για την ρύθμιση του pH παρασκευάστηκαν 6 ρυθμιστικά διαλύματα : Για **pH 2**, 3,8 g φωσφορικό μονονάτριο και 9 mL φωσφορικό οξύ 85%, για **pH 3**, 13,8 g φωσφορικό μονονάτριο και 0,60 mL φωσφορικού οξέος 85%, για **pH 4**, 77 g οξικό αμμώνιο και 413 mL οξικό οξύ, για **pH 5**, 13,1 g φωσφορικό μονονάτριο και 2,40 g άλλου διαλύτη, για **pH 6**, 58,5 g οξικό αμμώνιο και 2,5 mL οξικό οξύ και για **pH 7**, 0,7 βορικό νάτριο και 5 mL υδροχλωρικό οξύ 1 mol L^{-1} .

Στην συνέχεια ζυγίστηκαν 0,1 g από κραγιόν και διαλύθηκαν σε νερό στους 27° C. Τα δείγματα διηθήθηκαν και μεταφέρθηκαν σε φιάλη όπου αραιώθηκαν μέχρι τα 50 mL με απεσταγμένο νερό.

Όπως τα πρότυπα διαλύματα, έτσι και το δείγμα ρυθμίστηκε στις επιθυμητές τιμές pH και 25 ml αυτού εκχειλίστηκε βαρυτικά σε στήλη, που περιείχε 0,5 g απορροφητικού υλικού Serabeads SP 70, με διαλύτη έκλουσης 5 mL ακετονιτριλίου. Η Ροδαμίνη προσδιορίστηκε με φασματοφωτόμετρο UV-Vis στα 556 nm.

Επίδραση pH

Η υψηλότερη ανάκτηση (>95%) επιτεύχθηκε σε pH 2-3, όπου η Ροδαμίνη παρατηρήθηκε στα 556 nm ενώ σε υψηλότερα pH σημειώθηκε μείωση της ζώνης απορρόφησης. Η έρευνα σημειώθηκε σε pH 2,5.

Επίδραση διαλύτη Καθώς ο όγκος του διαλύτη παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην προσυγκέντρωση της χρωστικής, επιλέχθηκαν 5 mL ακετονιτριλίου τα οποία έδιναν τα μεγαλύτερα ποσοστά ανάκτησης.

Επίδραση από τον όγκο του διαλύματος

Ο όγκος του διαλύματος ελέγχθηκε στο εύρος 50-200 mL. Ανάκτηση σε ποσοστά >95 % παρατηρήθηκαν σε όγκο 200 mL για το διάλυμα και στα 5 mL για τον διαλύτη έκλουσης.

Απόδοση Αναλυτικής Τεχνικής

Το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε στα 3,14 $\mu\text{g L}^{-1}$. Η τυπική απόκλιση υπολογίστηκε στο 5%. Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς δίνεται από τον τύπο $A=0,2355 C + 0,0055$ με $r^2 = 0,9996$ και γραμμικότητα στα 0,25-3,0 mg L^{-1} .

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι συγγραφείς παρουσίασαν μία μέθοδο γρήγορη, σχετικά ασφαλή και κοντά στις αρχές τις Πράσινης χημείας και ταυτόχρονα οικονομική με ιδιαιτέρως καλά αποτελέσματα αφού χάρις τον δείκτη προσυγκέντρωσης (40) μπορεί να ανιχνεύσει ακόμα και ιχνοποσότητες της Ροδαμίνης Β (Soylak et al., 2011).

Μία διαφορετική μέθοδο προκατεργασίας δείγματος εφάρμοσαν οι Ozkantar et al. (2017), με τον συνδυασμό δύο υπερμοριακών διαλυτών, πολικό και μη πολικό, τα τετραϋδροφουράνιο (THF) και δεκανοϊκό οξύ καθώς και χρήση UV-Vis για τον προσδιορισμό της χρωστικής Ροδαμίνης Β σε βερνίκια νυχιών, ρουζ και κραγιόν.

Αφού ζυγίστηκαν 0,5 g από το κάθε δείγμα (βερνίκι, κραγιόν, ρουζ), προστέθηκαν 10 mL αιθυλικής αλκοόλης και τα δείγματα αφέθηκαν σε αναδευτήρα για 2 ώρες προκειμένου να διαλυθεί η χρωστική. Στην συνέχεια τα δείγματα χωρίστηκαν σε 5 σωλήνες προκειμένου να γίνει εισαγωγή ποσότητας Ροδαμίνης Β από 0,0-9,6 $\mu\text{g/mL}$ σε κάθε έναν από αυτούς και να ξεκινήσει η διαδικασία εκχέλισης με DLLME.

Επίδραση του pH

Καθώς ο μετασχηματισμός από υγρή φάση σε φάση εκχύλισης για την Ροδαμίνη Β εξαρτάται ως επί το πλείστον από το pH, παρασκευάστηκαν διάφορα διαλύματα με εύρος pH από 1,0-6,0 τα οποία εκχυλίστηκαν με την μέθοδο DLLME και έπειτα μετρήθηκαν με UV-Vis. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η υψηλότερη ανάκτηση επιτυγχάνεται σε τιμή pH 3,0.

Επίδραση του διαλύτη

Χρησιμοποιήθηκαν μείγματα από 1) THF- δεκανοϊκό οξύ, 2) THF-ενδεκανόλη και 3) THF-1-δεκανόλη. Τα αποτελέσματα έδειξαν τιμές ανάκτησης 99%, 79% και 86% αντίστοιχα. Ως αποτέλεσμα επιλέχθηκε το μείγμα THF-δεκανοϊκού οξέος λόγω καλύτερης τιμής ανάκτησης.

Επίδραση από τον όγκο του διαλύματος

Παρασκευάστηκαν δείγματα με εύρος όγκων από 10-40 mL. Με βάση τις τιμές ανάκτησης επιλέχθηκε η ποσότητα των 30 mL.

Απόδοση Αναλυτικής Τεχνικής

Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης υπολογίστηκαν στα $0,49 \mu\text{g L}^{-1}$ και $1,47 \mu\text{g L}^{-1}$ αντίστοιχα. Η τυπική απόκλιση υπολογίστηκε στα 5,8. Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς δίνεται από τον τύπο $A=0,140 C + 0,0012$ με γραμμικό εύρος 1,5-70 $\mu\text{g L}$.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα η συγκεκριμένη μέθοδος εμφανίζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με ήδη υπάρχουσες τεχνικές. Συγκεκριμένα φαίνεται να εμφανίζει καλά αποτελέσματα σε μικρότερο χρόνο εκχύλισης και σε μικρότερες συγκεντρώσεις Ροδαμίνης Β εμφανίζοντας υψηλότερες τιμές ανάκτησης. Η μέθοδος κρίθηκε πρακτική και αξιόπιστη σε δείγματα καλλυντικών για τον προσδιορισμό της χρωστικής Ροδαμίνης Β με μόνο μειονέκτημα τον μεγάλο χρόνο που χρειάζεται για να διαλυθεί η χρωστική στον αναδευτήρα (Ozkantar et al., 2017).

