

CONTROL DE CONSERVANTES EN COSMÉTICOS: SENSORES ELECTROQUÍMICOS BASADOS EN NANOPARTÍCULAS DE ORO

Lucía Abad-Gil, Beatriz Gómez-Nieto, María Jesús Gismera, María Teresa Sevilla,

Jesús R. Procopio

Grupo de Investigación en Sensores y Especiación Metálica (GISEM)
Departamento de Química Analítica y Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Madrid,
28049, Madrid, España
jrprocopio@uam.es

Abstract

La presencia de determinados compuestos, como los conservantes, en los cosméticos puede tener efectos perjudiciales para la salud de los consumidores. Por este motivo, el desarrollo de metodologías analíticas rápidas y sencillas para la determinación de conservantes es de gran interés para la sociedad. En este artículo se muestran las nuevas herramientas desarrolladas en nuestro grupo de investigación para la determinación de dos de los conservantes más utilizados: metilisotiazolinona (MIT) y alcohol bencílico (AB). Ambas herramientas se basan en sensores electroquímicos nanoestructurados con nanopartículas de oro (AuNP). Para la modificación de los sensores se han evaluado dos vías: síntesis electroquímica *in-situ* sobre la superficie del electrodo para la determinación de MIT y síntesis fotoquímica y posterior modificación por drop-casting para la determinación de AB. Las AuNP obtenidas se han caracterizado empleando técnicas de microscopía electrónica (SEM, TEM) y/o espectroscopía de absorción atómica, técnica que permite estimar tanto la concentración como el tamaño de partícula.

1. Conservantes en cosméticos: Importancia, riesgos y métodos de análisis

La preocupación de la sociedad actual por el cuidado personal se refleja en un crecimiento constante de la industria cosmética [1]. El Reglamento Europeo (CE) No 1223/2009 define producto cosmético como “*toda sustancia o mezcla destinada a ser puesta en contacto con las partes superficiales del cuerpo humano (epidermis, sistema piloso y capilar, uñas, labios y órganos genitales externos) o con los dientes y las mucosas bucales, con el fin exclusivo o principal de limpiarlos, perfumarlos, modificar su aspecto, protegerlos, mantenerlos en buen estado o corregir los olores corporales*” [2]. De acuerdo con esta definición, el término cosmético, engloba a una gran variedad de productos de uso diario, desde cosméticos para el cuidado de la piel (geles, champús, cremas, etc.) hasta cosméticos decorativos (sombas de ojos, pintalabios, etc.). Los productos cosméticos están formados por compuestos, principalmente de origen sintético, que desempeñan diferentes funciones, como son los aditivos o correctores que se añaden para evitar el deterioro del producto y mejorar sus propiedades [3]. El elevado contenido en agua de muchos cosméticos les

convierte en un ambiente ideal para la proliferación de microorganismos que pueden alterar las características del producto como olor y/o color, y pueden suponer un riesgo para la salud del consumidor. Por tanto, la presencia de los aditivos o correctores en los productos cosméticos es esencial para garantizar la calidad del producto y la seguridad del consumidor [3]. Dentro de este grupo de sustancias se encuentran los conservantes que se añaden a las formulaciones cosméticas para inhibir el crecimiento microbiano. Existe una gran variedad de familias de conservantes, entre las que destacan, por su elevado uso en las formulaciones cosméticas, las isotiazolinonas y alcoholes, así como sus derivados [3].

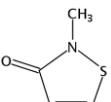
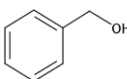
Los conservantes de tipo isotiazolinona se caracterizan por sus excelentes propiedades antimicrobianas, antivíricas, antifúngicas y antibacterianas, motivo por el cual no solo se añaden a cosméticos, si no también, a pinturas al agua, biodiesel, pegamentos, etc. [4-6]. La metilisotiazolinona (MIT) es el conservante de tipo isotiazolinona más utilizado en los productos cosméticos [7]. De los conservantes de tipo alcohol y derivados, cabe destacar el alcohol bencílico (AB), que se utiliza también como fragancia y, además permite controlar la viscosidad del medio [8].

