

Danmarks Miljøundersøgelser
Afd. for Flora- og Faunækologi
Kalø, Grenåvej 12, 8410 Rønde

Analytisk-kemisk kontrol af
kemiske stoffer og produkter

1,2-dibrom-2,4- dicyanobutan i kosmetika

Faglig rapport fra DMU, nr. 95

Suresh C. Rastogi
Sys S. Johansen
Gitte H. Jensen
Afdeling for Miljøkemi

Datablad

| | |
|------------------------|---|
| Titel: | 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan i kosmetika. |
| Undertitel: | Analytisk-kemisk kontrol af kemiske stoffer og produkter. |
| Forfattere: | Suresh Chandra Rastogi, Sys Stybe Johansen og Gitte Hellerup Jensen |
| Afdelingsnavn: | Afdeling for Miljøkemi |
| Serietitel, nr.: | Faglig rapport fra DMU nr. 95 |
| Udgiver: | Miljøministeriet Danmarks Miljøundersøgelser © |
| Udgivelsesmåned og år: | December 1993 |
| Laboratoriemålinger: | Sys S. Johansen og Gitte. H. Jensen |
| ETB: | S. C. Rastogi & Majbritt Pedersen-Ulrich |
| Bedes citeres: | Rastogi S.C., Johansen S.S. & Jensen G.H. (1993): 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan i kosmetika. Analytisk-kemisk kontrol af kemiske stoffer og produkter. Danmarks Miljøundersøgelser. 23 s. Faglig rapport fra DMU, nr. 95. Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse. |
| Emneord: | Konserveringsmiddel, kosmetiske produkter, 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan, HPLC, elektrokemisk detektion, kosmetik bekendtgørelse. |
| ISBN: | 87-7772-134-9 |
| ISSN: | 0905-815X |
| Oplag: | 50 |
| Sideantal: | 23 |
| Pris: | Kr. 35,- (incl. moms, excl. forsendelse) |
| Købes hos: | Danmarks Miljøundersøgelser Afdeling for Miljøkemi Frederiksborgvej 399 Postboks 358 4000 Roskilde Tlf. 46 30 12 00 Fax. 46 30 11 14 |

Indhold

Resumé 5

1 Indledning 7

2 Prøver 9

3 Analysemetoder 11

4 Resultater 11

5 Diskussion 15

6 Referencer 17

7 Bilag I 19

Danmarks Miljøundersøgelser 23

Resumé

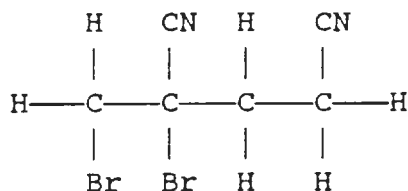
1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan (BCB) er et forholdsvis nyt konserveringsmiddel, der blev introduceret på det Europæiske marked i midten af firserne.

Det eventuelle BCB indhold i 27 kosmetiske produkter fra 16 kosmetik-producenter blev undersøgt for at kontrollere, 1) om disse produkter overholder Miljøministeriets bestemmelser i medfør af kosmetik bekendtgørelsen, og 2) omfanget af anvendelsen af BCB i kosmetiske produkter på det danske marked. Det blev påvist at 13 af de undersøgte produkter indeholdt 0,006 - 0,059% BCB. BCB blev påvist i alle 11 produkter, der var deklareret at indeholde stoffet. Produkter fra 6 kosmetisk producenter (37.5%) indeholdt BCB. Alle de undersøgte produkter overholdt Miljøministeriets bestemmelser om BCB indhold i kosmetiske produkter: højst tilladt koncentration 0,1%, dog højst 0,025% i solbeskyttelsesmidler.

Resultater af nærværende undersøgelse sammen med en fornylig udført hollandsk undersøgelse kunne pege på, at anvendelsen af BCB i kosmetiske produkter er tiltagende.

1 Indledning

1,2-dibromo-2,4 dicyanobutan (BCB, Figur 1) er et biocid, der anvendes som konserveringsmiddel i bl.a. kosmetiske produkter, malervarer, emballage til fødevarer, cement, træimprægnering, m.v. (1, 2).



