

31996L0045

22.8.1996

ОФИЦИАЛЕН ВЕСТНИК НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ

L 213/8

СЕДМА ДИРЕКТИВА 96/45/ЕО НА КОМИСИЯТА

от 2 юли 1996 година

относно методите за анализи, необходими за контрола върху състава на козметични продукти

(текст от значение за ЕИП)

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската общност,

като взе предвид Директива 76/768/ЕИО на Съвета от 27 юли 1976 г. за сближаване на законодателствата на държавите-членки в областта на козметичните продукти ⁽¹⁾, последно изменена с Директива 95/34/ЕО на Комисията ⁽²⁾, и по-специално член 8, параграф 1 от нея,

като има предвид, че Директива 76/768/ЕИО на Комисията предвижда официални проверки на козметичните продукти с цел да се установи спазването на условията, предвидени в разпоредбите на Общността относно състава на козметични продукти;

като има предвид, че следва да се установят възможно най-бързо всички необходими методи за анализ; като има предвид, че някои методи вече са приети с Директива 80/1335/ЕИО на Комисията ⁽³⁾, изменена с Директиви 87/143/ЕИО ⁽⁴⁾, 82/434/ЕИО ⁽⁵⁾, изменена с Директива 90/207/ЕИО ⁽⁶⁾ и с Директиви на Комисията 83/514/ЕИО ⁽⁷⁾, 85/490/ЕИО ⁽⁸⁾, 93/73/ЕИО ⁽⁹⁾ и 95/32/ЕО ⁽¹⁰⁾;

като има предвид, че идентификацията и дозировката в козметични продукти на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил-, етил-, пропил-, бутил- и бензил 4-хидроксibenзоат представлява седма стъпка;

като има предвид, че мерките, предвидени в настоящата директива, са в съответствие със становището на Комитета за адаптиране към техническия прогрес на Директива 76/768/ЕИО,

ПРИЕ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА:

Член 1

Държавите-членки приемат всички необходими мерки, за да гарантират, че по време на официалните проверки на козметични

продукти, идентификацията и дозировката на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил-, етил-, пропил-, бутил- и бензил 4-хидроксibenзоат се извършват съгласно описаните в приложението методи.

Член 2

1. Държавите-членки въвеждат в сила необходимите закони, подзаконови и административни разпоредби, за да се съобразят с настоящата директива, най-късно до 30 септември 1997 г. Те незабавно уведомяват Комисията за това.

2. Когато държавите-членки приемат тези разпоредби, в тях се съдържа позоваване на настоящата директива или те се придружават от такова позоваване по време на официалното им публикуване. Начинът на това позоваване се определя от държавите-членки.

3. Държавите-членки съобщават на Комисията текстовете на основните разпоредби от националните си законодателства, които те приемат в областта, уредена с настоящата директива.

Член 3

Настоящата директива влиза в сила на двадесетия ден след публикуването ѝ в Официален вестник на Европейските общности.

Член 4

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 2 юли 1996 година.

За Комисията

Emma BONINO

Член на Комисията

⁽¹⁾ ОВ L 262, 27.9.1976 г., стр. 169.

⁽²⁾ ОВ L 167, 18.7.1995 г., стр. 19.

⁽³⁾ ОВ L 383, 31.12.1980 г., стр. 27.

⁽⁴⁾ ОВ L 57, 27.2.1987 г., стр. 56.

⁽⁵⁾ ОВ L 185, 30.6.1982 г., стр. 1.

⁽⁶⁾ ОВ L 108, 28.4.1990 г., стр. 92.

⁽⁷⁾ ОВ L 291, 24.10.1983 г., стр. 9.

⁽⁸⁾ ОВ L 295, 7.11.1985 г., стр. 30.

⁽⁹⁾ ОВ L 231, 14.9.1993 г., стр. 34.

⁽¹⁰⁾ ОВ L 178, 28.7.1995 г., стр. 20.