Μέθοδος Προκατεργασίας	Μέθοδος Ανάλυσης	RSD %	LOD%	Δείγμα
SPE	UV-Vis	5	$3.14 \mu\text{g L}^{-1}$	Κραγιόν
DLLME	UV-Vis	4	$2.1 \mu\text{g L}^{-1}$	Καλλυντικά
Micro extraction	UV-Vis	5.8	$0.49 \mu\text{g L}^{-1}$	Κραγιόν, Ρουζ, Βερνίκια νυχιών

Πίνακας 7. Σύγκριση υπάρχοντων μεθόδων και τις μεθόδου των Ozkantar et al. για τον προσδιορισμό Ροδαμίνης Β σε καλλυντικά προϊόντα

Η πιο πρόσφατη έρευνα πάνω στον προσδιορισμό της Ροδαμίνης αναπτύχθηκε το 2018 από τους Bisgin et al. όπου χρησιμοποίησαν εκχέλιση στερεάς φάσης (SPE) και εκχέλιση με την βοήθεια υπερήχων (CPE) σε δείγματα κραγιόν.

25 g από το κάθε κραγιόν μεταφέρθηκαν σε ποτήρι ζέσεως των 50 mL στο οποίο προστέθηκαν 25 mL CCl_4 και διαλύθηκαν με την χρήση μηχανικού αναδευτήρα σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά. Το δείγμα στην συνέχεια μεταφέρθηκε σε διαχωριστική χοάνη στην οποία προστέθηκαν 150 mL NaOH 0,1 M και ανακινήθηκαν για άλλα 10 λεπτά. Μετά την εκχύλιση της χρωστικής σε υδατικό μέσο, το δείγμα διηθήθηκε περαιτέρω με μεμβράνη PTFE 0,45 μm και μεταφέρθηκε σε ποτήρια ζέσεως για αναπροσαρμογή του pH.

Για την εκχέλιση στερεάς φάσης χρησιμοποιήθηκε απορροφητικό μέσο Amberlite XAD-1180. 50 mL από το κάθε διάλυμα εκχλίστηκε βαρυτικά και εκλούστηκαν 5 mL με την χρήση διαλύτη αιθανόλη. Η συγκέντρωση της Ροδαμίνης προσδιορίστηκε με UV-Vis.

Για την εκχύλιση με την βοήθεια υπερήχων, 50 mL τυφλού το οποίο περιείχε 2,5 mg Ροδαμίνης Β αναμείχθηκαν με Tergitol NP-7, 2% w/v και 10 mL ρυθμιστικού διαλύματος και ανακινήθηκαν. Στην συνέχεια τοποθετήθηκε σε θερμοστατικό λουτρό υπερήχων για 30 λεπτά στους 25° C. Το διάλυμα μεταφέρθηκε σε φυγόκεντρο στις 4000 rpm για 7 λεπτά. Μετά την φυγοκέντριση η υδατική φάση απομακρύνθηκε ενώ η πλούσια σε τασιενεργά φάση αραιώθηκε με 0,5 mL διαλύτη αιθανόλη. Αφού μεταφέρθηκε σε φιάλη, αραιώθηκε με νερό μέχρι τα 2 mL. Η συγκέντρωση της Ροδαμίνης προσδιορίστηκε με UV-Vis.

Επίδραση του pH

Το pH διερευνήθηκε στο εύρος 2-8 και για τις 2 μεθόδους. Οι βέλτιστες ανακτήσεις εμφανίστηκαν σε pH 2-3 γι αυτό επιλέχθηκε για την μεθοδολογία το pH 2.5.

Επίδραση του διαλύτη

Για την εκχύλιση στερεάς φάσης χρησιμοποιήθηκε αιθανόλη λόγω του χαμηλού της κόστους και της διαθεσιμότητάς της.

Επίδραση από τον όγκο του διαλύματος

Για την εκχύλιση στερεάς φάσης, ο όγκος ερευνήθηκε στο εύρος 25-300 mL. Επιλέχθηκαν τα 200 mL καθώς εμφάνισαν υψηλή ανάκτηση και υψηλό συντελεστή προσυγκέντρωσης Ροδαμίνης Β (40).

Για την εκχύλιση με την βοήθεια υπερύθρων επιλέχθηκε όγκος 50 mL καθώς έδωσε συντελεστή προσυγκέντρωσης Ροδαμίνης στα 25.

Επίδραση από άλλους παράγοντες

Για την εκχύλιση με την βοήθεια υπερύθρων, μετρήθηκε το επιφανειοδραστικό Tergitol NP-7 σε εύρος συγκεντρώσεως 0,05-0,60 % w/v. Η σταθερότερη τιμή ανάκτησης εμφανίστηκε με συγκέντρωση 0,50 % και γι αυτό χρησιμοποιήθηκε.

Η αύξηση του ρυθμού και του χρόνου φυγοκέντρωσης δεν εμφάνισε κάποια επίδραση.

Απόδοση Αναλυτικής Τεχνικής

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της SPE ήταν υψηλότερα από αυτά της CPE, όπως και ο συντελεστής προσυγκέντρωσης. Οι τυπικές αποκλίσεις εμφανίστηκαν σχετικά παρόμοιες.

Αναλυτικά :

Για την SPE το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε στα $1,2 \mu\text{g L}^{-1}$, ενώ το όριο ποσοτικοποίησης στα 3,2. Η τυπική απόκλιση υπολογίστηκε < 4 . Ο συντελεστής προσυγκέντρωσης υπολογίστηκε στα 40. Η καμπύλη αναφοράς δίνεται από τον τύπο $A = 0,1987C + 0,0012$ με $r^2 = 0,9996$ με γραμμική περιοχή στα 0,1-4,0 $\mu\text{g/mL}$.

Για την CPE το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε στα $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$, ενώ το όριο ποσοτικοποίησης στα 1,9. Η τυπική απόκλιση υπολογίστηκε < 7 . Ο συντελεστής προσυγκέντρωσης υπολογίστηκε στα 25. Η καμπύλη αναφοράς δίνεται από τον τύπο $A = 0,1973C + 0,0019$ με $r^2 = 0,9998$ με γραμμική περιοχή στα 0,05-5,0 $\mu\text{g/mL}$.

Η μέθοδος σημείωσε παρόμοια αποτελέσματα και για τις δύο τεχνικές εκχύλισης. Ενώ ο συντελεστής προσυγκέντρωσης στην SPE εμφανίζεται μεγαλύτερος καθώς και η τυπική απόκλιση, εμφανίζει σχετικά μικρότερες τιμές ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Και οι δύο τεχνικές κρίνονται κατάλληλες για τον προσδιορισμό Ροδαμίνης Β σε κραγιόν με καλά αποτελέσματα προσδιορισμού και ανάκτησης (Bisgin et al., 2018).

