

31996L0045

L 213/8

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

22.8.1996

SEITSMES KOMISJONI DIREKTIIV 96/45/EÜ,**2. juuli 1996,****mis käsitleb kosmeetikatoodete koostise kontrolliks vajalikke analüüsimeetodeid
(EMPs kohaldatav tekst)**

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 27. juuli 1976. aasta direktiivi 76/768/EMÜ liikmesriikides kosmeetikatoodete kohta vastuvõetud õigusaktide ühtlustamise kohta, ⁽¹⁾ viimati muudetud komisjoni direktiiviga 95/34/EÜ, ⁽²⁾ eriti selle artikli 8 lõiget 1,

ning arvestades, et:

direktiiviga 76/768/EMÜ on ette nähtud kosmeetikatoodete ametlik katsetamine, et tagada kosmeetikatoodete koostist käsitlevate ühenduse õigusnormidega ettenähtud tingimuste täitmine;

kõik vajalikud analüüsimeetodid tuleks sätestada niipea kui võimalik; teatavad meetodid on juba vastu võetud komisjoni direktiiviga 80/1335/EMÜ ⁽³⁾ (muudetud direktiiviga 87/143/EMÜ ⁽⁴⁾), direktiiviga 82/434/EMÜ ⁽⁵⁾ (muudetud direktiiviga 90/207/EMÜ ⁽⁶⁾) ning komisjoni direktiividega 83/514/EMÜ, ⁽⁷⁾ 85/490/EMÜ, ⁽⁸⁾ 93/73/EMÜ ⁽⁹⁾ ja 95/32/EÜ ⁽¹⁰⁾;

seitsmendaks sammuks on 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropan-2-ooli ning metüül-, etüül-, propüül-, butüül- ja bensüül-4-hüdroksübensoadi identifitseerimine ja määramine kosmeetikatoodetes;

käesolevas direktiivis sätestatud meetmed on kooskõlas direktiivi 76/768/EMÜ kohandamist tehnika arenguga käsitleva komitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Liikmesriigid võtavad kõik vajalikud meetmed tagamaks, et kosmeetikatoodete ametliku katsetamise käigus identifitseeritak-

se ja määratakse 2-fenoksüetanool, 1-fenoksüpropan-2-ool ning metüül-, etüül-, propüül-, butüül- ja bensüül-4-hüdroksübensoaat kooskõlas käesoleva direktiivi lisas kirjeldatud meetodiga.

Artikkel 2

1. Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigus- ja haldusnormid hiljemalt 30. septembril 1997. Liikmesriigid teatavad nendest viivitamata komisjonile.

2. Kui liikmesriigid need normid vastu võtavad, lisavad nad nendesse või nende ametliku avaldamise korral nende juurde viite käesolevale direktiivile. Viitamise viisi näevad ette liikmesriigid.

3. Liikmesriigid edastavad komisjonile käesoleva direktiiviga reguleeritavas valdkonnas nende poolt vastuvõetud siseriiklike õigusnormide teksti.

*Artikkel 3*Käesolev direktiiv jõustub 20. päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Ühenduste Teatajas*.*Artikkel 4*

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 2. juuli 1996

*Komisjoni nimel**komisjoni liige*

Emma BONINO

⁽¹⁾ EÜT L 262, 27.9.1976, lk 169.⁽²⁾ EÜT L 167, 18.7.1995, lk 19.⁽³⁾ EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.⁽⁴⁾ EÜT L 57, 27.2.1987, lk 56.⁽⁵⁾ EÜT L 185, 30.6.1982, lk 1.⁽⁶⁾ EÜT L 108, 28.4.1990, lk 92.⁽⁷⁾ EÜT L 291, 24.10.1983, lk 9.⁽⁸⁾ EÜT L 295, 7.11.1985, lk 30.⁽⁹⁾ EÜT L 231, 14.9.1993, lk 34.⁽¹⁰⁾ EÜT L 178, 28.7.1995, lk 20.

