

SEPTIÈME DIRECTIVE 96/45/CE DE LA COMMISSION

du 2 juillet 1996

relative aux méthodes d'analyse nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques

(Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté européenne,

vu la directive 76/768/CEE du Conseil, du 27 juillet 1976, concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques⁽¹⁾, modifiée en dernier lieu par la directive 95/34/CE de la Commission⁽²⁾, et notamment son article 8 paragraphe 1,

considérant que la directive 76/768/CEE prévoit des contrôles officiels visant à constater que les conditions prévues par les dispositions communautaires concernant la composition des produits cosmétiques sont respectées;

considérant qu'il convient d'établir le plus rapidement possible toutes les méthodes d'analyse nécessaires et que certaines méthodes ont déjà été adoptées par la directive 80/1335/CEE de la Commission⁽³⁾, modifiée par la directive 87/143/CEE⁽⁴⁾, par la directive 82/434/CEE de la Commission⁽⁵⁾, modifiée par la directive 90/207/CEE⁽⁶⁾, et par les directives de la Commission 83/514/CEE⁽⁷⁾, 85/490/CEE⁽⁸⁾, 93/73/CEE⁽⁹⁾ et 95/32/CE⁽¹⁰⁾;

considérant que l'identification et le dosage du phénoxy-2-éthanol, du phénoxy-1-propanediol, des hydroxy-4-benzoates de méthyle, d'éthyle, de propyle, de butyle et de benzyle dans les produits cosmétiques constituent une septième étape;

considérant que les mesures prévues à la directive sont conformes à l'avis du comité pour l'adaptation au progrès technique de la directive 76/768/CEE,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE:

Article premier

Les États membres prennent toutes les mesures utiles pour que, lors des contrôles officiels des produits cosmétiques, l'identification et le dosage du phénoxy-2-éthanol,

du phénoxy-1-propanediol, des hydroxy-4-benzoates de méthyle, d'éthyle, de propyle, de butyle et de benzyle dans les produits cosmétiques soient effectués selon les méthodes décrites en annexe.

Article 2

1. Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires et administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 30 septembre 1997. Ils en informent immédiatement la Commission.

2. Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

3. Les États membres communiquent à la Commission le texte des dispositions de droit interne qu'ils adoptent dans le domaine régi par la présente directive.

Article 3

La présente directive entre en vigueur le vingtième jour suivant celui de sa publication au *Journal officiel des Communautés européennes*.

Article 4

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 2 juillet 1996.

Par la Commission

Emma BONINO

Membre de la Commission

(¹) JO n° L 262 du 27. 9. 1976, p. 169.

(²) JO n° L 167 du 18. 7. 1995, p. 19.

(³) JO n° L 383 du 31. 12. 1980, p. 27.

(⁴) JO n° L 57 du 27. 2. 1987, p. 56.

(⁵) JO n° L 185 du 30. 6. 1982, p. 1.

(⁶) JO n° L 108 du 28. 4. 1990, p. 92.

(⁷) JO n° L 291 du 24. 10. 1983, p. 9.

(⁸) JO n° L 295 du 7. 11. 1985, p. 30.

(⁹) JO n° L 231 du 14. 9. 1993, p. 34.

(¹⁰) JO n° L 178 du 28. 7. 1995, p. 20.

ANNEXE

IDENTIFICATION ET DOSAGE DU PHÉNOXY-2-ÉTHANOL, DU PHÉNOXY-1-PROPANE-DIOL, DES HYDROXY-4-BENZOATES DE MÉTHYLE, D'ÉTHYLE, DE PROPYLE, DE BUTYLE ET DE BENZYLE DANS LES PRODUITS COSMÉTIQUES**A. IDENTIFICATION****1. Objet et champ d'application**

Cette méthode décrit une chromatographie en couche mince qui, combinée à la méthode d'analyse décrite à la section B, permet l'identification du phénoxy-2-éthanol, du phénoxy-1-propanediol, des hydroxy-4-benzoates de méthyle, d'éthyle, de propyle, de butyle et de benzyle dans les produits cosmétiques.