6.4 Εφαρμογές Μεθόδων Προσδιορισμού Οξειδωτικών Χρωστικών

Οι οξειδωτικές χρωστικές αποτελούν χρωστικές οι οποίες χρησιμοποιούνται κυρίως στις βαφές μαλλιών. Πρόκειται για ουσίες οι οποίες χρησιμοποιούν μία χημική διαδικασία, κατά την οποία μία οξειδωτική ουσία (συνήθως H_2O_2) ενεργοποιεί την τρίχα, την διανοίγει στην επιφάνεια της και με αυτό τον τρόπο επιτρέπει στην χρωστική να εισχωρήσει. Με αυτή την διαδικασία επιτυγχάνεται η μόνιμη αλλαγή του χρώματος των μαλλιών, σε αντίθεση με τις συνθετικές βαφές οι οποίες απλώς επικάθονται στην επιφάνεια της τρίχας και δεν εισχωρούν στην εσωτερική δομή της. Αυτό τις καθιστά λιγότερο επιβλαβείς για την τρίχα αλλά με χρώμα το οποίο ξεθωιάζει γρηγορότερα και με μικρότερη διάρκεια από αυτή των οξειδωτικών βαφών.

Η πιο κοινή αναλυτική τεχνική προσδιορισμού οξειδωτικών βαφών είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) καθώς αποτελεί την πιο αξιόπιστη για ποιοτικά και ποσοτικά αποτελέσματα.

Αν και πιο περιορισμένη ως μέθοδος, η αέρια χρωματογραφία (GC) μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό οξειδωτικών χρωστικών. Οι περισσότερες οξειδωτικές χρωστικές, όπως οι αμινοχρωστικές ή οι πολυμερικές, δεν είναι πτητικές και ως εκ τούτου η αέρια χρωματογραφία δεν ενδείκνυται. Σε ορισμένες των περιπτώσεων όμως, όπου οι χρωστικές είναι πτητικές ή εμφανίζουν υποπροϊόντα τα οποία μπορούν να εξατμιστούν ή για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του οξειδωτικού παράγοντα που χρησιμοποιείται στην φόρμουλα, η GC μπορεί να χρησιμοποιηθεί.

Σε αυτό το πλαίσιο, οι Guerra et al. (2017) ανέπτυξαν μια μέθοδο για το προσδιορισμό επτά οξειδωτικών χρωστικών σε βαφές μαλλιών, χρησιμοποιώντας τις τεχνικές εκχύλισης VE (Vortex Extraction), UAE (Ultra Sound Assisted Extraction), MSPD (Matrix Solid Phase Dispersion) και αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με ανιχνευτή MS/MS. Οι χρωστικές που

προσπάθησαν οι ερευνητές να προσδιορίσουν ήταν οι : Ρεσορκινόλη (RL), Υδροκινόνη (HQ), 2-μεθυλορεσορκινόλη (2MR), 4-χλωρορεσορκινόλη (4 CLR), 1-ναφθόλη (1 NL), 2 ναφθόλη (2 NL) και φαίνυλο-μέθυλο-πυραζολόνη (PMP).

Αρχικά απορρίφθηκαν για όλες τις διαδικασίες εκχύλισης, τα πρώτα 2-3 mL της βαφής προς αποφυγή της πιθανότητας οξείδωσης της με το οξυγόνο του αέρα.

- **Για την επεξεργασία του δείγματος με VE**, 0,1 g βαφής τοποθετήθηκαν σε σωληνάριο Eppendorf των 1,5 mL και προστέθηκε διάλυμα 20 μ L ασκορβικού οξέος σε μεθανόλη 10 mg mL⁻¹ για αποτροπή οξείδωσης της βαφής. Προκειμένου να βελτιστοποιηθεί η μέθοδος αλλά και για τα πειράματα ανάκτησης, προστέθηκαν 20 μ L από το διάλυμα εργασίας έτσι ώστε να επιτευχθεί η τελική επιθυμητή συγκέντρωση. Το δείγμα αναδεύτηκε σε αναδευτήρα vortex στις 2400 rpm, για 5 λεπτά και 800 mL διηθήθηκαν με φίλτρο σύριγγας PTFE 0,22 μ m. Το δείγμα εκχυλίστηκε με διαλύτη εκχύλισης ακετονιτρίλιο.
- **Για την επεξεργασία του δείγματος με UAE**, ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με της VE και ακολούθως το δείγμα μεταφέρθηκε σε υδατόλουτρο υπερήχων για 5 λεπτά με συχνότητες 35 kHz, 400 W. 800 μ L διηθήθηκαν με φίλτρο σύριγγας PTFE 0,22 μ m.
- **Για την επεξεργασία του δείγματος με MSPD**, 0,1 g του προϊόντος και 20 μ L ασκορβικού οξέος σε μεθανόλη 10 mg mL⁻¹ προστέθηκαν σε γυάλινο φιαλίδιο.. Για την βελτιστοποίηση της μεθόδου, 20 μ L από το διάλυμα εργασίας προστίθονταν, όποτε ήταν απαραίτητο, για επίτευξη της επιθυμητής συγκέντρωσης. Στην συνέχεια το δείγμα μεταφέρθηκε προς ανάμειξη με 0,3 g άνυδρου Na₂SO₄ και 0,4 g Florisil. Το δείγμα μεταφέρθηκε σε πιπέτα Pasteur των 150 mm, η οποία περιείχε στον πυθμένα υαλοβάμβακα με 0,1 g Florisil. Η έκλουση πραγματοποιήθηκε με διαλύτη ακετονιτρίλιο, υπό βαρύτητα, συλλέγοντας 1mL εκχυλίσματος χρωστικής το οποίο στην συνέχεια διηθήθηκε με φίλτρο σύριγγας PTFE 0,22 mm.

Η χρωματογραφική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με την χρήση αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή MS/MS και εξοπλισμένη με αυτόματο δειγματολήπτη. Ο

διαχωρισμός επετεύχθη με την χρήση τριχοειδούς στήλης (30m x 0,25 mm, 0.25 μ m) με 5% φαινυλ-αρυλένιο / 95% Διμέθυλοπολυσιλοξάνη. Ως φέρον αέριο για την κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε He. Πραγματοποιήθηκε προγραμματισμός θερμοκρασίας με σταδιακή αύξηση της μέχρι τους 240° C.

Η μέθοδος δοκιμάστηκε σε 3 δείγματα από βαφές του εμπορίου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα και οι τρεις τεχνικές εκχύλισης κρίνονται ικανοποιητικές, καθώς οδήγησαν σε χαμηλές καταναλώσεις διαλυτών και χαμηλό χρόνο εκχύλισης, Προτιμήθηκε η VE λόγω χαμηλότερου κόστους.