LISA

2-FENOKSÜETANOOLI, 1-FENOKSÜPROPAAN-2-OOLI NING METÜÜL-, ETÜÜL-, PROPÜÜL-, BUTÜÜL- JA BENSÜÜL-4-HÜDROKSÜBENSOAADI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES**A. IDENTIFITSEERIMINE****1. Rakendatavus ja rakendusala**

Käesolevas meetodis on määratletud õhekihikromatograafia (ÖKK) meetod, mis koos B osas kirjeldatud määramismeetodiga võimaldab identifitseerida kosmeetikatoodes 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropaan-2-ooli, metüül-4-hüdroksübensoaati, etüül-4-hüdroksübensoaati, propüül-4-hüdroksübensoaati, butüül-4-hüdroksübensoaati ja bensüül-4-hüdroksübensoaati.

2. Põhimõte

Säilitusained ekstraheeritakse kosmeetikatoote hapestatud proovist atsetooniga. Pärast filtreerimist segatakse atsetoonilahus veega ja rasvhapped sadestatakse aluselises keskkonnas kaltsiumisooladega. Aluselist atsetooni ja vee segu ekstraheeritakse dietüüleeriga, et kõrvaldada lipofiilsed ained. Pärast hapestamist ekstraheeritakse säilitusained dietüüleeriga. Vajalik kogus dietüüleetri ekstrakti kantakse laikudena silikageeliga kaetud ÖKK-plaadile. Pärast plaadi elueerimist vaadeldakse saadud kromatogrammi UV-valguses ja ilmutatakse Milloni reaktiiviga.

3. Reaktiivid**3.1. Üldnõuded**

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad. Vesi peab olema destilleeritud või vähemalt samaväärse puhtusastmega.

3.2. Atsetoon.**3.3. Dietüüleeter.****3.4. n-pentaan.****3.5. Metanool.****3.6. Jää-äädikhape.****3.7. Soolhappe lahus, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$.****3.8. Kaaliumhüdroksiidi lahus, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$.****3.9. Kaltsiumkloriidihüdraat ($\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$).****3.10. Ilmuti: Milloni reaktiiv.**

Milloni reaktiiv (elavhõbe(II)nitraat) on müügil valmiskujul (*Fluka 69820*).

3.11. 2-fenoksüetanool.**3.12. 1-fenoksüpropaan-2-ool.****3.13. Metüül-4-hüdroksübensoaat (metüülparabeen).****3.14. Etüül-4-hüdroksübensoaat (etüülparabeen).****3.15. n-propüül-4-hüdroksübensoaat (propüülparabeen).****3.16. n-butüül-4-hüdroksübensoaat (butüülparabeen).****3.17. Bensüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparabeen).****3.18. Võrdluslahused**

Valmistada kõigist punktides 3.11–3.17 nimetatud võrdlusainetest 0,1-massi/mahuprotsenti lahused metanoolis.

3.19. Eluent

Segatakse 88 mahuosa n-pentaani (3.4) ja 12 mahuosa jää-äädikhapet (3.6).

4. Seadmed

Tavalised laboriseadmed ja:

- 4.1. Veevann, võimalik säilitada temperatuuri 60 °C.
- 4.2. Kromatograafiakamber (filterpaberiga vooderdamata).
- 4.3. UV-valgusallikas, lainepikkusega 254 nm.
- 4.4. ÖKK-plaadid, 20 cm × 20 cm, eelnevalt kaetud 0,25 cm paksuse silikageeli 60F₂₅₄ kihiga, kontsentreerimistsooniga (Merck nr 11798, Darmstadt või samaväärne).
- 4.5. Kuivatuskapp, võimalik säilitada temperatuuri kuni 105 °C.
- 4.6. Küttega juukseföön.
- 4.7. Villane värvirull, pikkus umbes 10 cm, välisläbimõõt umbes 3,5 cm. Villakihi paksus 2–3 mm. Vajaduse korral trimmitakse villa.

Vt punktis 5.2 esitatud märkust.