A pesar de las enormes ventajas que supone la presencia de los conservantes en los productos cosméticos, estos compuestos pueden suponer un riesgo para la salud, ya que diferentes estudios han demostrado que pueden ser causa de sensibilización o alergia [9, 10]. Por este motivo, su concentración máxima permitida en los productos cosméticos está regulada en el Reglamento Europeo No 1223/2009 [2, 11]. En la Tabla 1 se muestran las estructuras de MIT y AB y sus concentraciones máximas permitidas de acuerdo con la legislación vigente. Como se puede ver, la concentración máxima permitida para el MIT es menor que para el AB, debido a la menor toxicidad y capacidad para irritar la piel de este último.

Para controlar el contenido de MIT y AB en los productos cosméticos es prioritario el desarrollo de metodologías de análisis adecuadas y fiables. La cromatografía de líquidos de alta eficacia con detectores de diodo-array (HPLC-DAD) y masas (HPLC-MS) son las técnicas por excelencia para el análisis de MIT y AB en cosméticos

[12, 13]. A pesar de las ventajas de las técnicas cromatográficas, éstas se caracterizan también por elevados tiempos de análisis, necesidad de tratamiento de muestra, empleo de instrumentación costosa y necesidad de personal cualificado, principalmente en HPLC-MS. Las técnicas electroquímicas se han convertido en una alternativa frente a las cromatográficas debido a su bajo coste, apropiada sensibilidad, fácil uso y rapidez, lo que permite una toma rápida de decisiones. Además, la posibilidad de modificar la superficie de los electrodos *ad-hoc* al analito de interés, convierte a las técnicas electroquímicas en herramientas muy útiles para obtener información analítica de calidad. La presencia de grupos electroactivos en las moléculas de conservantes como MIT y AB, hace posible el desarrollo de metodologías de análisis basadas en sensores electroquímicos.

Tabla 1. Estructuras químicas y concentraciones máximas permitidas de MIT y AB en los productos cosméticos de acuerdo con el Reglamento No 1223/2009.

Conservante	Estructura química	Concentración máxima permitida (% p/p)
Metilisotiazolona (MIT)		0.0015
Alcohol bencílico (AB)		1.0

2. Desarrollo de sensores electroquímicos basados en nanopartículas de oro

Las nanopartículas metálicas se encuentran entre los materiales más utilizados en la modificación de la superficie del electrodo de trabajo de los sensores electroquímicos. El gran interés en el desarrollo de sensores nanoestructurados con estos materiales se debe a su fácil integración en los soportes electródicos, y a las mejoras observadas en la conductividad de las superficies modificadas y en la respuesta de los dispositivos, como por ejemplo un aumento de la sensibilidad.

Entre las nanopartículas metálicas más utilizadas, destacan las nanopartículas de oro (AuNP) debido a sus excelentes propiedades electrónicas y catalíticas, su buena respuesta, biocompatibilidad y mayor ventana de potencial para la oxidación respecto a otros metales [14]. Estas nanopartículas pueden presentar diferentes formas, cargas y tamaños influyendo en sus propiedades y por ende en las del sensor desarrollado. La síntesis de AuNP es, por tanto, una etapa fundamental para obtener nanopartículas con unas propiedades determinadas. Existen diferentes métodos de síntesis de AuNP como los sonoquímicos, electroquímicos, fotoquímicos o los métodos basados en el uso de un reductor químico [15].

En nuestro grupo de investigación, se han evaluado diferentes modos de síntesis de AuNP más sostenibles que los basados en el uso de reductores químicos, como son las síntesis electroquímica y fotoquímica. Estos dos métodos de síntesis evitan el uso de reactivos tóxicos y disminuyen la generación de residuos. En la Fig. 1 se muestra un esquema de los dos modos de síntesis optimizados en nuestro grupo de investigación para el desarrollo de sensores electroquímicos para la determinación de MIT y AB.