ПРИЛОЖЕНИЕ

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ДОЗИРОВКА НА 2-ФЕНОКСИЕТАНОЛ, 1-ФЕНОКСИПРОПАН-2-ОЛ, МЕТИЛ, ЕТИЛ, ПРОПИЛ, БУТИЛ И БЕНЗИЛ 4-ХИДРОКСИБЕНЗОАТ В КОЗМЕТИЧНИТЕ ПРОДУКТИ**А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ****1. Предмет и приложно поле**

Този метод описва ТСХ процедура, която, в комбинация с описания в точка Б метод на анализ, позволява идентификацията на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксibenзоат, етил 4-хидроксibenзоат, пропил 4-хидроксibenзоат, бутил 4-хидроксibenзоат и бензил 4-хидроксibenзоат в козметични продукти.

2. Принцип.

Консервантите се екстрахират с ацетон от подкислената козметична проба. След филтриране, ацетоновият разтвор се смесва с вода, а в алкална среда масните киселини се утаяват под формата на калциеви соли. Алкалната смес ацетон/вода се екстрахира с диетилов етер, за да се отстранят липофилните вещества. След подкисляване, консервантите се екстрахират с диетилов етер. Една аликвотна част от екстракта на диетилов етер се поставя върху тънкослойна плака с покритие от силикагел. След проявяване на плаката, получената хроматограма се наблюдава под ултравиолетови светлина и се визуализира с помощта на реактив на Millon.

3. Реактиви.**3.1. Общи положения.**

Всички реактиви, които се използват, трябва да бъдат с аналитична чистота. Водата трябва да бъде дестилирана вода или вода най-малко със същата чистота.

3.2. Ацетон**3.3. Диетилов етер****3.4. н-Пентан****3.5. Метанол****3.6. Оцетна киселина, на кристали****3.7. Разтвор на солна киселина, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.8. Разтвор на калиев хидроокис, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.9. Калциев хлорид дихидрат ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).****3.10. Проявяващ реактив: реактив на Millon**

Реактивът на Millon (Живачен (II) нитрат) е готов разтвор, който се продава в търговската мрежа (Fluka 69820).

3.11. 2-Феноксietанол**3.12. 1-Феноксипропан-2-ол****3.13. Метил 4-хидроксibenзоат (метилпарааминобензоена киселина)****3.14. Етил 4-хидроксibenзоат (етилпарааминобензоена киселина)****3.15. н-Пропил 4-хидроксibenзоат (пропилпарааминобензоена киселина)****3.16. н-Бутил 4-хидроксibenзоат (бутилпарааминобензоена киселина)****3.17. Бензил 4-хидроксibenзоат (бензилпарааминобензоена киселина)****3.18. Еталонни разтвори**

Пригответе 0,1 % (m/V) разтвори на всяка от еталонните субстанции 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 и 3.17 в метанол.

3.19. Проявяващ разтворител

Смесват се 88 обема от н-пентан (3.4) с 12 обема оцетна киселина на кристали (3.6).

4. Апаратура.

Обичайно лабораторно оборудване, и:

- 4.1. Водна баня с възможност за поддържане на температура 60 °C
- 4.2. Резервоар за проявяване (но необлицован с филтърна хартия)
- 4.3. Източник на ултравиолетова светлина, 254 nm
- 4.4. Тънкослойни плаки, 20 cm × 20 cm, предварително покрити с 0,25 mm силикагел 60F₂₅₄, със зона на концентрация (Merck № 11798, Darmstadt, или еквивалентен)
- 4.5. Сушилня с възможност за поддържане на температура до 105 °C
- 4.6. Сешоар за коса с горещ въздух
- 4.7. Вълнен валик за боядисване, дължина приблизително 10 cm, външен диаметър приблизително 3,5 cm. Дебелината на вълнения слой трябва да бъде от 2 до 3 mm. Вълната се поддържа, ако е необходимо. Вижте забележката в точка 5.2
- 4.8. 50 милилитрови стъклени епруветки с винтова капачка
- 4.9. Електрическа нагревателна плоча, с термостатичен температурен контролер. Температурно регулиране: около 80 °C. Горещата плоча се покрива с алуминиева плоча 20 cm × 20 cm и дебелина около 6 mm, за да се получи равномерно разпределение на топлината.