2. Principe

Les conservateurs sont extraits par l'acétone de l'échantillon acidifié. Après filtration, la solution acétonique est mélangée à de l'eau et les acides gras sont précipités en milieu alcalin sous forme de sels de calcium. Le mélange eau/acétone est extrait par l'éther diéthylique pour séparer les substances lipophiles. Après acidification, les conservateurs sont extraits par l'éther diéthylique pour séparer les substances lipophiles. Après acidification, les conservateurs sont extraits par l'éther diéthylique. Une partie aliquote de l'extrait est déposée sur une plaque de chromatographie en couche mince recouverte de gel de silice. Après développement de la plaque, le chromatogramme obtenu est observé sous lumière ultraviolette et révélé par le réactif de Millon.

3. Réactifs**3.1. Généralités**

Tous les réactifs utilisés doivent être de pureté analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins équivalente

3.2. Acétone**3.3. Éther diéthylique****3.4. n-Pentane****3.5. Méthanol****3.6. Acide acétique pur****3.7. Acide chlorhydrique en solution, $c(\text{HCl}) = 4\text{mol/l}$** **3.8. Hydroxyde de potassium en solution, $c(\text{KOH}) = 4\text{mol/l}$** **3.9. Chlorure de calcium dihydraté ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)****3.10. Réactif révélateur: réactif de Millon.**

Le réactif de Millon (nitrate mercurique) est une solution toute prête en vente dans le commerce (Fluka 69820 ou équivalent)

3.11. Phénoxy-2-éthanol**3.12. Phénoxy-1-propanediol****3.13. Hydroxy-4-benzoate de méthyle (méthyl paraben)****3.14. Hydroxy-4-benzoate d'éthyle (éthyl paraben)****3.15. n-Hydroxy-4-benzoate de propyle (propyl paraben)****3.16. n-Hydroxy-4-benzoate de butyle (butyl paraben)****3.17. Hydroxy-4-benzoate de benzyle (benzyl paraben)****3.18. Solutions de référence**

Préparer des solutions à 0,1 % (m/V) des substances de référence des points 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 et 3.17 dans du méthanol

3.19. Solvant de développement

Mélanger 88 volumes de n-pentane (point 3.4) avec 12 volumes d'acide acétique (point 3.6) pur

4. Appareillage

Équipement courant de laboratoire ainsi que:

- 4.1. bain-marie, capable de maintenir une température de 60 °C
- 4.2. cuve de développement (dépourvue de papier-filtre)
- 4.3. source de lumière ultraviolette, 254 nm
- 4.4. plaques pour chromatographie en couche mince, 20 cm × 20 cm, recouvertes de gel de silice 60 F₂₅₄ avec zone de concentration (Merck n° 11798, Darmstadt ou équivalent)
- 4.5. étuve capable de maintenir des températures allant jusqu'à 105 °C
- 4.6. sèche-cheveux à air chaud
- 4.7. rouleau à peindre en laine, longueur approximative: 10 cm, diamètre extérieur: environ 3,5 cm. L'épaisseur de la couche de laine doit être d'environ 2 à 3 mm. Désépaissir la laine si nécessaire (voir remarque au point 5.2)
- 4.8. tubes de verre de 50 ml avec bouchon à vis
- 4.9. plaque chauffante électrique avec thermostat. Réglage de température: environ 80 °C. La plaque chauffante sera recouverte d'une plaque d'aluminium de 20 cm × 20 cm et d'une épaisseur de 6 mm environ afin d'obtenir une distribution uniforme de la chaleur

5. Mode opératoire

5.1. Préparation des échantillons

Placer environ 1 g d'échantillon dans un tube en verre de 50 ml (point 4.8) et ajouter 4 gouttes d'acide chlorhydrique en solution (point 3.7) et 40 ml d'acétone.