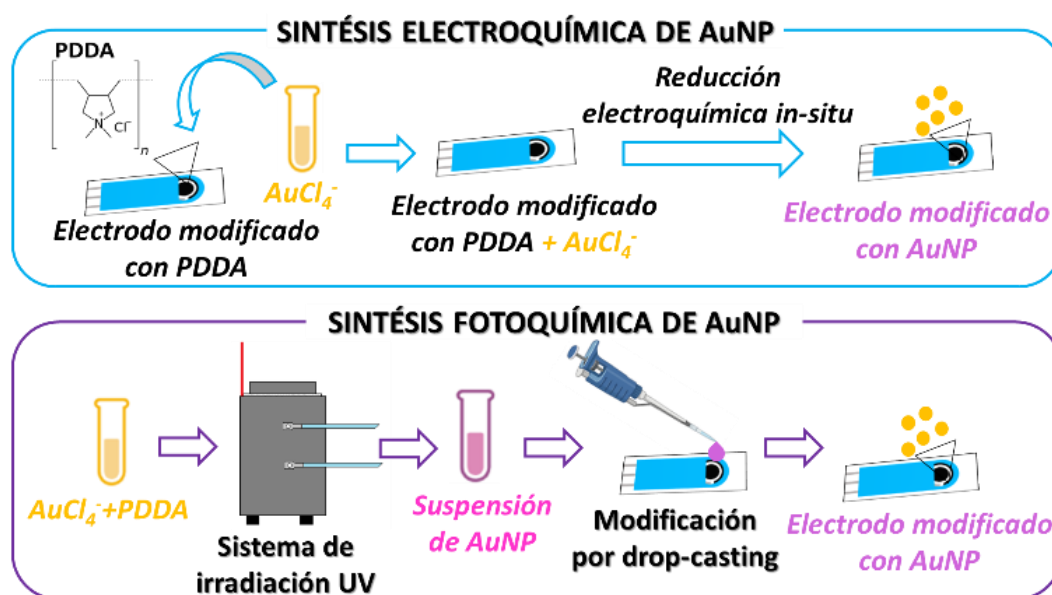


Fig. 1. Modos de síntesis de AuNP optimizados por nuestro grupo de investigación.

En el caso de la síntesis electroquímica, la formación de las AuNP se produce *in-situ* sobre la superficie del electrodo tras la reducción electroquímica del precursor tetracloruro de oro (AuCl_4^-) incorporado en la superficie del electrodo de trabajo de electrodos serigrafiados de carbono (SPCE) mediante intercambio iónico. Como se puede ver en la Fig. 1, en un primer paso los SPCE se modifican, mediante *drop-casting*, con una disolución acuosa del polímero catiónico cloruro de poli dialildimetilamonio (PDDA). Las interacciones electrostáticas entre el agente precursor y el PDDA favorecen una distribución homogénea de los centros de nucleación, evitando de esta manera la formación de agregados [16].

La síntesis fotoquímica de AuNP se basa en la fotoreducción del agente precursor. En nuestro grupo de investigación, (ver Fig. 1), se emplea un sistema de irradiación para llevar a cabo la fotoreducción y, se añade al medio de reacción el polímero PDDA que actúa como agente estabilizante para evitar la formación de agregados. En presencia de este polímero, además, se observa un mayor rendimiento de la reacción y una disminución del tiempo de irradiación necesario para generar las AuNP, debido a que el PDDA está involucrado en el proceso de reducción. A diferencia de la síntesis electroquímica en la que las AuNP se obtienen *in-situ* sobre la superficie del electrodo, para obtener los sensores electroquímicos modificados con las AuNP generadas fotoquímicamente, la superficie del electrodo se modifica con la dispersión de AuNP mediante el método de *drop-casting* [17].

3. Caracterización de las AuNP

Para evaluar el tamaño, forma, y concentración de las AuNP se pueden utilizar distintas técnicas instrumentales. La microscopía electrónica de barrido (SEM) y la microscopía electrónica de transmisión (TEM) se utilizan habitualmente para determinar el tamaño y forma de las NP, mientras que la resonancia de plasmón superficial y la dispersión dinámica de luz (DLS) se utilizan habitualmente para determinar el tamaño y/o evaluar la polidispersidad de las AuNP. Para determinar el contenido de Au y tamaño de las nanopartículas pueden emplearse técnicas atómicas como la espectroscopia de absorción atómica con cámara de grafito (GFAAS) o la espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) [18].