5. Процедура.

5.1. Приготвяне на пробата

Около 1 g проба се поставя в 50 милилитрова стъклена епруетка с винтова капачка (4.8). Прибавят се 4 капки разтвор на солна киселина (3.7) и 40 ml ацетон.

За изцяло основни козметични продукти, като например тоалетен сапун, трябва да се добавят 20 капки разтвор от солна киселина. Затворете тубата, внимателно подгрейте на температура около 60 °C, за да се улесни екстракцията на консерванта в ацетонната фаза и се разклаща енергично в продължение на 1 минута.

Измерва се pH на разтвора с pH-индикаторна хартия и pH на разтвора се регулира на стойност ≤ 3 при разтвор на солна киселина. Отново се разклаща енергично в продължение на 1 минута.

Разтворът се оставя да изстине до стайна температура и се филтрира през филтърна хартия в конична колба. 20 ml от филтрат се прехвърлят в 200 милилитрова конична колба, прибавят се 60 ml вода и се смесват. pH на сместа се регулира приблизително до 10 с калиев хидроокис (3.8), като се използва pH-индикаторна хартия.

Прибавя се 1 g калиев хлорид дихидрат (3.9) и се разклаща енергично. Разтворът се филтрира през филтърна хартия в 250 милилитрова сепарираща фуния, съдържаща 75 ml диетилов етер и се разклаща енергично в продължение на 1 минута. Изчаква се фазите да се разделят и водният слой се събира в 200 милилитрова конична колба. pH на разтвора се регулира приблизително до 2 с разтвор на солна киселина, като се използва pH-индикаторна хартия. След това се прибавят 10 ml диетилов етер и се разклаща енергично в продължение на 1 минута. Изчаква се фазите да се разделят и приблизително 2 ml от слоя диетилов етер се прехвърлят в 5 милилитрово шишенце за проба.

5.2. Тънкослойна хроматография (ТСХ)

ТСХ плаката (4.4) се поставя върху подгрята алуминиева плоча (точка 4.9). Нанасят се по 10 µl от стандартните разтвори (точка 3.18) и по 100 µl от разтвора(ите) на пробата (точка 5.1) върху стартовата линия на концентрационната зона на ТСХ плаката.

При необходимост, може да се използва въздушна струя, за да се улесни изпаряването на разтворителя. ТСХ плаката се отделя от подгряващата плоча и се оставя да се охлади до стайна температура. 100 ml от проявяващия разтворител (точка 3.19) се прехвърлят в проявяващия резервоар (точка 4.2).

ТСХ плаката се поставя веднага в ненаситената камера и се проявява при стайна температура докато фронта на разтворителя достигне до 15 cm от стартовата линия. Плаката се изважда от проявяващата вана и се суши чрез струя горещ въздух или с помощта на сешоар за коса с горещ въздух.

Плаката се наблюдава под ултравиолетова светлина (точка 4.3) и местата на петната се отбелязват. Плаката се нагрява за 30 минути в сушилната (точка 4.5) при 100 °C, за да отстрани излишната оцетна киселина. Консервантите се проявяват върху хроматограмата с реактива на Millon (точка 3.10), като се потапя валика за боя (точка 4.7) в реактива и след това се търкаля върху ТСХ-плаката докато тя се навлажни равномерно.

Забележка: Петната могат да се проявят и като внимателно се капне капка от реактива на Millon върху всяко от петната, отбелязани под ултравиолетова светлина.

Естерите на 4-хидроксibenзоената киселина се появяват като червени петна, а на 2-фенокситанол и 1-феноксипропан-2-ол като жълти петна. Самата 4-хидроксibenзоена киселина, която може да се открие в пробите като консервант или като продукт от разпадането на парааминобензоените киселини, също ще се появи като червено петно. Виж точки 7.3 и 7.4.