Pour des produits cosmétiques très basiques, comme le savon de toilette, 20 gouttes d'acide chlorhydrique en solution seront ajoutées. Fermer le tube, porter doucement le mélange à une température de 60 °C environ afin de faciliter l'extraction des conservateurs en phase acétonique et agiter vigoureusement pendant une minute.

Mesurer le pH de la solution avec du papier indicateur de pH et ajuster ce pH à une valeur ≤ 3 par l'acide chlorhydrique en solution. Agiter à nouveau vigoureusement pendant une minute.

Laisser refroidir la solution à température ambiante et filtrer sur papier filtre dans une fiole conique. Transférer 20 ml de ce filtrat dans une fiole conique de 200 ml, ajouter 60 ml d'eau et mélanger. Ajuster le pH du mélange à 10 environ à l'aide d'hydroxyde de potassium en solution (point 3.8), en utilisant du papier indicateur de pH.

Ajouter 1 g de chlorure de calcium dihydraté (point 3.9) et agiter vigoureusement. Filtrer la solution sur papier filtre dans une ampoule à décanter de 250 ml contenant 75 ml d'éther diéthylique et secouer vigoureusement pendant une minute. Laisser les phases se séparer et recueillir la couche aqueuse dans une fiole conique de 200 ml. Ajuster le pH de la solution à 2 environ à l'aide d'acide chlorhydrique en solution en utilisant du papier indicateur de pH. Ajouter ensuite 10 ml d'éther diéthylique et agiter vigoureusement pendant une minute. Laisser les phases se séparer et transférer environ 2 ml de la couche d'éther diéthylique dans un flacon échantillon de 5 ml.

5.2. Chromatographie en couche mince

Placer une plaque pour chromatographie en couche mince (point 4.4) sur la plaque d'aluminium chauffée (point 4.9), déposer 10 µl de chacune des solutions de référence (point 3.18) et 100 µl de l' (des) échantillon(s) en solution (point 5.1) sur la ligne de départ dans la zone de concentration de la plaque pour chromatographie en couche mince.

Si nécessaire, il est possible d'utiliser un flux d'air pour faciliter l'évaporation du solvant. Oter la plaque pour chromatographie en couche mince de la plaque chauffante et la laisser refroidir à température ambiante. Verser 100 ml du solvant de développement (point 3.19) dans la cuve (point 4.2). Placer la plaque pour chromatographie en couche mince immédiatement dans la cuve non saturée et développer à température ambiante jusqu'à ce que le front de solvant soit à 15 cm de la ligne de base. Oter la plaque de la cuve de développement et sécher à l'aide d'un sèche-cheveux.

Examiner la plaque sous lumière ultraviolette (point 4.3) et marquer la position des taches. Chauffer la plaque pendant 30 minutes à l'étuve (point 4.5) à 100 °C pour éliminer l'acide acétique excédentaire. Révéler les conservateurs sur le chromatogramme à l'aide de la solution de nitrate mercurique (point 3.10), en trempant le rouleau à peindre (point 4.7) dans ce réactif et en le faisant rouler sur la plaque pour chromatographie en couche mince jusqu'à ce qu'elle soit uniformément humidifiée.

Remarque: Les taches peuvent également être révélées en appliquant précautionneusement une goutte de solution de nitrate mercurique sur chacune des taches visualisées sous lumière ultraviolette.

Les esters de l'acide hydroxy-4-benzoïque apparaissent alors sous forme de taches rouges, tandis que le phénoxy-2-éthanol et le phénoxy-1-propanediol se manifestent sous forme de taches jaunes. L'acide hydroxy-4-benzoïque lui-même, qui peut être présent dans les échantillons en tant que conservateur ou produit de la décomposition des parahydrobenzoates, apparaîtra sous la forme d'une tache rouge (points 7.3 et 7.4).