- 4.8. 50 ml keeratavate korkidega katseklaasid.
- 4.9. Termoregulaatoriga elektripliit. Temperatuur: umbes 80 °C. Pliidiplaat on kaetud 20 cm × 20 cm suuruse ja umbes 6 mm paksuse alumiiniumplaadiga, et saavutada kuumuse ühtlane jaotumine.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Umbes 1 g proovi kaalutakse 50 ml keeratava korgiga katseklaasi (4.8). Lisatakse neli tilka soolhappe lahust (3.7) ja 40 ml atsetooni.

Tugevalt aluseliste toodete, näiteks tualettseebi puhul tuleks lisada 20 tilka soolhappe lahust. Katseklaas suletakse, segu kuumutatakse õrnalt temperatuurini umbes 60 °C, et hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist atsetoonifaasiks ning loksutatakse tugevasti üks minut.

Lahuse pH mõõdetakse pH-indikaatorpaberiga ja viiakse soolhappe lahusega 3ni. Loksutatakse tugevasti veel üks minut.

Lahus jahutatakse toatemperatuurini ja filtreeritakse läbi filterpaberi koonilisse kolbi. 20 ml filtraati viiakse 200 ml koonilisse kolbi, lisatakse 60 ml vett ja segatakse. Segu pH viiakse kaaliumhüdroksiidiga (3.8) pH-indikaatorpaberi järgi umbes 10ni.

Lisatakse 1 g kaltsiumkloriidihüdraati (3.9) ja loksutatakse tugevasti. Lahus filtreeritakse läbi filterpaberi 250-ml jaotuslehttrisse, milles on 75 ml dietüületrit ja loksutatakse tugevasti üks minut. Lastakse faasil kihistuda ja veekiht kogutakse 200 ml koonilisse kolbi. Lahuse pH viiakse soolhappe lahusega pH-indikaatorpaberi järgi umbes 2ni. Seejärel lisatakse 10 ml dietüületrit ja loksutatakse tugevasti üks minut. Lastakse faasil kihistuda ja umbes 2 ml dietüületri kihti viiakse 5 ml klaaspudelisse.

5.2. Õhekihikromatograafia (ÖKK)

ÖKK-plaat (4.4) pannakse alumiiniumist pliidiplaadile (4.9). ÖKK-plaadi kontsentratsioonitsooni lähtejoonele kantakse 10 µl kõiki võrdluslahuseid (3.18) ja 100 µl proovilahust või -lahuseid (5.1).

Soovi korral võib lahusti aurumise soodustamiseks kasutada õhuvoolu. ÖKK plaat võetakse pliidilt ja lastakse jahtuda toatemperatuurini. Kromatograafiakambris (4.2) viiakse 100 ml eluenti (3.19).

ÖKK-plaat pannakse kohe küllastamata kambris ja elueeritakse toatemperatuuril, kuni lahusti piir on tõusnud lähtejoones umbes 15 cm kõrgusele. Plaat võetakse kromatograafiakambrist välja ja seda kuivatatakse fööni kuuma õhu vooluga.

Plaati vaadeldakse UV-valguses (4.3) ja tähistatakse laikude asukoht. Äädikhappe liia eemaldamiseks kuumutatakse plaati 30 minutit kuivatuskapis (4.5) temperatuuril 100 °C. Säilitusained ilmutatakse kromatogrammil Milloni reaktiiviga (3.10), kastes värvirulli (4.7) reaktiivi ja rullides sellega ÖKK-plaati, kuni see on ühtlaselt märgunud.

Märkus: Teise laikude ilmutamise võimalusena võib igale UV-valguses märgistatud laigule kanda ettevaatlikult ühe tilga Milloni reaktiivi.

4-hüdroksübensoehappe estrite laigud on punased, 2-fenoksüetanooli ja 1-fenoksüpropan-2-ooli laigud on kollased. Siiski tuleb silmas pidada, et 4-hüdroksübensoehape, mis võib proovides esineda säilitusainena või parabeenide lagunemissaadusena, ilmneb samuti punase laiguna. Vaata punktid 7.3 ja 7.4.