En nuestro caso, se ha empleado la Microscopía de Barrido de Emisión de Campo (FESEM) para la caracterización de las AuNP obtenidas electroquímicamente sobre la superficie del electrodo de trabajo. En la Fig. 2 se muestra la imagen FESEM obtenida, donde se pueden ver las AuNP con un tamaño promedio de 19 ± 6 nm. Además, cabe destacar la ausencia de agregados en la superficie del electrodo debido, probablemente, a las interacciones electrostáticas que se establecen entre el agente precursor y el PDDA.

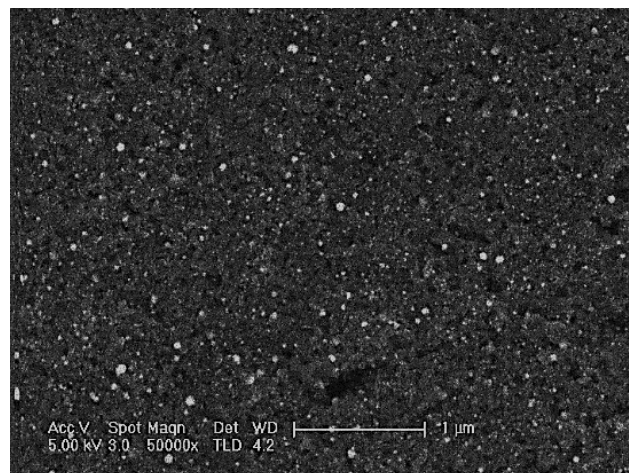


Fig. 2. Imagen FESEM de la superficie del electrodo de trabajo del transductor AuNP-EC-SPCE.

La morfología y el tamaño de la suspensión de AuNP obtenidas fotoquímicamente se han determinado mediante TEM y DLS. La Fig. 3 muestra la imagen TEM obtenida en las condiciones óptimas de concentración de precursor, porcentaje de PDDA, y tiempo de irradiación [17]. En este caso, las AuNP sintetizadas presentan una distribución de tamaños estrecha, forma esférica y un tamaño promedio de 13 ± 2 nm. El potencial zeta obtenido mediante DLS para esta suspensión ($+24 \pm 2$ mV) indica que las suspensiones son estables en el tiempo y que las nanopartículas están recubiertas del polielectrolito catiónico, PDDA, lo que demuestra la efectividad del PDDA como agente estabilizante de las suspensiones.

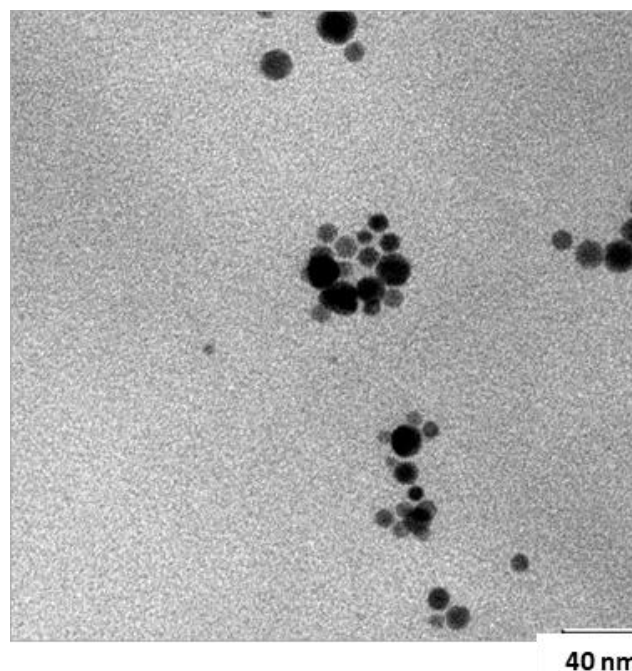


Fig. 3. Imagen TEM de la suspensión de AuNP obtenidas fotoquímicamente. Condiciones de síntesis: disolución de AuCl_4^- 7.20×10^{-4} mol L^{-1} en PDDA al 1.7%, 18 minutos de irradiación.