Η μέθοδος εμφάνισε καλή γραμμικότητα με $r^2 \geq 0.991$ σε ευρύ φάσμα συγκεντρώσεως καθώς και καλή ακρίβεια με τυπική απόκλιση, % RSD ≤ 14 . Οι τιμές LOQ εμφανίστηκαν παρόμοιες για κάθε μία χρωστική και στα 3 εμπορικά δείγματα. Τα αποτελέσματα παρατίθενται παρακάτω:

Χρωστική	LOQ			Δείγμα 1			Δείγμα 2			Δείγμα 3		
	VE	UAE	MSPD	VE	UAE	MSPD	VE	UAE	MSPD	VE	UAE	MSPD
RL	0,061	0,063	0,080	3961	3863	3803	491	452	531	4145	3974	3721
HQ	0,060	0,116	0,074	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 MR	0,097	0,125	0,086	2644	2455	2608	2,15	1,83	1,99	1509	1715	1294
4CLR	0,086	0,079	0,108	2,08	1,71	1,65	-	-	-	1,86	1,55	1,20
1 NL	0,098	0,131	0,125	418	389	390	-	-	-	-	-	-
2 NL	0,083	0,067	0,066	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Πίνακας 8. Όρια Ανίχνευσης και συγκεντρώσεις (μ g g⁻¹) των προσδιοριζόμενων χρωστικών στα 3 εμπορικά δείγματα

Όλα τα δείγματα έδειξαν πως περιείχαν τις χρωστικές RL και 2MR σε συγκεντρώσεις 0,87 w/w και 0,26 w/w αντίστοιχα.

Σε ένα δείγμα αναφέρεται η ύπαρξη υδροκινόνης σε συγκέντρωση 1,19 μ g g⁻¹, χρωστική η οποία απαγορεύεται για χρήση σε βαφές μαλλιών (Guerra et al., 2017).

6.5 Μέθοδοι Προσδιορισμού Ανόργανων Χρωστικών / Βαρέων Μετάλλων σε Καλλυντικά Προϊόντα

Τα βαρέα μέταλλα είναι χημικά στοιχεία με υψηλή πυκνότητα που, όταν προσλαμβάνονται σε υψηλές συγκεντρώσεις, ενδέχεται να προκαλέσουν σοβαρές βλάβες στην υγεία. Στα καλλυντικά προϊόντα, αυτά τα μέταλλα δεν χρησιμοποιούνται σε καθαρή μορφή, αλλά συχνά περιέχονται σε ενώσεις που προσδίδουν χρώμα, σταθερότητα ή άλλες λειτουργικές ιδιότητες. Παρά την αυστηρή νομοθεσία και τους κανονισμούς για την ασφαλή χρήση τους, η παρουσία βαρέων μετάλλων σε καλλυντικά παραμένει ένα κρίσιμο ζήτημα για την υγεία των καταναλωτών.

Ορισμένα από τα πιο συχνά βαρέα μέταλλα που ενδέχεται να βρεθούν σε καλλυντικά προϊόντα περιλαμβάνουν το **χρώμιο**, το **μόλυβδο**, το **ψευδάργυρο**, το **σίδηρο** και το **τιτάνιο**. Αυτά τα μέταλλα συνήθως ενσωματώνονται σε ενώσεις όπως το **οξειδίο του τρισθενούς χρωμίου**, το **οξειδίο του σιδήρου**, ο **θειικός μόλυβδος**, το **οξειδίο του ψευδαργύρου** και το **διοξειδίο του τιτανίου**, οι οποίες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρωμάτων σε καλλυντικά προϊόντα όπως σκιά ματιών, κραγιόν, ρουζ, βερνίκια νυχιών και άλλες φόρμουλες. Παρά την χρησιμότητά τους, η συγκέντρωση αυτών των μετάλλων πρέπει να παραμένει αυστηρά ελεγχόμενη, καθώς ακόμη και οι μικρές ποσότητες μπορεί να προκαλέσουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία, όπως τοξικότητα ή αλλεργικές αντιδράσεις. Η επιτακτική ανάγκη για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων σε καλλυντικά καθίσταται προφανής, καθώς μόνο μέσω αναλυτικών τεχνικών μπορεί να διασφαλιστεί η ασφάλεια των προϊόντων και η προστασία των καταναλωτών. Μέθοδοι όπως η **φασματομετρία ατομικής απορρόφησης (AAS)**, η **φασματομετρία ατομικής απορρόφησης σε φλόγα (FAAS)** και η **φασματομετρία μαζών επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS)** επιτρέπουν τον ακριβή προσδιορισμό των συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων στα καλλυντικά, εξασφαλίζοντας ότι οι τιμές παραμένουν κάτω από τα επιτρεπτά όρια που έχουν ορίσει οι αρμόδιες αρχές. Η εφαρμογή αυτών των αναλυτικών τεχνικών είναι ζωτικής σημασίας για την παρακολούθηση της ποιότητας των καλλυντικών και τη διασφάλιση της υγείας των χρηστών.

Οι τεχνικές οι οποίες εφαρμόζονται και χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων σε καλλυντικοτεχνικές μορφές είναι οι εξής:

- Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης (AAS)
- Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα (FAAS)
- Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με Ατομοποίηση Ψυχρού Ατμού (CVAAS)
- Φασματομετρία Ατομικού Φθορισμού (AFS)
- Φασματομετρία Ατομικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-OES)
- Φασματομετρία Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS)
- Φασματομετρία Φθορισμού Ακτίνων Χ (XRF) (Skoog et al., 2007).

6.6 Εφαρμογές Φασματομετρίας Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα (FAAS) για τον προσδιορισμό Ανόργανων Χρωστικών / Βαρέων Μετάλλων σε Καλλυντικά Προϊόντα

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη αναλυτική τεχνική για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων σε καλλυντικά προϊόντα είναι η Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης (AAS) και ειδικότερα η Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα (FAAS). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται συχνά για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση των συγκεντρώσεων βαρέων μετάλλων όπως ο μόλυβδος (Pb), το κάδμιο (Cd), το χρώμιο (Cr), το αρσενικό (As), ο ψευδάργυρος (Zn) και ο Υδράργυρος (Hg) σε καλλυντικά λόγω της υψηλής ευαισθησίας, της ακρίβειας της και κυρίως λόγω του χαμηλού της κόστους.

Η FAAS βασίζεται στην μέτρηση της απορροφημένης ακτινοβολίας από άτομα που βρίσκονται στην θεμελιώδη κατάσταση για το κάθε στοιχείο το οποίο εξετάζουμε. Αυτή η τεχνική επιτρέπει την ανάλυση μετάλλων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις και είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για την τήρηση των αυστηρών ορίων που ορίζονται από τη νομοθεσία για την ασφάλεια των καταναλωτών.

Για πολύ μικρές συγκεντρώσεις μετάλλων ή όταν απαιτείται υψηλότερη ευαισθησία, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η Φασματομετρία Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP-MS), καθώς μπορεί να προσφέρει ταυτόχρονη ανάλυση πολλαπλών στοιχείων, χαμηλά όρια ανίχνευσης και καλή εξοικονόμηση χρόνου.

Το 2016 οι Iwegbue et al. ανέλυσαν τις συγκεντρώσεις 9 διαφορετικών μετάλλων (Cd, Pb, Cr, Ni, Cu, Co, Fe, Mn, Zn) σε διάφορα προϊόντα καλωπισμού όπως μολύβια ματιών, σκιές

ματιών, ρουζ, mascara, lip gloss, lip balm και πούδρες, χρησιμοποιώντας τη Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με Φλόγα (FAAS). Η διαδικασία περιλάμβανε την πέψη των δειγμάτων με ένα μείγμα νιτρικού οξέος, υπεροξειδίου του υδρογόνου και υδροχλωρικού οξέος. Οι μέσες συγκεντρώσεις των μετάλλων κυμαίνονταν ως εξής: Cd από 3,1 έως 8,4 μg/g, Pb από 12 έως 240 μg/g, Cr από 9,1 έως 44 μg/g, Ni από 18 έως 288 μg/g, Cu από 1,6 έως 80 μg/g, Co από 7,9 έως 17 μg/g, Fe από 2,3 έως 28 mg/g, Mn από 12 έως 230 μg/g και Zn από 18 έως 320 μg/g.