6. Identifitseerimine

Arvutatakse iga laigu R_f väärtus. Võrreldakse proovilahuse ja võrdlusaluste kohta saadud laiike, võttes arvesse nende R_f väärtusi, käitumist UV-valguses ja värvust pärast ilmutamist. Tehakse esialgsed järeldused säilitusainete olemuse kohta.

Kui ilmneb parabeenide olemasolu, tuleks teha B osas kirjeldatud kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline (HPLC) analüüs. 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropaan-2-ooli ja parabeenide olemasolu kinnitamiseks ühendatakse ÖKK ja kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) analüüsi tulemused.

7. Märkused

- 7.1. Et Milloni reaktiiv on toksiline, on õige kanda seda plaadile ühel kirjeldatud viisil. Pihustamine ei ole soovitatav.
- 7.2. Muud hüdroksüülühmi sisaldavad ühendid võivad Milloni reaktiivi kasutamise korral samuti värvilisena ilmuda. Mitmete käesoleva ÖKK meetodiga määratud säilitusainete värvuste ja R_f väärtuste tabel on esitatud järgmises väljaandes: N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten (1987): *Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products* (J. Chromatography 410, 395–411).
- 7.3. Järgmises tabelis on loetletud võimalikud R_f väärtused:

Ühend	hR_f	Värvus
4-hüdroksübensoehape	11	punane
metüülparabeen	12	punane
etüülparabeen	17	punane
propüülparabeen	21	punane
butüülparabeen	26	punane
bensüülparabeen	16	punane
2-fenoksüetanool	29	kollane
1-fenoksüpropaan-2-ool	50	kollane

- 7.4. 4-hüdroksübensoehapet ja metüülparabeeni ning bensüülparabeeni ja etüülparabeeni ei ole võimalik eraldada. Kõnealused ühendid tuleks identifitseerida B osas kirjeldatud kõrgefektiivse vedelikkromatograafilise (HPLC) analüüsiga ning võrrelda tuleks proovi ja standardite kohta saadud retentsiooniaegu.

B. MÄÄRAMINE

1. Rakendatavus ja rakendusala

Käesolev meetod määratleb 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropaan-2-ooli, metüül-4-hüdroksübensoaati, etüül-4-hüdroksübensoaati, propüül-4-hüdroksübensoaati, butüül-4-hüdroksübensoaati ja bensüül-4-hüdroksübensoaati määramise kosmeetikatoodetes.

2. Määratlus

Käesoleva meetodiga määratud säilitusainesisaldusi väljendatakse massiprotsentides.

3. Põhimõte

Proov hapestatakse väävelhappega ning seejärel suspendeeritakse etanooli ja vee segus. Pärast segu õrna kuumutamist, et sulatada lipiidfaas ja soodustada kvantitatiivset ekstraheerimist, filtreeritakse see.

Filtraadis sisalduvad säilitusained määratakse pöördfaasilise kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil, kasutades sisestandardina isopropüül-4-hüdroksübensoaati.

4. Reaktiivid

4.1. Üldnõuded

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajaduse korral sobivad kõrgefektiivse vedelikkromatograafia jaoks. Vesi peab olema destilleeritud või vähemalt samaväärse puhtusastmega.

4.2. Absoluutne etanool.

4.3. 2-fenoksüetanool.

4.4. 1-fenoksüpropaan-2-ool.