Figur 1. BCB strukturformel

BCB identificeres ved en række synonymnavne som eks. 2-brom-2-(brommethyl)-pentandinitril; pentane-dinitrile, 2-bromo-2-(bromomethyl)-; 2-bromo-2-(bromomethyl)-glutaronitrile; methyldibromo glutaronitrile; Tektamer 38. Kommercielt markedsføres 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan (BCB) under navnene Euxyl K400 og Merguard™ 1200, der er en blanding af 20% BCB og 80% phenoxyethanol.

BCB blev introduceret på det Europæiske marked i midten af firserne. På grund af, at BCB er et bredspektret konserveringsmiddel, og at stoffet har minimale toksiske effekter/bivirkninger (2), antages BCB at være et attraktivt alternativ til andre udbredte konserveringsmidler i kosmetika som f. eks., Kathon CG, formaldehyd og formaldehyddonorer, der alle er kendte for at fremkalde kontaktallergi hos en del mennesker. Der er kun beskrevet meget få tilfælde af kontaktallergi forårsaget af BCB (3, 4). Det vides ikke i hvilket omfang BCB anvendes i kosmetiske produkter på det danske marked, men det formodes at anvendelsen af BCB til konservering af kosmetika er tiltagende.

Anvendelsen af BCB som konserveringsmiddel i kosmetika er tilladt i medfør af Miljøministeriets bekendtgørelse om kosmetiske produkter (5) med følgende begrænsninger: kosmetiske produkter må ikke indeholde over 0,1% BCB, dog må indholdet af BCB i solbeskyttelsesmidler ikke overstige 0,025%.

Miljøstyrelsen ønskede at kontrollere indholdet af BCB i kosmetiske produkter på det danske marked. Analytisk-kemisk kontrol af kemiske stoffer i kosmetika skal udføres ved EF godkendte analysemetoder, men der er endnu ikke en EF standard analysemetode til bestemmelse af BCB i kosmetiske produkter. I nærværende undersøgelse er en analysemetode til BCB i kosmetika derfor udarbejdet, og indholdet af BCB i 27 udvalgte kosmetiske produkter er undersøgt. Miljøstyrelsen vil på basis af de opnåede resultater tage stilling til, om det vil være hensigtsmæssigt at udføre en omfattende kontrol af BCB i kosmetiske produkter på det danske marked.

Arbejdet er udført som en bistandsopgave til Miljøstyrelsen.

2 Prøver

Prøveudvælgelsen blev baseret på deklARATIONER på kosmetiske produkter, især shampooer og cremer, i to store supermarkeder i Københavnsområdet. Produkter, der var deklareret at indeholde BCB, blev udtaget til analyse. Herudover blev enkelte kosmetiske produkter fra andre velkendte producenter udtaget til analyse af BCB. Kosmetiske produkter indeholdende BCB blev endvidere udtaget hos en producent af kosmetiske produkter, der på forhånd orienterede om anvendelse af BCB.

Miljøstyrelsen udtog i samarbejde med DMU prøverne til kontrol for BCB. I alt blev der udtaget 27 kosmetiske produkter fra 16 producenter/importører i perioden september-oktober 1993. Identifikationen af de udtagne produkter fremgår af Tabel 1.

Tabel 1. Identifikation af de undersøgte prøver.

| DMU-reg.nr. | Produktbetegnelse | Producent/Importør |
|-------------|---|-------------------------------|
| 3-1167 | Family fresh shampoo & Dusch, gel for men | Mølnlycke A/S |
| 3-1168 | Family fresh creme shampoo, vildsyren | Mølnlycke A/S |
| 3-1169 | Date duschcreme, Pamela | Mølnlycke A/S |
| 3-1170 | Bouble dusch, cool | Beiersdorf A/S |
| 3-1171 | Nivea Visage moisturising cleansing | Beiersdorf A/S |
| 3-1172 | Nivea dusch, Masculine | Beiersdorf A/S |
| 3-1173 | Nivea dusch creme | Beiersdorf A/S |
| 3-1174 | Nivea hair care, 2 i 1 formula plus | Beiersdorf A/S |
| 3-1175 | Naturelle, bodylotion | Pierre Robert |
| 3-1176 | Polykur glans balsam | A.V.Rørsgaard og Co. A/S |
| 3-1177 | VO5 shampoo, ekstra mild | Cedderoth A/S |
| 3-1178 | Exklusiv bodylotion | Nordisk Parfumevarefabrik A/S |
| 3-1179 | Palmolive extracare shampoo | Colgate-Palmolive A/S |
| 3-1180 | Elida elegant, balsam | Elida Gibbs |