Για την προκατεργασία των δειγμάτων, εφαρμόστηκε υγρή όξινη πέψη σε ανοιχτά δοχεία. 1,0 g από κάθε δείγμα τοποθετήθηκαν σε ανοιχτά δοχεία τεφλόν με 20 ml νιτρικό οξύ, 10 ml υδροχλωρικό οξύ και 5 ml υπεροξείδιο του υδρογόνου, και τα διαλύματα αφέθηκαν όλη νύχτα. Την επόμενη ημέρα, τα δείγματα θερμάνθηκαν στους 125°C για 2 ώρες. Μετά την ψύξη, τα διαλύματα, αραιώθηκαν σε 25 ml με 0,25 mol L⁻¹ νιτρικό οξύ. Για την επαλήθευση της ορθότητας των αποτελεσμάτων, χωρίς τη χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς, χρησιμοποιήθηκαν δείγματα εμβολιασμένα με γνωστές συγκεντρώσεις, με την ανάκτηση να κυμαίνεται από 92,4% έως 103%. Ο συντελεστή διακύμανσης υπολογίστηκε στα 2,3% έως 12,5%, μέσω του σχετικού συντελεστή διακύμανσης πολλαπλών επαναλαμβανόμενων μετρήσεων. Τα όρια ανίχνευσης (LOD) για τα μέταλλα που αναλύθηκαν ήταν τα εξής: για το Cd 0,23 μg/g, για το Pb 0,1 μg/g, για το Cr 0,6 μg/g, για το Ni 0,8 μg/g, για το Cu 0,08 μg/g, για το Co 0,05 μg/g, για το Fe 1,7 μg/g, για το Mn 0,1 μg/g και για το Zn 0,8 μg/g. Τα όρια ποσοτικοποίησης (LOQ) για τα ίδια μέταλλα ήταν τα εξής: Cd 0,7 μg/g, Pb 0,3 μg/g, Cr 1,8 μg/g, Ni 2,3 μg/g, Cu 0,24 μg/g, Co 0,15 μg/g, Fe 5 μg/g, Mn 0,3 μg/g και Zn 2,4 μg/g (Iwegbue et al., 2016).

Κεφάλαιο 7

7.1 Συμπεράσματα

Το χρώμα παίζει καθοριστικό ρόλο στην εμπορική επιτυχία των καλλυντικών παρόλο που αρκετές μελέτες έχουν δείξει πως, κάποιες από αυτές, ενδέχεται να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην υγεία του καταναλωτή. Αν και τα τελευταία χρόνια έχει εμφανιστεί μία τάση προς τις οργανικές χρωστικές, οι συνθετικές και κυρίως τα αζωχρώματα συνεχίζουν και έχουν το μεγαλύτερο μερίδιο στην αγορά των καλλυντικών, καθώς προσφέρουν σταθερότητα, ανθεκτικότητα, μειωμένο αποχρωματισμό και ποικιλία χρωμάτων σε συνδυασμό με το μειωμένο κόστος παραγωγής. Η χρήση χρωστικών σε καλλυντικά υπόκειται σε διαφορετικούς κανονισμούς, ανάλογα με την αγορά (ΗΠΑ, Ευρώπη, κ.α.), κάτι που μπορεί να δημιουργήσει εμπόδια για τις εταιρείες που επιθυμούν να προωθήσουν τα προϊόντα τους σε διεθνές επίπεδο. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, παρά την ανεπτυγμένη καλλυντική βιομηχανία, δεν υπάρχουν επαρκείς και συγκεκριμένες μέθοδοι για την ταυτόχρονη ανίχνευση πολλαπλών χρωστικών σε καλλυντικά και οι μελέτες κυρίως εστιάζουν στον προσδιορισμό συγκεκριμένων απαγορευμένων χρωστικών ουσιών. Στην παρούσα εργασία έγινε προσπάθεια να αναφερθούν οι κυριότερες και σημαντικότερες μέθοδοι προσδιορισμού χρωστικών και ως προς τις δύο κατευθύνσεις.

Στην κατεύθυνση ανίχνευσης πολλαπλών χρωστικών σε καλλυντικά προϊόντα, χρησιμοποιείται κυρίως η μέθοδος της υγρής χρωματογραφίας (LC) ή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) συζευγμένη με ανιχνευτή DAD κυρίως λόγω της ικανότητας των χρωστικών να απορροφούν στο φάσμα υπεριώδους- ορατού.. Η συγκεκριμένη μέθοδος φαίνεται πως διαχωρίζει ικανοποιητικά τις χρωστικές, εμφανίζοντας χαμηλά όρια ανίχνευσης και ταυτόχρονα ο συγκεκριμένος ανιχνευτής χαρίζει απλότητα, ταχύτητα και οικονομική απόδοση. Τελευταία οι ανιχνευτές φασματομετρίας μάζας (MS) έχουν ξεκινήσει να κάνουν την εμφάνιση τους στις προτιμήσεις των ερευνητών καθώς προσφέρουν περισσότερο αυξημένη εκλεκτικότητα και ευαισθησία. Πάντως οι μέχρι στιγμής συγκρίσεις δεν έχουν δείξει αξιοσημείωτη διαφορά.

Στην κατεύθυνση ανίχνευσης συγκεκριμένων και τις περισσότερες φορές απαγορευμένων χρωστικών ουσιών χρησιμοποιείται κυρίως η Φασματομετρία Υπεριώδους- Ορατού (UV-Vis Spectrometry) έναντι της υγρής χρωματογραφίας. Όταν ερευνάται η ύπαρξη μίας

συγκεκριμένης χρωστικής με γνωστό μήκος κύματος, δεν απαιτείται η διαδικασία του διαχωρισμού και ως εκ τούτου προτιμάται η Φασματομετρία Υπεριώδους – Ορατού καθώς αποτελεί μία ευαίσθητη τεχνική με εξαιρετικά μειωμένο χρόνο διαδικασίας. Στο πλαίσιο των ερευνών, η πλειοψηφία των βιβλιογραφικών μελετών εστιάζει στον προσδιορισμό της Ροδαμίνης Β. Λόγω του σχετικά πρόσφατου αποκλεισμού της από καλλυντικά προϊόντα και λόγω των γνωστών, πλέον, γονοτοξικών της επιδράσεων έχουν αναπτυχθεί αρκετές μέθοδοι για την ανίχνευση και ανάλυση της συγκεκριμένης χρωστικής.