Las suspensiones de AuNP obtenidas fotoquímicamente también se han caracterizado empleando espectroscopía de absorción atómica de fuente continua y alta resolución en cámara de grafito (HR-CS-GFAAS) para no solo estimar el tamaño de las AuNP sino también para cuantificar el contenido de Au en las nanopartículas y diferenciar entre especies de oro (iones y NP) y así conocer el rendimiento de la reacción.

La capacidad de esta técnica para discriminar entre especies de Au y estimar tamaños de partícula de AuNP se basa en la diferente energía térmica que requieren dichas especies para su atomización, lo que produce cambios apreciables en la cinética de atomización y en el tiempo de aparición del máximo de las señales de absorbancia [19]. Como ejemplo, en la Fig. 4 se muestra como el aumento de tamaño de las AuNP produce un desplazamiento del máximo de las señales de absorbancia hacia tiempos más largos.

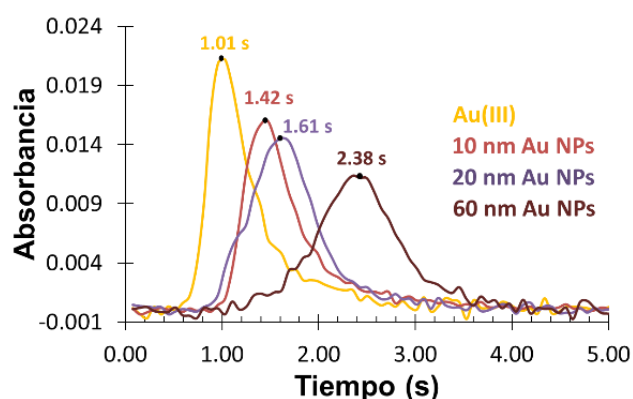


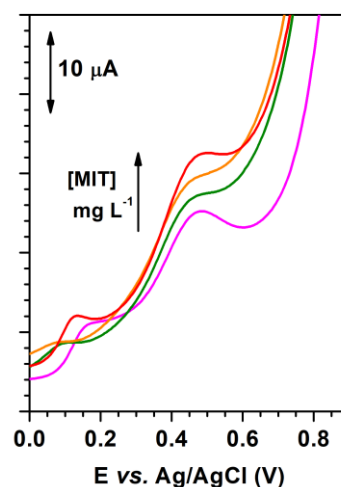
Fig. 4. Perfiles del pico de absorción atómica para disoluciones acuosas de $5.0 \mu\text{g L}^{-1}$ de Au^{3+} y para AuNP de diferentes tamaños.

4. Determinación de MIT y AB.

Los sensores nanoestructurados desarrollados se han empleado para la determinación de los conservantes MIT y AB. Los sensores electroquímicos modificados con las AuNP obtenidas electroquímicamente (AuNP-EC-SPCE) se han utilizado para la determinación de MIT. La respuesta electroquímica de este conservante se ha evaluado en $\text{NaOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$, observando un pico de oxidación debido al MIT a $+0.45 \text{ V}$. En estas mismas condiciones se ha observado un pico anódico a $+0.36 \text{ V}$ debido a la oxidación de las AuNP. En la Fig. 5, se muestran los voltamperogramas de barrido lineal obtenidos a diferentes concentraciones de MIT donde se puede ver el aumento de la intensidad del pico anódico a $+0.45 \text{ V}$ con la concentración del conservante.

En el caso del AB, se ha evaluado su respuesta sobre los sensores electroquímicos modificados con las AuNP generadas fotoquímicamente (AuNP-UV-SPCE). Este conservante, en $\text{KOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$, presenta un pico anódico a $+0.017 \text{ V}$, y al igual que se ha observado para el MIT, la señal anódica aumenta con la concentración de alcohol bencílico (Figura 6)

Figura 5. Voltamperogramas de barrido lineal de



disoluciones de MIT de concentraciones crecientes obtenidos sobre AuNP-EC-SPCE en $\text{NaOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$.