- 4.5. Metüül-4-hüdroksübensoaat (metüülparabeen).
- 4.6. Etüül-4-hüdroksübensoaat (etüülparabeen).
- 4.7. n-propüül-4-hüdroksübensoaat (propüülparabeen).
- 4.8. Isopropüül-4-hüdroksübensoaat (isopropüülparabeen).
- 4.9. n-butüül-4-hüdroksübensoaat (butüülparabeen).
- 4.10. Bensüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparabeen).
- 4.11. Tetrahüdrofuraan.
- 4.12. Metanool.
- 4.13. Atsetonitriil.
- 4.14. Väävelhappe lahus $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$.
- 4.15. Etanooli ja vee segu
- Segatakse üheksa mahuosa etanooli (4.2) ja üks mahuosa vett.
- 4.16. Sisestandardi lahus
- Kaalutakse umbes 0,25 g isopropüülparabeeni (4.8), viiakse see 500-ml mõõtekolbi, lahustatakse ning täiendatakse märgini etanooli ja vee seguga (4.15).
- 4.17. Liikuv faas: tetrahüdrofuraani, vee, metanooli ja atsetonitriili segu
- Segatakse 5 mahuosa tetrahüdrofuraani, 60 mahuosa vett, 10 mahuosa metanooli ja 25 mahuosa atsetonitriili.
- 4.18. Säilitusaine põhilahus
- 100-ml mõõtekolbi kaalutakse umbes 0,2 g 2-fenoksüetanooli, 0,2 g 1-fenoksüpropaan-2-ooli, 0,05 g metüülparabeeni, 0,05 g etüülparabeeni, 0,05 g propüülparabeeni, 0,05 g butüülparabeeni ja 0,025 g bensüülparabeeni, lahustatakse ning täiendatakse märgini etanooli ja vee seguga.
- Külmikus säilitatud lahus püsib muutumatuna üks nädal.
- 4.19. Säilitusaine standardlahused
- 50-ml mõõtekolbidesse viiakse vastavalt 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml ja 1,00 ml põhilahust (4.18). Igasse kolbi lisatakse 10,00 ml sisestandardi lahust (4.16) ja 1,0 ml väävelhappe lahust (4.14) ning täiendatakse märgini etanooli ja vee seguga. Kõnealused lahused peavad olema värskest valmistatud.

5. Seadmed

Tavalised laboriseadmed ja:

- 5.1. Veevann, võimalik säilitada temperatuuri $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
- 5.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograaf UV-detektoriga, lainepikkus 280 nm.
- 5.3. Analüütiline kolonn:
- roostevabast terasest, 25 cm × 4,6 mm (siseläbimõõt) (või 12,5 cm × 4,6 mm (siseläbimõõt)), täidiseks Nucleosil 5C18, või samaväärne (vt punkt 10.1).
- 5.4. 100-ml keeratavate korkidega katseklaasid.
- 5.5. Karborundist keedukivikesed, suurusega 2–4 mm või samaväärsed.

6. Analüüsi käik

6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Proovi ettevalmistamine ilma sisestandardit lisamata

Umbes 1,0 g proovi kaalutakse 10 ml keeratava korgiga katseklaasi. Katseklaasi pipeteeritakse 1,0 ml väävelhapet (4.14) ning 50,0 ml etanooli ja vee segu (4.15). Lisatakse umbes 1 g keedukivikesi (5.5), suletakse katseklaas ja loksutatakse tugevasti, kuni saadakse homogeenne suspensioon. Loksutatakse vähemalt üks minut. Katseklaas asetatakse viieks minutiks veevanni (5.1) temperatuurile $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, et hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist etanoolifaasi.

Katseklaas jahutatakse kohe jooksvas külmas vees ja ekstrakti hoitakse üks tund külmikus. Ekstrakt filtreeritakse läbi filterpaberi. Umbes 2 ml filtraati viiakse 5 ml klaaspudelisse. Ekstrakte säilitatakse külmikus ja kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline analüüs tehakse 24 tunni jooksul.

6.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardit lisades

Kolme kümnendkoha täpsusega kaalutakse $1,0 \pm 0,1$ g proovi 100 ml keeratava korgiga katseklaasi.

Katseklaasi pipeteeritakse 1,0 ml väävelhapet ning 40,0 ml etanooli ja vee segu. Lisatakse umbes 1 g keedukivikesi (5.5) ja täpselt 10,00 ml sisestandardi lahust. Katseklaas suletakse ja seda loksutatakse tugevasti, kuni saadakse homogeenne suspensioon. Loksutatakse vähemalt üks minut. Katseklaas asetatakse viieks minutiks veevanni temperatuurile 60 ± 1 °C, et hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist etanoolifaasi.

Katseklaas jahutatakse kohe külma kraanivee all ja ekstrakti hoitakse üks tund külmikus. Ekstrakt filtreeritakse läbi filterpaberi.