6. Identification

Calculer la valeur du R_f pour chaque tache. Comparer les taches obtenues à partir de l'échantillon en solution avec celles obtenues avec les solutions de référence en considérant la valeur de leur R_f , leur comportement sous l'effet des rayons ultraviolets et leur couleur après révélation. En déduire les conclusions préliminaires sur l'identité des conservateurs. En présence de parahydrobenzoates, la procédure de chromatographie liquide haute performance (CLHP) décrite au point B doit être appliquée. Combiner les résultats de la chromatographie en couche mince et de la CLHP pour confirmer la présence de phénoxy-2-éthanol, de phénoxy-1-propanediol et des parahydroxybenzoates.

7. Remarques

- 7.1. En raison de la toxicité de la solution de nitrate mercurique, ce réactif doit être appliqué selon l'une des procédures décrites. La vaporisation du réactif n'est pas recommandée.
- 7.2. D'autres composants contenant des groupes hydroxyles peuvent également se colorer en présence de la solution de nitrate mercurique. On trouvera une table des couleurs et des valeurs de R_f d'un certain nombre de conservateurs dans la publication suivante: 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. Les valeurs de R_f figurant dans le tableau suivant sont une indication des chiffres qui peuvent être obtenus.

Composé	hR_f	Couleur
Acide hydroxy-4-benzoïque	11	Rouge
Méthyl paraben	12	Rouge
Éthyl paraben	17	Rouge
Propyl paraben	21	Rouge
Butyl paraben	26	Rouge
Benzyl paraben	16	Rouge
Phénoxy-2-éthanol	29	Jaune
Phénoxy-1-propanediol	50	Jaune

- 7.4. Aucune séparation n'est obtenue pour l'acide hydroxy-4-benzoïque et le parahydrobenzoate de méthyle ou pour le parahydrobenzoate de benzyle et le parahydrobenzoate d'éthyle. L'identification de ces composés doit être confirmée par une CLHP décrite au point B en comparant les temps de rétention obtenus à partir des échantillons et des solutions de référence.

B. DOSAGE**1. Objet et champ d'application**

Cette méthode décrit le dosage du phénoxy-2-éthanol, du phénoxy-1-propanediol, des hydroxy-4-benzoates de méthyle, d'éthyle, de propyle, de butyle et de benzyle dans les produits cosmétiques.

2. Définition

Les quantités de conservateurs dosées selon cette méthode sont exprimées en pourcentage par rapport à la masse.

3. Principe

L'échantillon est acidifié par de l'acide sulfurique puis mis en suspension dans un mélange d'éthanol et d'eau. Après avoir été chauffé doucement pour fondre la phase lipidique afin de faciliter l'extraction quantitative, le mélange est filtré.

Les conservateurs présents dans le filtrat sont dosés par CLHP en phase inverse en utilisant comme étalon interne hydroxy-4-benzoate d'isopropyle.

4. Réactifs**4.1. Généralités**

Tous les réactifs utilisés doivent être analytiquement purs. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau d'une pureté au moins équivalente