Con las metodologías desarrolladas basadas en el uso de sensores electroquímicos modificados con AuNP se han obtenido unos límites de detección (LOD) de 2.6 mg L^{-1} para el MIT sobre AuNP-EC-SPCE y de 2.8 mg L^{-1} para el AB sobre AuNP-UV-SPCE. Los LODs obtenidos para ambos compuestos son adecuados para llevar a cabo el análisis en cosméticos de acuerdo con las concentraciones máximas permitidas (Tabla 1).

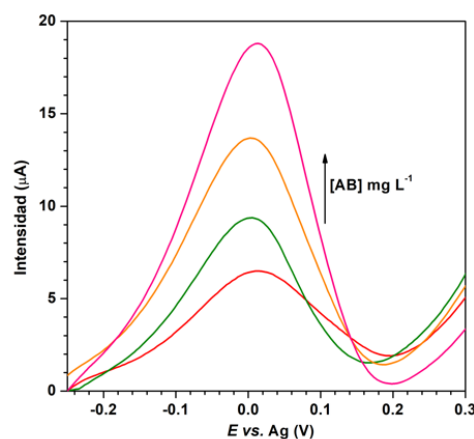


Figura 6. Voltamperogramas de barrido lineal de disoluciones de AB de distintas concentraciones obtenidos sobre AuNP-UV-SPCE en $\text{KOH } 0.1 \text{ mol L}^{-1}$.

La selectividad de ambos sensores en la determinación de MIT y AB también se ha evaluado, estudiando el efecto de diferentes sustancias interferentes en la señal analítica. En el caso del MIT, la presencia de otros conservantes como fenoxietanol u otros alérgenos como eugenol podrían interferir en la determinación de este conservante. En el caso del AB también se observan interferencias en presencia de algunos compuestos presentes en los cosméticos como el ácido ascórbico o el linalool.

La aplicabilidad del sensor AuNP-UV-SPCE para la determinación de AB se ha demostrado mediante el análisis del conservante en un producto cosmético obteniendo resultados comparables a los obtenidos mediante un método de HPLC-DAD. Estos resultados demuestran una adecuada selectividad del sensor para el análisis de AB en cosméticos.

Los resultados obtenidos para MIT y AB sobre los dos sensores nanoestructurados desarrollados demuestran la aplicabilidad de estos dispositivos en el análisis de conservantes en cosméticos, convirtiéndose en herramientas prometedoras.

5. Conclusiones

Se ha comprobado la capacidad de los métodos electroquímico y fotoquímico para la síntesis de AuNP con un tamaño y distribución adecuados para la preparación de sensores amperométricos.

Los sensores se han empleado con éxito en el desarrollo de métodos de análisis de conservantes que no son electroactivos sobre otros materiales de electrodo. Las metodologías presentan adecuados límites de detección, intervalos lineales y selectividades para la determinación de MIT y AB en cosméticos.