6. Идентификация.

Изчислява се стойността R_f за всяко петно. Сравняват се петната, получени от пробния разтвор с тези от стандартните разтвори по отношение на техните R_f -стойности, тяхното поведение под въздействието на ултравиолетовите лъчи и цвета им след проявяване. Оттам се правят предварителни заключения за идентичността на консервантите.

При наличието на парааминобензоени киселини, трябва да се проведе процедурата на високоефективна течна хроматография (ВЕТХ), описана в точка Б. Комбинират се резултатите тънкослойната хроматография и от ВЕТХ за потвърждаване на присъствието на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол и парааминобензоените киселини.

7. Забележки.

- 7.1. Поради токсичността на реактива на Millon, този реактив се прилага чрез една от описаните процедури. Пръскането не се препоръчва.
- 7.2. Други съединения, съдържащи хидроксилни групи, може също да се оцветят с реактива на Millon. Таблица с цветовете и R_f -стойностите, получени за различни консерванти с помощта на ТСХ-процедурата е публикувана в: N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi и 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). (Определяне на консерванти в козметични продукти I: Тънкослойна хроматографска процедура за идентификация на консерванти в козметични продукти).
- 7.3. R_f -стойностите, дадени в таблицата по-долу са индикация за стойностите, които могат да се получат:

Съединение	hR_f	Цвят
4-хидроксibenзоена киселина	11	червен
метилпарааминобензоена киселина	12	червен
етилпарааминобензоена киселина	17	червен
пропилпарааминобензоена киселина	21	червен
бутилпарааминобензоена киселина	26	червен
бензилпарааминобензоена киселина	16	червен
2-Феноксietанол	29	жълт
1-Феноксипропан-2-ол	50	жълт

- 7.4. За 4-хидроксibenзоената киселина и за метилпарааминобензоената киселина или за бензилпарааминобензоената киселина и етилпарааминобензоената киселина не се получава никакво разделяне. Идентификацията на тези съединения може да бъде потвърдена чрез използването на ВЕТХ-метода, описан в точка Б и сравняване на получените от проби времена на задържане с тези от стандартни разтвори.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Предмет и приложно поле

Този метод описва дозировката на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксibenзоат, етил 4-хидроксibenзоат, пропил 4-хидроксibenзоат, бутил 4-хидроксibenзоат и бензил 4-хидроксibenзоат в козметични продукти.

2. Дефиниция

Количествата консерванти, определени чрез настоящия метод, са изразяват като процент от масата.

3. Принцип

Пробата се подкислява чрез добавяне на сярна киселина и след това се суспендира в смес от етанол и вода. След леко загряване на сместа за втечняване на липидната фаза, за да се улесни количествената екстракция, сместа се филтрира.

Консервантите във филтратата се определят чрез обратнофазова ВЕТХ с помощта на изопропил 4-4-хидроксibenзоат като вътрешен стандарт.

4. Реактиви

4.1. Общи положения

Всички реактиви трябва да имат аналитична чистота и да са подходящи за ВЕТХ по целесъобразност. Водата трябва да бъде дестилирана вода или вода най-малко със същата чистота.