Tabel 1. Fortsat.

| DMU-reg.nr. | Produktbetegnelse | Producent/Importør |
|-------------|--|--------------------|
| 3-1181 | Dagcreme | F-gruppen |
| 3-1182 | Waterlilly duschbad | F-gruppen |
| 3-1183 | Oil of Ulay refreshive beautytoner | Scansellers A/S |
| 3-1184 | Ambre solaire, moisturising toning milk, faktor 3 | Capilex A/S |
| 3-1185 | Plenitude plejende dagcreme | Capilex A/S |
| 3-1186 | Aponti baby hudcreme | Nestle Danmark A/S |
| 3-1187 | Natusan dagcreme, pH balance | Scansellers A/S |
| 3-1188 | Natusan babysunlotion, faktor 8 | Scansellers A/S |
| 3-1189 | Sanex sport bodyshampoo | Blumøller A/S |
| 3-1190 | Sanex dermoprotector bodylotion, oilfree | Blumøller A/S |
| 3-1191 | Lux beauty shower, sensitive | Lever A/S |
| 3-1409 | Efeu-Ivy hårshampoo | E. Tjellesen A/S |
| 3-1410 | Beauty and the Beast body lotion | E. Tjellesen A/S |

3 Analysemetode

BCB indholdet i kosmetiske produkter er undersøgt ved højtryks væskekromatografi (HPLC) som beskrevet i Bilag I. Analysen udføres ved omvendt HPLC med reduktiv elektrokemisk detektion. Metode udvikling og validering af analysemetoden er beskrevet i en særskilt rapport (6).