4.2. Éthanol absolu**4.3. Phénoxy-2-éthanol****4.4. Phénoxy-1-propanediol**

- 4.5. Hydroxy-4-benzoate de méthyle (méthyl parahydrobenzoate)
- 4.6. Hydroxy-4-benzoate d'éthyle (éthyl parahydrobenzoate)
- 4.7. Hydroxy-4-benzoate de n-propyle (propyl parahydrobenzoate)
- 4.8. Hydroxy-4-benzoate d'isopropyle (isopropyl parahydrobenzoate)
- 4.9. Hydroxy-4-benzoate de n-butyle (butyl parahydrobenzoate)
- 4.10. Hydroxy-4-benzoate de benzyle (benzyl parahydrobenzoate)
- 4.11. Tétrahydrofurane
- 4.12. Méthanol
- 4.13. Acétonitrile
- 4.14. Acide sulfurique en solution, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$
- 4.15. Mélange éthanol/eau:
Mélanger 9 volumes d'éthanol (4.2) et 1 volume d'eau
- 4.16. Solution d'étalon interne
Peser avec précision environ 0,25 g de hydroxy-4-benzoate d'isopropyle (point 4.8) dans une fiole conique de 500 ml. Dissoudre et compléter avec le mélange éthanol/eau (point 4.15)
- 4.17. Phase mobile
Mélanger 5 volumes de tétrahydrofurane, 60 volumes d'eau, 10 volumes de méthanol et 25 volumes d'acétonitrile
- 4.18. Solution mère de conservateurs
Peser avec soin environ 0,2 g de phénoxy-2-éthanol, 0,2 g de phénoxy-1-propanediol, 0,05 g de parahydrobenzoate de méthyle, 0,05 g de parahydrobenzoate d'éthyle, 0,05 g de parahydrobenzoate de propyle, 0,05 g de parahydrobenzoate de butyle, 0,025 g de parahydrobenzoate de benzyle, dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre et compléter au volume avec le mélange éthanol/eau.
La solution reste stable pendant une semaine au réfrigérateur
- 4.19. Solution étalon des conservateurs
À partir de la solution mère (point 4.18), transférer respectivement 20 ml, 10 ml, 5 ml, 2 ml et 1 ml dans des fioles jaugées de 50 ml. Ajouter dans chaque fiole 10 ml de la solution d'étalon interne (point 4.16) et 1 ml d'acide sulfurique en solution (point 4.14). Compléter le volume par le mélange éthanol/eau. Ces solutions doivent être préparées extemporanément
5. **Appareillage**
Équipement courant de laboratoire ainsi que:
 - 5.1. bain-marie, capable de maintenir une température de $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
 - 5.2. chromatographe liquide à haute performance avec détecteur ultraviolet, longueur d'ondes 280 nm
 - 5.3. colonne:
acier inoxydable, 25 cm $\times$ 4,6 mm $\varnothing$ intérieur (ou 12,5 cm $\times$ 4,6 mm $\varnothing$ intérieur) remplie de Nucléosil 5C18 ou équivalent (point 10.1).
 - 5.4. tubes en verre de 100 ml avec bouchon à vis
 - 5.5. chips de carborundum facilitant l'ébullition, taille 2 à 4 mm, ou équivalent
6. **Mode opératoire**
 - 6.1. Préparation des échantillons
 - 6.1.1. Préparation des échantillons sans addition d'étalon interne
Mesurer avec précision environ 1 g d'échantillon dans un tube en verre de 100 ml avec bouchon à vis. Introduire dans le tube à l'aide d'une pipette 1 ml d'acide sulfurique en solution (point 4.14) et 50 ml du mélange éthanol/eau (point 4.15). Ajouter environ 1 g de chips (point 5.5), fermer le tube et agiter vigoureusement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (au moins une minute). Placer le tube pendant 5 minutes dans un bain-marie (point 5.1) à $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pour faciliter l'extraction des conservateurs dans la phase éthanolique.

Refroidir immédiatement le tube dans un flux d'air froid et conserver l'extrait au réfrigérateur pendant une heure. Filtrer l'extrait sur papier filtre. Transférer environ 2 ml du filtrat dans un flacon d'échantillonnage de 5 ml. Conserver les extraits au réfrigérateur et procéder à l'analyse par CLHP dans les 24 heures.

6.1.2. Préparation des échantillons avec addition d'étalon interne

Peser à trois décimales près $1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ d'échantillon dans un tube en verre de 100 ml avec bouchon à vis.

Ajouter avec une pipette 1 ml d'acide sulfurique en solution et 40 ml du mélange éthanol/eau. Ajouter environ 1 g de chips (point 5.5) et exactement 10 ml de solution d'étalon interne. Fermer le tube et agiter vigoureusement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène (au moins une minute). Placer le tube pendant 5 minutes dans un bain-marie à $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pour faciliter l'extraction des conservateurs dans la phase éthanolique.