4.2. Етанол, абсолютен

4.3. 2-Феноксietанол

4.4. 1-Феноксипропан-2-ол

- 4.5. Метил 4-хидроксibenзоат (метилпарааминобензоена киселина)
- 4.6. Етил 4-хидроксibenзоат (етилпарааминобензоена киселина)
- 4.7. н-Пропил 4-хидроксibenзоат (пропилпарааминобензоена киселина)
- 4.8. Изопропил 4-хидроксibenзоат (изопропилпарааминобензоена киселина)
- 4.9. н-Бутил 4-хидроксibenзоат (бутилпарааминобензоена киселина)
- 4.10. Бензил 4-хидроксibenзоат (бензилпарааминобензоена киселина)
- 4.11. Тетрахидрофуран
- 4.12. Метанол
- 4.13. Ацетонитрил
- 4.14. Разтвор на сярна киселина $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$
- 4.15. Смес етанол/вода
Смесват се 9 обема етанол (точка 4.2) и 1 обем вода.
- 4.16. Разтвор на вътрешен стандарт
Претеглят се с точност около 0,25 g. изопропилпарааминобензоена киселина (точка 4.8), прехвърлят се в 500 милилитрова конична колба, разтваря се и се долива със смес етанол/вода (точка 4.15).
- 4.17. Подвижна фаза: смес тетраhydroфуран/вода/метанол/ацетонитрил.
Смесват се 5 обема тетраhydroфуран, 60 обема вода, 10 обема метанол и 25 обема ацетонитрил.
- 4.18. Стабилизиращ разтвор
Внимателно се претеглят около 0,2 g 2-Феноксietанол, 0,2 g 1-Феноксипропан-2-ол, 0,05 g. метилпарааминобензоена киселина, 0,05 g. етилпарааминобензоена киселина, 0,05 g. пропилпарааминобензоена киселина, 0,05 g. бутилпарааминобензоена киселина и 0,025 g бензилпарааминобензоена киселина в 100 милилитрова пикнометър, разтворете и допълнете обема със смес етанол/вода.
Разтворите остават стабилни до една седмица при съхраняване в хладилник.
- 4.19. Стандартни разтвори на консервантите
От изходния разтвор (точка 4.18) се прехвърлят съответно 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml и 1,00 ml в 50 милилитрови пикнометри. Във всеки пикнометър се прибавят по 10,00 ml разтвор на вътрешния стандарт (точка 4.16) и 1,0 ml разтвор на сярна киселина (точка 4.14) и се долива до марката със смес етанол/вода. Тези разтвори трябва да бъдат непосредствено преди употреба.

5. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване, и:

- 5.1. Водна баня с възможност за поддържане на температура $60 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.
- 5.2. Хроматограф за високоефективна течна хроматография с УВ детектор, дължина на вълната 280 nm.
- 5.3. Аналитична колона:
Неръждаема стомана, 25 cm $\times$ 4,6 mm вътрешен диаметър (или 12,5 cm $\times$ 4,6 mm вътрешен диаметър) облицована с Nucleosil 5C18 или еквивалент (виж точка 10.1)
- 5.4. 100 милилитрови стъклени епруветки с винтова капачка
- 5.5. Стружки карборунд, размер 2 до 4 mm, или еквивалент

6. Процедура

- 6.1. Приготвяне на пробата
- 6.1.1. Приготвяне на пробата без добавяне на вътрешен стандарт

Претегля се с точност около 1 g от пробата в 100 милилитрова стъклена епруетка с винтова капачка. В епруетката се вкарва с пипета 1,0 ml разтвор на сярна киселина (точка 4.14) и 50,0 ml смес етанол/вода (точка 4.15). Прибавя около 1 g стружки карборунд (точка 5.5), епруетката се затваря и се разклаща енергично до получаване на хомогенна суспензия. Разклаща се най-малко една минута. Епруетката се поставя за 5 минути във водна баня (точка 5.1) при $60 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, за да се улесни екстракцията на консервантите в етаноловата фаза.

Епруетката се охлажда незабавно под струя студена вода и екстракта се поставя в хладилник за един час. Екстрактът се филтрира с филтърна хартия. Около 2 ml от филтрат се прехвърлят в 5 милилитрова стъкленница за проба. Екстрактите се съхраняват в хладилник и ВЕТХ определянето трябва да се извърши до 24 часа.

6.1.2. Приготвяне на пробата с добавяне на вътрешен стандарт.

В 100 милилитрова стъклена епруветка с винтова капачка се претегля с точност до третия знак след десетичната запетая $1,0 \pm 0,1$ g от пробата.