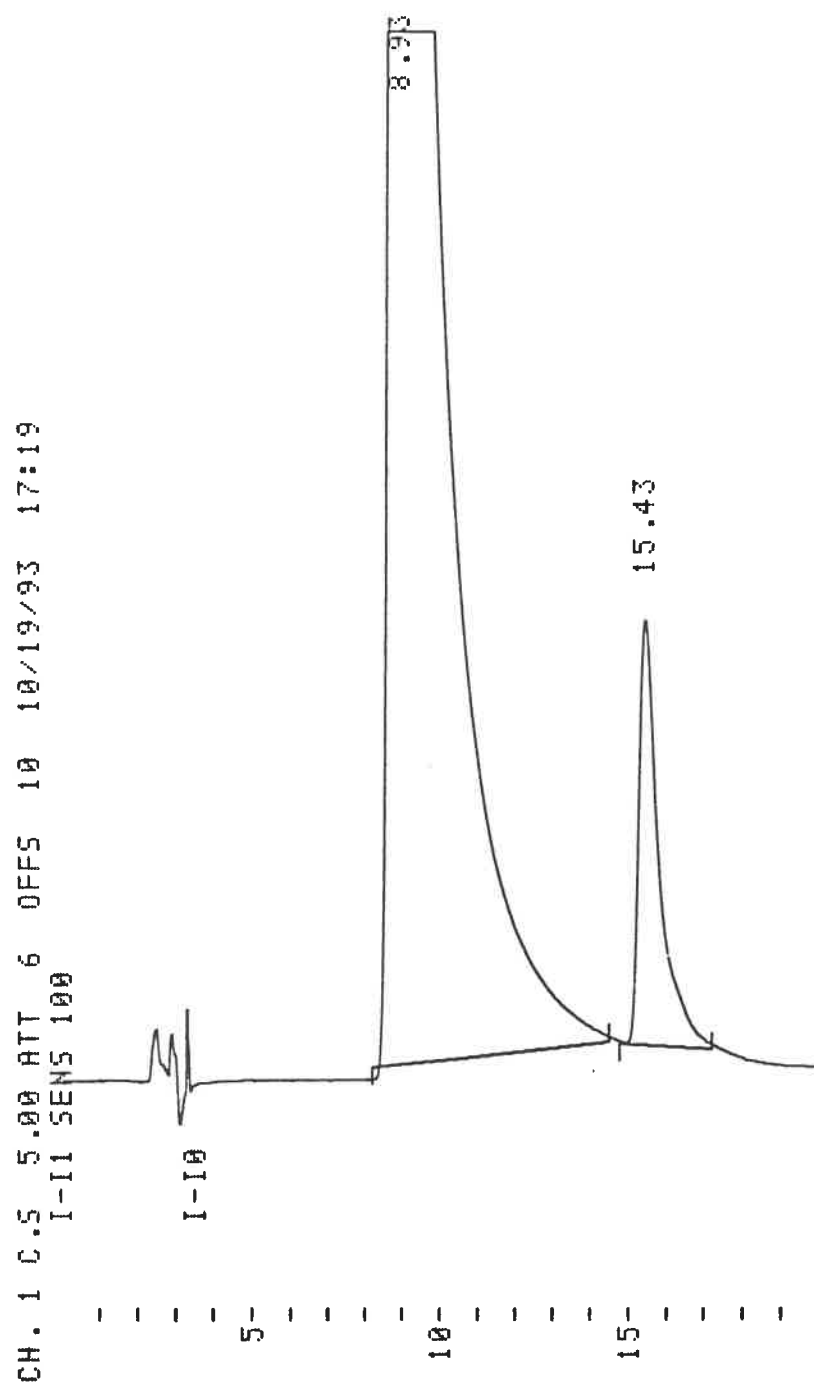
4 Resultater

I Figur 2 er der vist et typisk kromatogram som resultat af en HPLC analyse af BCB i et BCB-holdigt kosmetisk produkt. Som det ses (Figur 2) domineres kromatogrammet af en uidentificeret top (t_R 8.93 min). Kilden hertil kunne ikke spores (6). Toppen henføres til HPLC systemet og har som sådan intet med prøvens sammensætning at gøre. Denne spøgelsestop interferer dog ikke ved bestemmelse af BCB (t_R 15.43 min) i kosmetika. Detektionsgrænsen af analysemetoden er ca. 0,001% BCB i kosmetiske produkter med en relativ standard afvigelse på $< 3\%$.

Indholdet af BCB i kosmetiske produkter undersøgt ved nærværende arbejde fremgår af Tabel 2. I Tabel 2 er det også oplyst, om de undersøgte produkter var deklareret for at indeholde BCB. Som det fremgår af Tabel 2, blev det påvist, at 13 af de 27 undersøgte produkter indeholdt 0,006 - 0,059% BCB. Alle 11 kosmetiske produkter, med et deklareret indehold af BCB, indeholdt dette stof i koncentrationer 0,006 - 0,049%. Herudover viste resultaterne, at produkter fra 6 af de 16 kosmetikproducenter, der indgik i undersøgelsen, indeholdt BCB.

Figur 2.

HPLC-kromatogram af prøve nr. 3-1174. Retentionstiden af BCB 15,43 min.



Tabel 2. Indholdet af 1,2-dibromo-2,4-dicyanobutan (BCB) i de undersøgte kosmetiske produkter.