Refroidir immédiatement le tube dans un jet d'eau courante froide et conserver l'extrait au réfrigérateur pendant une heure. Filtrer l'extrait sur papier filtre.

Transférer environ 2 ml du filtrat dans un flacon d'échantillonnage de 5 ml (solution-test). Conserver les extraits au réfrigérateur et procéder à l'analyse par CLHP dans les 24 heures.

6.2. Chromatographie liquide haute performance

6.2.1. Conditions chromatographiques

- Phase mobile: mélange tétrahydrofurane/eau/méthanol/acétonitrile (point 4.17)
- Débit: 1,5 ml/min
- Longueur d'onde de détection: 280 nm

6.2.2. Étalonnage

Injecter 10 μl de chacune des solutions de référence de conservateur (point 4.19). À partir des chromatogrammes ainsi obtenus, déterminer les rapports entre les hauteurs des pics des solutions de référence et la hauteur du pic de la solution d'étalon interne. Pour chaque conservateur tracer une courbe reliant ces rapports aux concentrations des solutions de référence.

6.2.3. Dosage

Injecter dans le chromatographe 10 μl de la solution échantillon sans étalon interne (point 6.1.1) et enregistrer le chromatogramme.

Injecter 10 μl de la solution de référence des conservateurs (point 4.19) et enregistrer le chromatogramme. Comparer les chromatogrammes ainsi obtenus.

Si dans le chromatogramme de l'extrait échantillon (point 6.1.1) aucun pic ne présente un temps de rétention voisin de celui de l'hydroxy-4-benzoate d'isopropyle (étalon interne recommandé), poursuivre en injectant 10 μl de la solution échantillon avec étalon interne (point 6.1.2). Enregistrer le chromatogramme et mesurer la hauteur des pics.

Si l'on observe, dans le chromatogramme de la solution échantillon, un pic ayant à peu près le même temps de rétention que celui de l'hydroxy-4-benzoate d'isopropyle, un autre étalon interne devra être choisi.

Si l'un des conservateurs de référence est absent du chromatogramme de l'échantillon, ce conservateur peut tenir lieu d'étalon interne.

Calculer les rapports entre les hauteurs de pic des conservateurs analysés et la hauteur de pic de l'étalon interne.

S'assurer que pour les solutions étalons utilisées la courbe d'étalonnage est une droite.

S'assurer que les chromatogrammes obtenus pour la solution de référence (point 4.19) et pour l'échantillon en solution respectent les spécifications suivantes.

- la séparation des pics de la paire la plus mal séparée doit être d'au moins 0,90 (définition de la séparation des pics, voir figure 1).

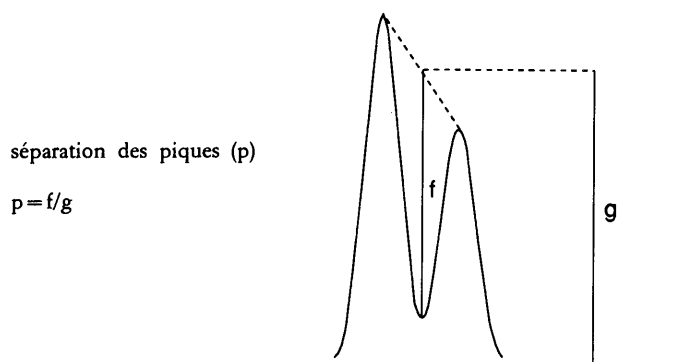


Figure 1: Séparation des piques

Si la séparation requise n'est pas atteinte, il est nécessaire soit d'utiliser une colonne plus efficace, soit d'ajuster la composition de la phase mobile jusqu'à ce que les spécifications soient respectées.

- Le facteur d'asymétrie A_s de tous les pics obtenus ira de 0,9 à 1,5 (pour une définition du facteur d'asymétrie des pics, voir figure 2). Pour enregistrer le chromatogramme pour la détermination du facteur d'asymétrie, une vitesse de déroulement du papier enregistreur d'au moins 2 cm/min est recommandée.