С пипета се добавят в епруветката 1,0 ml разтвор на сярна киселина и 40,0 ml смес етанол/вода. Прибавете приблизително 1 g стружки карборунд (точка 5.5) и точно 10,00 ml вътрешен стандартен разтвор. Затворете епруветката и разклатете енергично докато се получи хомогенна суспензия. Разклащайте поне една минута. Епруветката се поставя за 5 минути във водната баня при $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ за улесняване на екстракцията на консервантите в етаноловата фаза.

Веднага след това епруветката се охлажда под струя студена вода и екстрактът се поставя в хладилник за един час. Екстрактът се филтрира с помощта на филтърна хартия.

Около 2 ml от филтрат се прехвърлят в 5 милилитрова стъклена чаша за проба (тестов разтвор). Екстрактите се съхраняват в хладилник за един час и се провежда BETX определяне в рамките на 24 часа.

6.2. Високоефективна течна хроматография (BETX).

6.2.1. Хроматографски условия.

- подвижна фаза: смес тетрахидрофуран/вода/метанол/ацетонитрил (точка 4.17)
- дебит: 1,5 ml/минута
- дължина на вълната за откриване: 280 nm

6.2.2. Калибриране.

Впръскват се по 10 μl от всеки от стандартните разтвори на консерванта (точка 4.19). От така получените хроматограми, се определят съотношенията между височините на пиковите на стандартните разтвори на консерванта и височините на пиковите на разтвора на вътрешен стандарт. За всеки консервант се начертава крива, която да свързва тези съотношения спрямо концентрациите на стандартните разтвори.

6.2.3. Дозировка.

В хроматографа се впръскват 10 μl от пробния разтвор без вътрешен стандарт (точка 6.1.1) и хроматограмата се записва.

Впръскват се 10 μl от стандартния разтвор на консерванта (точка 4.19) и хроматограмата се записва. Получените хроматограми се сравняват.

Ако в хроматограмата на екстракта проба (точка 6.1.1) няма нито един пик при същото време на задържане, както изопропилпарааминобензоената киселина (препоръчван вътрешен стандарт), се продължава с впръскване на 10 μl разтвор проба с вътрешен стандарт (точка 6.1.2). Хроматограмата се записва и се измерва височината на пиковите.

Ако в хроматограмата на екстракта проба се наблюдава пик с приблизително същото време на задържане както изопропилпарааминобензоената киселина, трябва да се избере друг вътрешен стандарт.

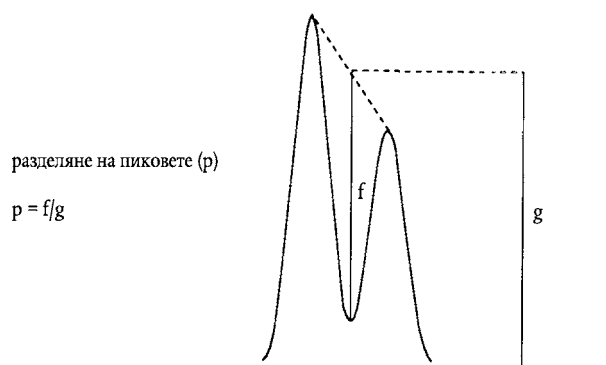
Ако един от изследваните консерванти не присъства в хроматограмата на пробата, този консервант може да се използва като алтернативен вътрешен стандарт.

Изчисляват се съотношенията на височината на пика на изследваните консерванти спрямо височините на пика на вътрешния стандарт.

Уверете се, че за стандартните разтвори, използвани при калибрирането, се е получила линейна зависимост.