| DMU-reg.nr. | BCB indhold % (W/W) | Deklaration: indeholder BCB |
|-------------|---------------------|--------------------------------|
| 3-1167 | 0,006 | ja |
| 3-1168 | 0,007 | ja |
| 3-1169 | 0,007 | ja |
| 3-1170 | 0,026 | ja |
| 3-1171 | 0,011 | ja |
| 3-1172 | 0,016 | ja |
| 3-1173 | 0,029 | ja |
| 3-1174 | 0,028 | ja |
| 3-1175 | i.d. | nej |
| 3-1176 | i.d. | nej |
| 3-1177 | 0,007 | ja |
| 3-1178 | i.d. | nej |
| 3-1179 | i.d. | nej |
| 3-1180 | i.d. | nej |
| 3-1181 | i.d. | nej |
| 3-1182 | i.d. | nej |
| 3-1183 | 0,059 | nej |
| 3-1184 | i.d. | nej |
| 3-1185 | i.d. | nej |
| 3-1186 | 0,025 | nej |
| 3-1187 | i.d. | nej |
| 3-1188 | i.d. | nej |
| 3-1189 | i.d. | nej |
| 3-1190 | i.d. | nej |
| 3-1191 | i.d. | nej |
| 3-1409 | 0,032 | ja |
| 3-1410 | 0,049 | ja |

i.d.: ikke detekteret, detektions grænse ca. 0,001%.

5 Diskussion

Det blev påvist at 13 af de 27 undersøgte kosmetiske produkter indeholdt mellem 0,006 - 0,059% BCB. På baggrund af disse resultater vil det være vanskeligt at drage nogle konklusioner om omfanget af BCB anvendelse i kosmetiske produkter på det danske marked, idet der ved prøveudtagningen blev lagt vægt på at udtage produkter med deklareret BCB indhold. Endvidere bestod prøvematerialet kun af 27 produkter. På den anden side blev det påvist, at kosmetiske produkter fra 6/16 undersøgte producenter (37,5%) indeholdt BCB. I en fornylig udført hollandsk undersøgelse blev det påvist, at ca. 20% af 143 undersøgte kosmetiske produkter indeholdt BCB (7). Den hollandske undersøgelse kunne, sammenholdt med nærværende undersøgelse pege på at anvendelsen af BCB som konserveringsmiddel i kosmetiske produkter er tiltagende.

Alle de undersøgte produkter overholder Miljøministeriets bestemmelser, idet ingen af produkterne indeholder >0.1% BCB, der er den højst tilladte koncentration i medfør af kosmetik bekendtgørelsen.

6 Referencer

1. Lederer S.J., Jakubowski J.A. and Birnbaum H.A. (1982) An effective preservative for adhesives with health hazards. *Adhesive Age* 25: 28-32.
2. Price D., Iddon B. and Wakefield B.J. (1982) *Bromine Compounds: Chemistry and Applications*. 1st ed. Elsevier.
3. Mathias T.C.G (1983) Contact dermatitis to a new biocide (tektamer 38) used in a pate glue formulation. *Contact Dermatitis* 9: 418.
4. Pigatto P.D., Birgardi A., Legori A., Altomare G.F. and Carminati G. (1991) Allergic contact dermatitis from Tektamer 38 (dibrodicyanobutan). *Contact Dermatitis* 25: 138-139.
5. Miljøministeriets bekendtgørelse nr. 555 af 3. juni 1993. Bekendtgørelse om kosmetiske produkter.
6. Johansen S.S. (1993) Analysemetode til kvantitativ bestemmelse af 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan i kosmetik produkter. Speciale projekt udført ved Danmarks Miljøundersøgelser.
7. Weijland J.W., Stern A. and Rooselaar J. (1993) Determination of Bronopol, Bronidox and Methylidibromoglutaronitrile in cosmetic products by HPLC with electrochemical detection. Cosmetifarapport 54. Keuringsdienst van Waren, Enschede, Nederland.

Bilag I

Analysemetode til bestemmelse af 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan i kosmetiske produkter

1. Formål og anvendelsesområde

Denne metode anvendes til bestemmelse af 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan i kosmetiske produkter.

2. Definition

Den målte koncentration af BCB udtrykkes i masseprocent (% m/m).

3. Princip

1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan fra kosmetiske produkter ekstraheres i 80% methanol. Prøveekstraktet analyseres ved omvendtfase højtryks væskekromatografi (HPLC) med reduktiv elektrokemisk detektion.

4. Reagenser

Alle reagenser skal være analyserene, eller HPLC grade når det er nævnt. Vandet skal være Millipore vand eller tilsvarende, egnet til HPLC.