Για την ανίχνευση οξειδωτικών χρωστικών, κυρίως σε βαφές μαλλιών, χρησιμοποιείται η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης συζευγμένης με ανιχνευτή MS/MS καθώς οι συγκεκριμένες καλλυντικοτεχνικές μορφές αποτελούν εξαιρετικά ιδιαίτερες μήτρες και πολλές φορές ενδέχεται να εμφανιστούν πολλαπλές κορυφές σε συγκεκριμένα μήκη κύματος που οφείλονται σε ισομερείς ενώσεις (δευτερεύουσες χρωστικές) των προσδιοριζόμενων χρωστικών. Στην συγκεκριμένη εργασία παρουσιάστηκε μία εναλλακτική μέθοδος, με την χρήση Αέριας Χρωματογραφίας συζευγμένης με ανιχνευτή MS/MS για την ανάλυση πτητικών ενώσεων. Η μέθοδος, αν και δεν προτιμάται, καθώς περιορίζει το εύρος της γκάμας των ενώσεων που μπορούν να αναλυθούν παρουσίασε πολύ καλά αποτελέσματα με καλή ακρίβεια ανιχνεύοντας ακόμα και σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Σε όλες των περιπτώσεων, η προετοιμασία και προκατεργασία του δείγματος αποτελεί το σημαντικότερο βήμα πριν την αναλυτική διαδικασία. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει προσπάθεια ανάπτυξης γρήγορων, απλών και με σχετικά μικρές καταναλώσεις διαλυτών, μεθοδολογιών πολύ κοντά στις αρχές της Πράσινης Χημείας. Γι αυτό, στην παρούσα εργασία, δίνεται ιδιαίτερη αναφορά στις τεχνικές εκχύλισης που χρησιμοποιούνται πριν από κάθε διαδικασία.

Η κύρια στρατηγική που φαίνεται να ακολουθείται είναι η Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPE), χάνοντας όμως σιγά σιγά έδαφος από τεχνικές μικροεκχυλίσεων όπως η DLLME, η IL-DLLME, η micro MSPD ή τεχνικές με βάση τις υπέρυθρες οι οποίες προσφέρουν ακόμα μικρότερη ποσότητα αντιδραστηρίων και διαλυτών καθώς και σημαντικότερη εξοικονόμηση χρόνου.

Στο πλαίσιο των διαλυτών χρησιμοποιείται κυρίως η μεθανόλη ή μείγματα αυτής εξαιτίας της συμβατότητας της με την κινητή φάση της χρωματογραφίας.

Παρακάτω παρουσιάζεται πίνακας που συνοψίζει όλες τις τεχνικές που αναφέρονται στην παρούσα εργασία για τον προσδιορισμό οργανικών, συνθετικών και οξειδωτικών χρωστικών,

Αναλύτης	Μήτρα	Μέθοδος Εκχύλισης	Τεχνική Ανάλυσης	Αναφορά
130 οργανικές χρωστικές	Κραγιόν,Βερνίκια νυχιών,Σαμπουάν,Αποσμητικά Roll-on,Λοσιόν,Κρέμες	SPE	HPLC- DAD	Rastogi
Acid Orange 7, Acid Violet 43, Brilliant Blue FCF, Acid Red 42, Ταρτραζίνη, Allura Red AC, Κινολίνη, Sunset Yellow FCF και Ponceau SX	βάλσαμο χειλιών,σκιές ματιών,βερνίκια νυχιών,οδοντόκρεμες,σαμπουάν, make up	Micro-MSPD με πιπέτα Pasteur	LC- MS/MS	Guerra
19 χρωστικές συμπεριλαμβανομένης της Ροδαμίνης	παιδικό σαμπουάν,παιδική οδοντόκρεμα,βαφές προσώπου,σκιές ματιών, βερνίκια νυχιών,βάλσαμο χειλιών	Micro-MSPD με σύριγγα 2 mL	LC- MS/MS	Guerra
Basic Blue 99, Acid Violet 43, Basic Brown 16, Basic Red 76 και Basic Yellow 57	Ημιμόνιμες Βαφές Μαλλιών	SPE	HPLC- DAD/ LC- MS/MS	Franco
CI 14700, CI 14720, CI 15510, CI 15985, CI 16035, CI 16185, CI 16255, CI 19140, CI 42051, CI 42090, CI 44090, CI 47005, CI 60730, CI 73015	κραγιόν,σαμπουάν,shower gel,μάσκες ομορφιάς, οδοντόκρεμες,lip gloss,κρέμες, βούτυρα σώματος	Single Step VE	LC- MS/MS	Guerra
Brilliant Blue FCF	Σαμπουάν, Eau de Toilette	IL-DLLME	UV-Vis	Guo
Ροδαμίνη B	Κραγιόν	SPE	UV-Vis	Soylak
Ροδαμίνη B	Βερνίκια νυχιών,κραγιόν,ρουζ	THF+Δεκανοϊκό οξύ	UV-Vis	Ozkantar
Ροδαμίνη B	Κραγιόν	SPE+CPE	UV-Vis	Bisgin

7 οξειδωτικές χρωστικές	Βαφές μαλλιών	VE/UAE/MSPD	GC-MS/MS	Guerra
-------------------------	---------------	-------------	----------	--------

Πίνακας 9. Βασικές μέθοδοι προσδιορισμού οργανικών, συνθετικών και οξειδωτικών χρωστικών

και επιπρόσθετα παρουσιάζονται 2 ακόμα πίνακες με την σύγκριση των μεθόδων βάσει των βασικών τους παραμέτρων. Στον πίνακα 10 συγκρίνονται οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για προσδιορισμό πολλαπλών χρωστικών σε διάφορες καλλυντικές μήτρες,

Τεχνική	HPLC-DAD			LC-MS/MS		
Προετοιμασία Δείγματος	SPE	SPE	SPE	Micro MSPD/πιπέτα Pasteur	Micro-MSPD/σύριγγα 2 mL	Single Step VE
Κόστος	Χαμηλό	Χαμηλό	Υψηλό	Χαμηλό	Μεσαίο	Χαμηλό
Χρονική διάρκεια	Μεσαία	Μεσαία	Μεσαία	Χαμηλή	Χαμηλή	Χαμηλή
Πολυστοιχειακή Ανάλυση	✓	✓	✓	✓	✓	✓
RSD %	-	-	-	< 16 %	< 15 %	< 13 %
LOD	-	0,53-2,98 10^{-7} mol L ⁻¹	Παρόμοια με HPLC-DAD	-	0,476 $\mu\text{g g}^{-1}$	-
LOQ	-	1.08-3.66 10^{-7} mol L ⁻¹	Παρόμοια με HPLC-DAD	-	-	3.437 $\mu\text{g g}^{-1}$

Πίνακας 10. Σύγκριση των 6 μεθόδων προσδιορισμού πολλαπλών χρωστικών με βάση βασικές παραμέτρους

ενώ στον πίνακα 11 συγκρίνονται οι τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό συγκεκριμένων/απαγορευμένων χρωστικών (Brilliant Blue FCF, Ροδαμίνη Β) σε καλλυντικοτεχνικές μορφές.