Umbes 2 ml filtraati viiakse 5 ml klaaspudelisse (uuritav lahus). Ekstrakt säilitatakse külmikus ja kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline analüüs tehakse 24 tunni jooksul.

6.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia (HPLC)

6.2.1. Kromatograferimistingimused

- Liikuv faas: tetrahüdrofuraani, vee, metanooli ja atsetonitrili segu (4.17).
- Voolukiirus: 1,5 milliliitrit minutis.
- Avastamise lainepikkus: 280 nm.

6.2.2. Kalibreerimine

Süstitakse 10 µl kõiki säilitusaine standardlahuseid (4.19). Saadud kromatogrammide järgi määratakse säilitusaine standardlahuste piikide kõrguste ja sisestandardi piigi kõrguse suhe. Iga säilitusaine kohta joonestatakse kõver kõnealuste suhete ja standardlahuste sisalduste alusel.

6.2.3. Määramine

Kromatograafi süstitakse 10 µl sisestandardita proovilahust (6.1.1) ja registreeritakse kromatogramm.

Süstitakse 10 µl üht säilitusaine standardlahust (4.19) ja registreeritakse kromatogramm. Võrreldakse saadud kromatogramme.

Kui prooviekstrakti (6.1.1) kromatogrammil ei ole piiki, mille retentsiooniaeg on ligilähedane isopropüülparabeeni (soovitatud sisestandard) retentsiooniajale, süstitakse veel 10 µl sisestandardiga proovilahust (6.1.2). Registreeritakse kromatogramm ja mõõdetakse piikide kõrgused.

Kui proovilahuse kromatogrammil täheldatakse segavat piiki, mille retentsiooniaeg on ligilähedane isopropüülparabeeni retentsiooniajale, tuleks valida mõni muu sisestandard.

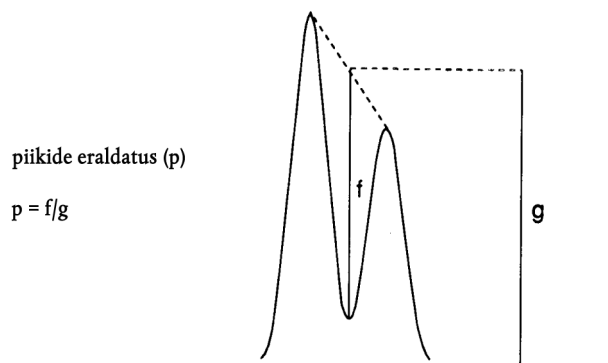
Kui proovi kromatogrammilt puudub mõni uuritav säilitusaine, võib sisestandardina kasutada kõnealust säilitusainet.

Arvutatakse uuritavate säilitusainete piikide kõrguste ja sisestandardi piigi kõrguse suhe.

Veendutakse, et kasutatud standardlahuste kohta saadud kalibreerimistulemus on lineaarne.

Veendutakse, kas standardlahuse ja proovilahuse kohta saadud kromatogrammid vastavad järgmistele nõuetele:

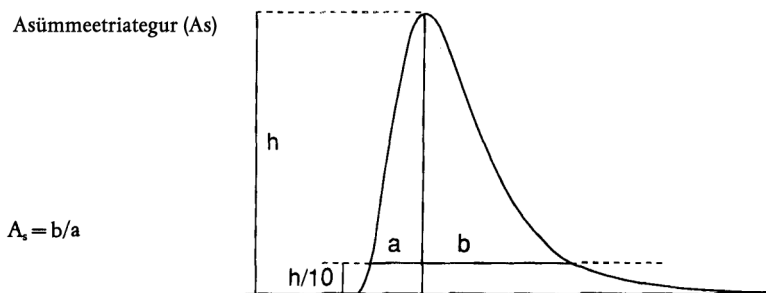
- piikide eraldatus ei tohi kõige halvemini eraldatud paari puhul olla väiksem kui 0,90. (Piikide eraldatus on määratletud joonisel 1).



Joonis 1: Piikide eraldatus

Kui vajalik eraldatus puudub, tuleks kas kasutada tõhusamat kolonni või reguleerida liikuva faasi koostist, kuni nõue on täidetud.