Referencias

- [1] Socio-Economic contribution of the European Cosmetics Industry 2019.
- [2] Reglamento (CE) No 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos.
- [3] Alvarez-Rivera G., Llompарт M., Lores M., Garcia-Jares C. Preservatives in cosmetics: regulatory aspects and analytical methods, in: A. Salvador, A. Chisvert (Eds.), Analysis of cosmetic products (Second Edition), Elsevier, 2018, pp. 175–224.
- [4] Thomsen A.V., Schwensen J.F., Bossi R., Banerjee P., Giménez-Arnau E., Lepoittevin J.P., Lidén C., Uter W., White I.R., Johansen J. D. (2017) Isothiazolinones are still widely used in paints purchased in five European countries: a follow-up study. Contact Dermatitis, 78: 246-253.
- [5] Luz G.V.S., Sousa B.A.S.M., Guedes A. V., Barreto C.C., Brasil L.M. (2018) Biocides used as additives to biodiesels and their risks to the environment and public health: A review. Molecules, 23: 2698.
- [6] Goodier M.C., Zang L.Y., Siegel P.D., Warshaw E.M. (2019) Isothiazolinone content of US consumer adhesives: Ultrahigh-performance liquid chromatographic mass spectrometry analysis. Dermatitis, 30: 129-134.
- [7] Lores M., Llompарт M., Álvarez-Rivera G., Guerra E., Vila M., Celeiro M., Lamas J. P., Garcia-Jares C. (2016) Positive lists of cosmetic ingredients: Analytical methodology for regulatory and safety controls- A review. Anal. Chim. Acta, 915: 1-26
- [8] Johnson W., Bergfeld W.F., Belsito D.V., Hill R.H., Klaassen C.D., Liebler D.C., Marks J.G., Shank R.C., Slaga T.J., Snyder P.W., Andersen F.A. (2017) Safety assessment of benzyl alcohol, benzoic acid and its salts, and benzyl benzoate. Int. J. Toxicol., 36: 5S-30S.
- [9] Herman A., Aerts O., Montjoye L., Tromme I., Goossens A., Baeck M. (2019) Isothiazolinone derivatives and allergic contact dermatitis: a review and update. JEADV, 33: 267–276.
- [10] Atwater A.R., Petty A. J., Liu B., Green C.L., Silverberg J.I., DeKoven J.G., Belsito D.V., Reeder M.J., Sasseville D., Taylor J.S., Maibach H.I., Zirwas M.J., Marks J.G., Zug K.A., Fowler J.F., Pratt M.D., DeLeo V.A., Warshaw E.M. (2021) Contact dermatitis associated with preservatives: Retrospective analysis of north american contact dermatitis group data, 1994 through 2016. J. Am. Acad. Dermatol. 84: 965-976.
- [11] Reglamento (UE) 2017/1224 de la comisión de 6 de julio de 2017 por el que se modifica el anexo V del Reglamento (CE) No 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los productos cosméticos.
- [12] Wittenberg J.B., Canas B.J., Zhou W., Wang P.G, Rua D., Krynitsky A.J. (2015) Determination of methylisothiazolinone and methylchloroisothiazolinone in cosmetic products by ultra-high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry: Liquid Chromatography. J. Sep. Sci., 38: 2983–2988.
- [13] Lecce R., Regazzoni L., Mustazza C., Incarnato G., Porrà R, Panusa A. (2016) Screening of preservatives by HPLC-PDA-ESI/MS: A focus on both allowed and recently forbidden compounds in the new EU cosmetics regulation. J. Pharm. Biomed. Anal., 125: 260–269.
- [14] Alim S., Vejayan J., Yusoff M.M., Kafi A.K.M. (2018) Recent uses of carbon nanotubes & gold nanoparticles in electrochemistry with application in biosensing: A review. Biosens. Bioelectron., 121: 125-136.
- [15] De Souza C. D., Nogueira B. R., Rostelato M.E.C.M. (2019) Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. J. Alloys Compd., 798: 714-740
- [16] Abad-Gil L., Gismera M.J., Sevilla M.T., Procopio J.R. (2020) Methylisothiazolinone response on disposable electrochemical platforms modified with carbon, nickel or gold-based nanomaterials. Microchim. Acta 187: 199.
- [17] Abad-Gil L., Gismera M.J., Sevilla M.T., Procopio J.R. (2023) Electrochemical sensing platform with gold nanoparticles capped by PDDA for benzyl alcohol determination. Microchim. Acta 190: 115.
- [18] S. López-Sanz, F. J. Guzmán Bernardo, R. C. Rodríguez Martín-Doimeadios, A. Ríos. (2019) Analytical metrology for nanomaterials: Present achievements and future challenges, Analytical Chimica Acta, 1059, 1-15.
- [19] A. Brandt, B. Gómez-Nieto, J. Friedland, R. Güttel, K. Leopold. (2020) Determination of activation energies for atomization of gold nanoparticles in graphite furnace atomic absorption spectrometry, Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy, 173, 105976.