Τεχνική	UV-Vis				
Προετοιμασία Δείγματος	IL-DLLME	SPE	THF+Δεκανοϊκό Οξύ	SPE	CPE
Κόστος	Χαμηλό	Χαμηλό	Εξαιρετικά χαμηλό	Χαμηλό	Χαμηλό
Χρονική Διάρκεια	Χαμηλή	Χαμηλή	Εξαιρετικά χαμηλή	Χαμηλή	Χαμηλή
RSD %	0,82 %	5 %	5,8 %	< 4 %	< 7 %
LOD	0,34 $\mu\text{g g}^{-1}$	3.14 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,49 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,2 $\mu\text{g g}^{-1}$	0,7 $\mu\text{g g}^{-1}$
LOQ	-	-	1,47 $\mu\text{g g}^{-1}$	3,2 $\mu\text{g g}^{-1}$	1,9 $\mu\text{g g}^{-1}$

Πίνακας 11. Σύγκριση των 5 μεθόδων προσδιορισμού συγκεκριμένων/απαγορευμένων χρωστικών με βάση βασικές παραμέτρους

Σχετικά με τις μεθόδους ανάλυσης και προσδιορισμού των βαρέων μετάλλων σε προϊόντα καλλωπισμού, η μέθοδος που χρησιμοποιείται κυρίως είναι η Φασματομετρία Ατομικής Απορρόφησης με φλόγα. Η συγκεκριμένη μέθοδος μπορεί να ανιχνεύσει και μικρές συγκεντρώσεις όλων των βαρέων μετάλλων που μπορεί να περιέχονται σε μία μορφή καλλυντικού. Καθώς όμως τελευταία παρατηρούνται προϊόντα που περιέχουν ακόμα και ίχνη μετάλλων, κυρίως μέσω μετανάστευσης από την επιφάνεια των σκευών, η μέθοδος ICP – MS κερδίζει έδαφος μέσω της ικανότητας της να ανιχνεύει ακόμα και ιχνοποσότητες των ουσιών αυτών, χαρίζοντας αρκετά χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Βιβλιογραφία

- Adkins, L. (1998). Handbook to life in Ancient Greece. OUP., 1-514
- Alam, M., Rahman, M. & Haque, M. (2007). Extraction of Henna Leaf Dye and its Dyeing Effects on Textile Fibre., 42: 217–222. doi.org/10.3329/bjsir.v42i2.475
- Alderman, O.L., Skinner, L.B., Benmore, C.J., Tamalonis, A. & Weber, J.K. (2014). "Structure of molten titanium dioxide". *Physical Review B*. 90 (9): 094204
- Ashok, R. (1993). Artists' Pigments: A Handbook of Their History and Characteristics. *National Gallery of Art*. 2: 39.
- Barrows, J. N., Ph.D., Lipman, A. L., Ph.D. & Bailey, C. J., M.Ed. Series Editor: Cianci. S. (2003, October/November). Color Additives: FDA's Regulatory Process and Historical Perspectives, *Food Safety Magazine*
- BBC News. (2000). Earliest evidence of art found
- Benkhaya, S., M'rabet, S. & El Harfi, A. (2020). Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, 6: 1-26
- Benkhaya, S., M'rabet, S. & El Harfi, A. (2020, January, 31). Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes, *Heliyon*, 6(1):e03271. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03271
- Bisgin, A.T., Surme, Y., Ugan, M. & Narin, I. (2018). Separation, Preconcentration and Spectrophotometric Determination of Rhodamine B in Industrial, Cosmetic and Water Samples by Cloud Point and Solid Phase Extraction. *J. Anal. Chem.*, 73, 452–458. doi:10.1134/S1061934818050040
- Britannica. (n.d). Azo dye, Article History. <https://www.britannica.com>
- Buszewski, Boguslaw; Szultka & Malgorzata (2012, July). Past, Present, and Future of Solid Phase Extraction: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 42 (3): 198–213. doi:10.1080/07373937.2011.645413
- Buzek, J. (2009). B. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. *Off. J. Eur. Union* L342 2009, 52, 59–209.
- CDC. National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). (n.d). Zinc oxide". *Immediately Dangerous to Life or Health Concentrations (IDLH)*. <https://www.cdc.gov>

- Choudhury, R. (2011). 2 - Dyeing of synthetic fibres, Handbook of Textile and Industrial Dyeing, Volume 2 in Woodhead Publishing Series in Textiles, Pages 40-128. doi:10.1533/9780857094919.1.40
- Cosmetics info. (n.d). Ultramarines. <https://www.cosmeticsinfo.org>
- Cordua, W.S. (2000). Cosmetic minerals of Ancient Egypt. Leaverite News., 25: 4
- Dietrich, M., Gleissner, N. & Waldhäuser, S. (2016). Indigo – Das Heumann-Pfleger-Verfahren. Universität Bayreuth, 1-10
- Dr. Baumann, L. (2024, December, 10). The Science of Iron Oxide in Skin Care, Skin Type Solutions. <https://skintypesolutions.com>
- Dr. Dembny (2019, Jun, 18). Critical Wavelength and Broad-Spectrum UV Protection. <https://drdembny.com>
- Ebrahimi, I., Parvinzadeh Gashti M. (2016). Extraction of polyphenolic dyes from henna, pomegranate rind, and Pterocarya fraxinifolia for nylon 6 dyeing. Coloration Technol., 32: 162-176. doi:10.1111/cote.12204
- Emsley, J. (2001). *Nature's Building Blocks: An A–Z Guide to the Elements*. Oxford: Oxford University Press. pp. 451–53.
- European Union. (2009, November, 30). Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products. <https://eur-lex.europa.eu>
- EWG's Skin Deep. (n.d). Cosmetics Database. <https://www.ewg.org>
- FDA. (2025). Ext. D&C Yellow No. 7, Regulatory Status of Color Additives. <https://www.hfpappexternal.fda.gov>
- Franco, J.H., Silva, B.F., Zanoni, M.V.B. (2015). Using ionic liquid combined with HPLC-DAD to analyze semi-permanent hair dyes in commercial formulations. Anal. Methods, 7, 1115–1122. doi:10.1039/c4ay02311k
- Freepatentsonline, (n.d). Manufacture of ultramarine. <https://www.freepatentsonline.com>.
- Gessner T., Mayer U. (2000). Triarylmethane and Diarylmethane Dyes. Ullmann's encycl. ind. Chem
- Gross, J. (1991). *Pigments in vegetables: chlorophylls and carotenoids*. Van Nostrand Reinhold.