Уверете се дали получените хроматограми за стандартен разтвор и разтвора на пробата отговарят на следните изисквания:

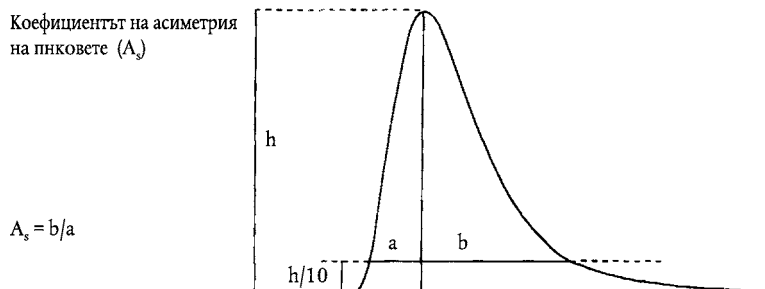
- Разделянето на пиковите на най-лошата разделена двойка трябва да бъде най-малко 0,90. (за дефиниция на пиково разделяне виж фигура 1).



Фигура 1: Разделяне на пиковите

Ако изискваното разделяне не е постигнато, необходимо е или да се използва по-ефективна колона, или да се нагласи състава на подвижната фаза, докато се постигнат изискванията.

- коефициентът на асиметрия A_s от всички получени пикове ще е в границите от 0,9 до 1,5. (За определение на коефициента на асиметрия на пиковите, виж фигура 2). За да запишете хроматограмата за определяне на коефициента на асиметрия, се препоръчва скорост на графиката най-малко 2 cm/минута.



Фигура 2: Коефициент на асиметрия на пиковите

- Трябва да се получи стабилна стартова линия.

7. Изчисление.

Използва се калибровъчната крива (точка 6.2.2) и съотношенията на височините на пиковите на изследваните консерванти спрямо вътрешния стандарт, за да се изчисли концентрацията на консервантите в разтвора проба. Изчислява се съдържанието на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксibenзоат, етил 4-хидроксibenзоат, пропил 4-хидроксibenзоат, бутил 4-хидроксibenзоат и бензил 4-хидроксibenзоат, w_i , като процент спрямо теглото (% m/m) по следната формулата:

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

където:

b_i = концентрацията ($\mu\text{g/ml}$) от консервант i в тестовия разтвор, както е разчетен от калибровъчна крива; и

a = масата (g) на изпитваната проба.

8. Повторяемост ⁽¹⁾

Виж точка 10.5.

9. Възпроизводимост ⁽¹⁾

Виж точка 10.5.

10. Забележки

10.1. Неподвижна фаза.

Поведението на задържане на разтворените вещества при определяне чрез ВЕТХ зависи в голяма степен от вида, качеството и историята на неподвижната фаза. Може да се знае дали една колона е използвана за разделянето на изследваните консерванти, като получените резултати за стандартни разтвори (виж забележки 6.2.3). Освен предложения материал за колона, може да се използват и Hypersil ODS и Zorbax ODS.

Може също да се оптимизира съставът на препоръчаната подвижна фаза с цел получаване на желаното разделяне.

10.2. Дължина на вълната за откриване

Тест за износостойчивост върху описания метод показва, че една малка промяна в дължината на вълната за откриване може да има значително въздействие върху резултатите на определянето.

Следователно, този параметър трябва да се контролира внимателно по време на анализите.

⁽¹⁾ ISO 5725.

10.3. Интерференции.

При условията, описани в този метод, сеелюират и много други съединения, като консерванти и козметични добавки, могат да останат неоткрити. Времената на задържане на голяма част от консервантите, упоменати в приложение VI към Директивата на Съвета за козметични продукти, са дадени в: 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) (Определяне на консерванти в козметични продукти II: Идентификация чрез високоефективна течна хроматография).

10.4. За подпомагане и пускане на аналитичната колона може да се използва подходяща предпазна колона.

10.5. Методът е изпитан от девет съвместно работещи лаборатории. Били са анализирани три проби. Таблицата по-долу дава за всяка от трите проби средните стойности в % m/m (m), повтораемостта (r) и възпроизводимостта (R) за съдържащите се консерванти:

Проба		2-Фенокс-етанол	1-Фенокс-пропан-2-ол	Метилпарабен	Етилпарабен	Пропилпарабен	Бутилпарабен	Бензилпарабен
Витаминен крем	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	
Бързо попиващ крем	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Масажен крем	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