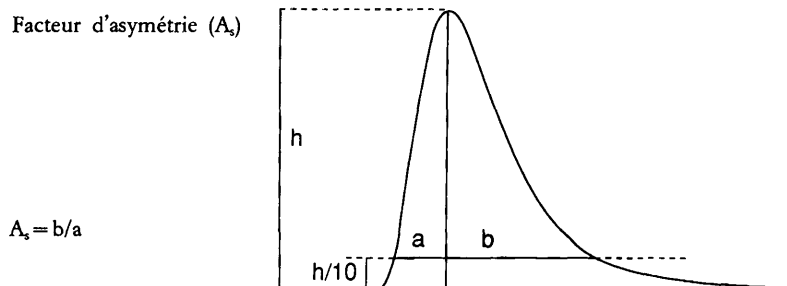


Figure 2: facteur d'asymétrie des pics

- Une ligne de base stable devra être obtenue.

7. Calcul

Utiliser la courbe d'étalonnage (point 6.2.2) et les rapports entre les hauteurs de pics des conservateurs à doser et les hauteurs de pics de la solution d'étalon interne pour calculer la concentration des conservateurs dans l'échantillon. Calculer le contenu en phénoxy-2-éthanol, de phénoxy-1-propanediol, d'hydroxy-4-benzoates de méthyle, d'éthyle, de propyle, de butyle et de benzyle, w_i , sous forme de pourcentage par rapport au poids (% m/m), en utilisant la formule suivante:

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

où:

b_i = la concentration ($\mu\text{g/ml}$) de conservateur i dans la solution échantillon selon lecture de la courbe d'étalonnage

et

a = la masse (g) de la prise d'essai.

8. Répétabilité ⁽¹⁾

Voir point 10.5

9. Reproductibilité ⁽¹⁾

Voir point 10.5

10. Remarques

10.1. Phase stationnaire

La rétention des solutés dans le dosage par CLHP dépend fortement du type, de la marque et de l'histoire de la phase stationnaire. Il est possible de savoir si une colonne est utilisable pour la séparation des conservateurs étudiés (point 6.2.3) en se basant sur les résultats obtenus à partir des solutions de référence. Outre les matériaux de remplissage proposés dans la méthode, on peut également utiliser l'Hypersil ODS et le Zorbax ODS.

On peut aussi optimiser la composition de la phase mobile recommandée dans le but d'obtenir la séparation souhaitée.

10.2. Longueur d'onde

Un test de robustesse effectué sur la méthode décrite a montré qu'un léger changement dans la longueur d'onde de détection peut avoir une influence importante sur les résultats de l'analyse.

Dès lors, ce paramètre doit être soigneusement contrôlé au cours de l'analyse.

⁽¹⁾ ISO 5725.

10.3. Interférences

Dans les conditions décrites dans cette méthode, de nombreux autres composants, tels que des conservateurs et des additifs cosmétiques, sont également élués. Les temps de rétention d'un grand nombre de conservateurs mentionnés dans l'annexe VI de la directive du Conseil sur les produits cosmétiques sont cités dans: 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. Pour protéger la colonne analytique, une colonne de protection adéquate doit être utilisée.

10.5. La méthode a été contrôlée au cours d'un essai mené par neuf laboratoires travaillant en collaboration. Trois échantillons ont été analysés. Le tableau suivant exprime, pour chacun des échantillons: les moyennes en % m/m (m), la répétabilité (r) et la reproductibilité (R) pour les conservateurs concernés.

Échantillon		Phénoxy-2- éthanol	Phénoxy-1- propanediol	Parahydro- benzoate de méthyle	Parahydro- benzoate d'éthyle	Parahydro- benzoate de propyle	Parahydro- benzoate de butyle	Parahydro- benzoate de benzyle
Crème vitaminée	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	
Crème de jour	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Crème pour massages	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