- Guerra, E., Alvarez-Rivera, G., Llompart, M. & Garcia-Jares, C. (2018). Simultaneous determination of preservatives and synthetic dyes in cosmetics by single-step vortex extraction and clean-up followed by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, 188, 251–258. doi: 10.1016/j.talanta.2018.05.054
- Guerra, E., Celeiro, M., Lamas, J.P., Llompart, M. & Garcia-Jares, C. (2015). Determination of dyes in cosmetic products by micro-matrix solid phase dispersion and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, 1415, 27–37. doi: 10.1016/j.chroma.2015.08.054
- Guerra, E., Lamas, J. P., Llompart, M. & Garcia-Jares, C. (2017, February). Determination of oxidative hair dyes using miniaturized extraction techniques and gas chromatography-tandem mass spectrometry, *Microchemical Journal* 132. doi:10.1016/j.microc.2017.02.017
- Guerra, E., Llompart, M. & Garcia-Jares (2017). C. Miniaturized matrix solid-phase dispersion followed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantification of synthetic dyes in cosmetics and foodstuffs used or consumed by children. *J. Chromatogr.*, 1529, 29–38. doi: 10.1016/j.chroma.2017.10.063
- Guo, J., Wu, H., Du, L. & Fu, Y. (2013). Determination of Brilliant Blue FCF in food and cosmetic samples by ionic liquid independent disperse liquid-liquid micro-extraction. *Anal. Methods*, 5, 4021–4026. doi:10.1039/C3AY40362A
- Gupta, P. (1997). Bixa Orenalla: A Review on its Phytochemistry, Traditional and Pharmacological uses. *World J. Pharm. Res.*, 1-11
- Hennion, Marie-Claire (1999). Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. **856** (1–2): 3–54. doi: 10.1016/S0021-9673(99)00832-8
- Hunger K. (2003). *Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications*. Wiley. Weinheim, 1-684
- Iwegbue, C. M. A., Bassey, F. I., Obi, G., Tesi, G. O., & Martincigh, B. S. (2016). Concentrations and exposure risks of some metals in facial cosmetics in Nigeria. *Toxicology Reports*, 3, 464–472. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.04.004
- Khan, A. D., Alam, M. N. (2019, April). Cosmetics and Their Associated Adverse Effects: A Review, *Journal of Applied Pharmaceutical Sciences and Research*

- Kröppl, M. (2024, May, 31). Indigo – Development of Chemical Synthesis Procedures, Novel Journal of Applied Sciences Research
- Lamav, Organic Skin Science. (n.d). Glow with Iron Oxide: Skin Benefits. <https://lamav.com>
- Larkum, A.W., Douglas, S. & Raven, J..A., eds. (2003). *Photosynthesis in algae*. London: Kluwer.
- Lloyd, A. G. (1980). Extraction and chemistry of cochineal. Food Chem., 5(1):91–107.
- [Medievalists.net](https://www.medievalists.net). (n.d). Colour in the Middle Ages. <https://www.medievalists.net>
- Miller, Brittney J. (2022, March, 25). Cochineal, a red dye from bugs, moves to the lab. <https://knowablemagazine.org>
- More BD (2007). Physical sunscreens: on the comeback trail. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*. 73 (2): 80–5
- National Library of Medicine. PubChem. (n.d). FD&C Blue No. 1 Aluminum Lake. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- National Library of Medicine. PubChem. (n.d). Malachite Green. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Naval Jelly with Rhodamine B. (1998). Loctite Corporation. MSDS, 1-4
- Nohynek, G. J., Fautz, R., Benech-Kieffer, F.& Toutain, H. (2004, April, 4). Toxicity and human health risk of hair dyes, Food and Chemical Toxicology, Volume 42, Issue 4, Pages 517-543. doi: 10.1016/j.fct.2003.11.003
- Nuhu, A. A., Basheer, S. & Saad, B. (2011, May, 15) Liquid-phase and dispersive liquid–liquid microextraction techniques with derivatization: Recent applications in bioanalysis, Journal of Chromatography B, Volume 879, Issues 17–18, Pages 1180-1188. doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.009
- Ozkantar, N., Soylak, M., Tuzen, M. (2017). Spectrophotometric detection of rhodamine B in tap water, lipstick, rouge, and nail polish samples after supramolecular solvent microextraction. Turkish J. Chem., 41, 987–994. doi:10.3906/kim-1702-72
- Przyjazny, A. (2019). Extraction | Liquid-Phase Microextraction, Encyclopedia of Analytical Science (Third Edition), Pages 52-62. doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12678-2
- Power, C. (2004). Women in Prehistoric Art. New Perspectives on Prehistoric Art. Praeger. London, 75-103

- Rastogi, S.C., Barwick, V.J. & Carter, S.V. (1997). Identification of organic colourants in cosmetics by HPLC-diode array detection. *Chromatographia*, 45, 215–228. doi:10.1007/BF02505563
- Rüegg, R. (1984). Extraction Process for Beta-Carotene. USPTO, 1-4
- Saek-artas.art.sch. (n.d). Κεφάλαιο 7-Χρωστικές Ύλεις. <https://saek-artas.art.sch.gr>
- Skoog, D. A., Holler, F. J. & Crouch, S. R. (2007). Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης, 6^η Έκδοση.
- Smith, J., Wallin, H. (2006). Annatto Extracts: Chemical and Technical Assessment, JECFA, 1-21
- Soylak, M., Unsal, Y.E., Yilmaz, E. & Tuzen, M. (2011). Determination of rhodamine B in soft drink, waste water and lipstick samples after solid phase extraction. *Food Chem. Toxicol.*, 49, 1796–1799. doi: 10.1016/j.fct.2011.04.030
- SpecialChem, The material selection platform. (n.d). CI 77492, CI 77491, CI 77499, CI 77489. <https://cosmetics.specialchem.com>
- Supelco. (1998), *Guide to Solid Phase Extraction* (PDF)
- Tsatsarou, A., Alexopoulou, A., Bizoumi Macha, N. & Karatzani, A. (2023). Traditional Natural Dyeing Materials Used in Greece from the 19th Century Onwards, *Heritage*, 6(4), 3567-3577. doi.org/10.3390/heritage6040189
- Turner, A. (2023, September, 15). Lead and mercury in historical books and their contribution to dust contamination, *Journal of Hazardous Materials*, Volume 458, 131981. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131981
- Ultramarine-Blue-Pigment (2018, October, 11) . Analysis, Applications, Process, Patent, Consultants, Company Profiles, Suppliers, Market, Report. Primary Information Services. <https://www.primaryinfo.com>
- Vellis Chemicals. (n.d). Green Chrome GX. <https://vellischem.gr>
- Völz, Hans G., et al. (2006). "Pigments, Inorganic". *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim: Wiley-VCH.
- Walter, P. et al. (1999). Making make-up in Ancient Egypt. *Nature*, 397: 483–484
- Wargala, E., Ślawska, M., Zalewska, A. & Toporowska, M. (2021). Health Effects of Dyes, Minerals, and Vitamins Used in Cosmetics, *Women*, 1(4), 223-237. doi.org/10.3390/women1040020

- Wiley (1999), Review of Using Rhodamine B as a Marker for Wildlife Studies, Wildlife Society Bulletin, Vol. 27, No. 2, pp. 318-329 <https://www.jstor.org>
- Xu Liang, Tingting Feng, Jian-Hai Wu & Ming Du (2018. March). Vortex-Assisted Liquid-Liquid Micro-extraction Followed by Head Space Solid Phase Micro-extraction for the Determination of Eugenol in Fish Using GC-MS, Food Analytical Methods 11(3). doi:10.1007/s12161-017-1049-1
- Μπογιατζής, Σ., Επιστήμη Υλικών II
- Τσιρίβας, Ε., Βαρβαρέσου, Α. & Παπαγεωργίου, Σ. (2013). Βασικές Αρχές Κοσμητολογίας, 1-184

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.