- 4.1 1,2-dibrom-2,4-dicyanobutan (BCB), standard stof fra BCR.
- 4.2 Methanol, HPLC grade
- 4.3 Acetone, HPLC grade fra Fluka.
- 4.4 Natriumsulfat
- 4.5 Natriumklorid
- 4.6 Mobile fase til HPLC: vand/acetone (600/400) indeholdende 0,02 M natrium sulfat og 0,002 M natriumklorid.
 - 4.6.1 Afvej 35,5 g natriumsulfat (4.4) i en 500 ml målekolbe, opløs i vand og fyld op til mærket med vand.
 - 4.6.2 Afvej 5,8 g natriumklorid (4.5) i en 500 ml målekolbe, opløs i vand og fyld op til mærket med vand.
 - 4.6.3 Bland 400 ml acetone (4.3), 40 ml natriumsulfat opløsningen (4.6.1) og 10 ml natriumklorid opløsning (4.6.2) i et 1 l måleglas, og fyld op med vand til 1 l. Blandingen ultralyd-behandles i 30 min. Den mobile fase fremstillet således, skal afgasses konstant med helium ved HPLC udførelse.
- 4.7 80% Methanol: 800 ml methanol blandes med 200 ml vand og blandingen ultralyd behandles 30 min. Denne blanding anvendes til fremstilling af kalibreringsstandarder samt til prøvetilberedning.

- 4.8 BCB-standard opløsning.
- 4.8.1 BCB-stamopløsning: afvej ca. 0.05g BCB nøjagtigt i en 100 ml målkolbe, opløs og fyld op til mærket med methanol (4.2). Opløsningen er holdbar i mindst 1 uge.
- 4.8.2 BCB-kalibreringsstandarder: 20 µl, 100 µl, 200 µl, 500 µl og 800 µl BCB-stamopløsning (4.8.1) afpippeteres separat i 10 ml målekolber, fyldes op til mærket med 80% methanol (4.7) og blandes. Disse opløsninger indeholder h.h.v. 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 25 ppm og 40 ppm BCB, når stamopløsningen (4.8.1) indeholder nøjagtigt 0.05000g BCB. Opløsningerne laves frisk hver dag.

5. Apparatur

- 5.1 HPLC pumpe, Millipore 510, eller tilsvarende
- 5.2 Autosampler, Millipore Wisp 712, eller tilsvarende
- 5.3 Elektrokemisk detektor BAS (Bio Analytical System), eller tilsvarende. Reference elektrode af sølv (Ag/AgCl) og guld arbejds elektrode.
- 5.4 Hitachi D-2000 integrator, eller tilsvarende.
- 5.5 Zorbax C8 HPLC kolonne, 25 cm x 0,46 cm, kornstørrelse 5 µm; eller tilsvarende. Forkolonne af rustfrit stål 2 cm x 0,46 cm, pakket med Corasil C18, kornstørrelse 37-55 µm.
- 5.6 Vandbad, 60°C
- 5.7 Ultralydsbad
- 5.8 Centrifuge
- 5.9 Almindeligt laboratorieudstyr

6. Prøvetilberedning

Ca. 2 g prøve afvejes nøjagtigt i en 50 ml målkolbe. Der tilsættes 30 ml 80% methanol (4.7) og omrystes. En skefuld kogesten tilsættes prøvesuspensionen, der herefter sættes på et vandbad ved 60°C og under jævnlig omrystning. Efter 5 min omrystes prøven kraftigt i 1 min. Afkøles straks under vandhanen og sættes i køleskabe i 1 time. Efter temperering fyldes op til mærket med 80% methanol (4.7) og blandes. Prøveekstrakten centrifugeres ved 3500 rpm/min i 5 min. Hvis ekstraktet ikke er klart, centrifugeres yderligere 5 min. evt. filtreres gennem 0,45 µm filter. Filtratet opsamles i autosampler vials og analyseres inden 24 timer. Der blev fremstillet to prøveekstrakter på hver prøve.

7. Kromatografiske betingelser

HPLC blev udført under følgende betingelser:

Kolonne temperatur: 40°C

Flow af mobile fase: 1 ml/min.