- Kõikide piikide asümmeetriategur A_s peaks jääma vahemikku 0,9–1,5. (Piikide asümmeetriategur on määratletud joonisel 2). Kromatogrammi registreerimisel asümmeetriateguri määramiseks on isekirjuti lindi soovitatav liikumiskiirus vähemalt 2 cm minutis.



Joonis 2: Piikide asümmeetriategur

- Lähtejoon peab olema püsiv.

7. Arvutamine

Proovilahuse säilitusainesisaldus arvutatakse kalibreerimiskõvera (6.2.2) ning uuritavate säilitusainete piikide kõrguste ja sisestandardi piigi kõrguse suhte alusel. 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropan-2-ooli, metüül-4-hüdroksübensoaadi, etüül-4-hüdroksübensoaadi, propüül-4-hüdroksübensoaadi, butüül-4-hüdroksübensoaadi ja bensüül-4-hüdroksübensoaadi sisaldus w_i massiprotsentides arvutatakse järgmise valemi alusel:

$$\% w_i(m/m) = \frac{b_i}{200 \times a}$$

kus:

b_i = säilitusaine i sisaldus ($\mu\text{g/ml}$) uuritavas lahuses kalibreerimiskõvera järgi ja

a = katsekoguse mass grammides.

8. Korratavus ⁽¹⁾

Vt punktis 10.5 esitatud märkused.

9. Reprodutseeritavus ⁽¹⁾

Vt punktis 10.5 esitatud märkused.

10. Märkused

10.1. Statsionaarne faas

Lahustatavate ainete retentsioonivõime kõrgefektiivsel vedelikkromatograafilisel määramisel sõltub suuresti statsionaarse faasi liigist, kaubamärgist ja varasemast kasutusest. Asjaolu, kas kolonni saab kasutada uuritavate säilitusainete eraldamiseks, saab otsustada standardlahustega saadud tulemuste põhjal (vt punkti 6.2.3 märkused). Lisaks soovitatud kolonnitäidisele on peetud sobivaks ka täidiseid *Hypersil ODS* ja *Zorbax ODS*.

Peale selle võib soovitud eraldatuse saamiseks optimeerida soovitatud liikuva faasi koostist.

10.2. Avastamise lainepikkus

Kirjeldatud meetodi suhtes läbiviidud püsivustest on näidanud, et avastamise lainepikkuse väikenegi muutus võib määramistulemusi oluliselt mõjutada.

Seetõttu tuleb seda parameetrit analüüsi käigus hoolikalt kontrollida.

⁽¹⁾ Standard ISO 5725.

10.3. Segavad tegurid

Käesolevas meetodis kirjeldatud tingimustel elueeritakse ka paljud teised ühendid, näiteks säilitusained ja kosmeetilised lisandid. Paljude kosmeetikatooteid käsitleva nõukogu direktiivi VI lisas nimetatud säilitusainete retentsiooniajad on loetletud järgmises väljaandes: N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten, (1989). *Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification* (J. Chromatography 469, 317-398).

10.4. Analüütilise kolonni kaitseks võib kasutada eelkolonni.

10.5. Meetodit on uuritud ringtestiga, milles osales üheksa laborit. Analüüsi kolme proovi. Järgmises tabelis on esitatud kõigi kolme proovi kohta neis sisaldunud analüüsivate ainete keskvaartused massiprotsentides ning korratavus- ja reprodutseeritavusväärtused:

Proov		2-fenoksü-eta-nool	1-fenoksü-pro-paan-2-ool	Metüülpara-been	Etüülparabeen	Propüülpara-been	Butüülpara-been	Bensüülpara-been
Vitamiinikreem	m	1,124		0,250	0,0628	0,031	0,0906	
	r	0,016		0,018	0,0035	0,0028	0,0044	
	R	0,176		0,030	0,0068	0,0111	0,0034	
Peitekreem	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Massažikreem	m		0,806			0,180	0,148	0,152
	r		0,067			0,034	0,013	0,015
	R		0,112			0,078	0,012	0,016