Injections volumen: 10 µl

Elektrokemisk detektor: Reduktiv, Potential -0,4V, Range 500 nA, Offset 1000 nA.

Integrator: Offset 10, Sensitivity 100, Attenuation 6, Doubling time 20 min

Bemærkning: Ilten fra atmosfærisk luft kan diffundere gennem teflon slanger og dermed bliver basislinjen ustabil. Derfor bør alle slanger såvidt muligt udskiftes med stålrør. Reference elektrode skal være konditioneret i 3 M vandig NaCl mindst 1 døgn før brug. For at få stabil detektor response under kørslen, skal stue temperaturen holdes konstant. Detektor responsen er stabil efter ca. et halvt døgn efter denne er blevet tændt og indstillet som ovenfor. Ved skiftning af mobile fase tager det ca. 2 timer før detektor responsen er stabil.

8. Kalibrering

Der udføres dobbelt analyse på hver kalibrerings standard (4.8.2) ved ovennævnte kromatografiske betingelser. Der tegnes kalibreringskurve: koncentration af BCB vs topareal/tophøjde. Kalibreringskurve, både for toparealer/tophøjder er lineære i det undersøgte BCB koncentrationsområde.

9. Bestemmelse

Prøveekstraktet (6) analyseres under samme betingelser som kalibreringskurve og BCB topareal/tophøjde noteres. Før og efter hver prøve analyseres 10 ppm BCB kalibreringsstandard. Dobbelt analyser på prøveekstrakter. Gennemsnit af toparealer/tophøjder anvendes til beregning af BCB koncentrationer i prøverne.

10. Beregning

Koncentrationen af BCB tilsvarende toparealet/tophøjden aflæses på kalibreringskurven (8), og indholdet af BCB i prøven beregnes ved følgende formel:

$$\% (m/m) \text{ BCB} = \frac{b}{200 \cdot a}$$

hvor

a = mængden af den afvejede prøve i g

b = koncentrationen af BCB i ppm aflæst på kalibreringskurven.

11. Bemærkning

På grund af afdampning af acetone ved helium afgang af den mobile fase øges retentionstiden af BCB ved HPLC langsomt med ca. 1.5 min. i løbet af 16 timer.

Danmarks Miljøundersøgelser

Danmarks Miljøundersøgelser - DMU- er en forskningsinstitution i Miljøministeriet. DMU's opgaver omfatter forskning, overvågning og faglig rådgivning indenfor natur og miljø.

Henvendelse kan rettes til:

| | |
|-----------------------------|---|
| Danmarks Miljøundersøgelser | <i>Direktionen og Sekretariat</i> |
| Postboks 358 | <i>Forsknings- og Udviklingssekretariat</i> |
| Frederiksborgvej 399 | <i>Afd. for Forureningskilder og</i> |
| 4000 Roskilde | <i>Luftforurening</i> |
| Tlf. 46 30 12 00 | <i>Afd. for Havmiljø og Mikrobiologi</i> |
| Fax 46 30 11 14 | <i>Afd. for Miljøkemi</i> |
| | <i>Afd. for Systemanalyse</i> |

| | |
|-----------------------------|-------------------------------------|
| Danmarks Miljøundersøgelser | <i>Afd. for Ferskvandsøkologi</i> |
| Postboks 314 | <i>Afd. for Terrestrisk Økologi</i> |
| Vejlsøvej 25 | |
| 8600 Silkeborg | |

Tlf. 89 20 14 00
Fax 89 20 14 14

Danmarks Miljøundersøgelser *Afd. for Flora- og Faunaøkologi*
Grenåvej 12, Kalø
8410 Rønde

Tlf. 89 20 14 00
Fax 89 20 15 14

Publikationer:

DMU udgiver faglige rapporter, tekniske anvisninger, særtryk af videnskabelige og faglige artikler, og Danish Review of Game Biology samt årsberetninger.

I årsberetningen findes en oversigt over det pågældende års publikationer. Årsberetning samt en opdateret oversigt over årets publikationer fås ved henvendelse til telefon: 46 30 12 00.