ZEVENDE RICHTLIJN 96/45/EG VAN DE COMMISSIE

van 2 juli 1996

inzake voor de controle op de samenstelling van kosmetische produkten toe te passen analysemethoden

(Voor de EER relevante tekst)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 76/768/EEG van de Raad van 27 juli 1976 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake kosmetische produkten ([1]), laatstelijk gewijzigd bij Richtlijn 95/34/EG van de Commissie ([2]), inzonderheid op artikel 8, lid 1,

Overwegende dat bij Richtlijn 76/768/EEG in officiële controles op kosmetische produkten is voorzien, teneinde vast te stellen of de in de communautaire bepalingen betreffende de samenstelling van de kosmetische produkten vervatte voorwaarden in acht worden genomen;

Overwegende dat zo spoedig mogelijk alle noodzakelijke analysemethoden dienen te worden vastgesteld; dat daartoe met de vaststelling van bepaalde methoden in Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie ([3]), gewijzigd bij Richtlijn 87/143/EEG ([4]), Richtlijn 82/434/EEG van de Commissie ([5]), gewijzigd bij Richtlijn 90/207/EEG ([6]), en de Richtlijnen 83/514/EEG ([7]), 85/490/EEG ([8]), 93/73/EEG ([9]) en 95/32/EG ([10]) van de Commissie zes fasen zijn afgesloten;

Overwegende dat in dat verband een zevende fase wordt gevormd door de vaststelling van methoden voor de identificatie en gehaltebepaling van 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol, methyl-, ethyl-, propyl-, butyl- en de benzyl-4-hydroxybenzoaat in kosmetische produkten;

Overwegende dat de in deze richtlijn vervatte maatregelen in overeenstemming zijn met het advies van het Comité voor de aanpassing van Richtlijn 76/768/EEG aan de technische vooruitgang,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN VASTGESTELD:

Artikel 1

De Lid-Staten nemen de nodige maatregelen om te bereiken dat bij de officiële controles van kosmetische produkten de identificatie en gehaltebepaling van 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol, methyl-, ethyl-, propyl-, butyl- en benzyl-4-hydroxybenzoaat in kosmetische produkten volgens de in de bijlage beschreven methoden geschieden.

Artikel 2

1. De Lid-Staten doen de nodige wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 30 september 1997 aan deze richtlijn te voldoen. Zij stellen de Commissie daarvan onverwijld in kennis.

2. Wanneer de Lid-Staten deze bepalingen aannemen, wordt in die bepalingen naar de onderhavige richtlijn verwezen of wordt hiernaar verwezen bij de officiële bekendmaking van die bepalingen. De regels voor deze verwijzing worden vastgesteld door de Lid-Staten.

3. De Lid-Staten delen de Commissie de tekst van alle bepalingen van intern recht mede die zij op het onder deze richtlijn vallende gebied vaststellen.

Artikel 3

Deze richtlijn treedt in werking op de twintigste dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen.*

Artikel 4

Deze richtlijn is gericht tot de Lid-Staten.

Gedaan te Brussel, 2 juli 1996.

Voor de Commissie

Emma BONINO

Lid van de Commissie

([1]) PB nr. L 262 van 27. 9. 1976, blz. 169.
([2]) PB nr. L 167 van 18. 7. 1995, blz. 19.
([3]) PB nr. L 383 van 31. 12. 1980, blz. 27.
([4]) PB nr. L 57 van 27. 2. 1987, blz. 56.
([5]) PB nr. L 185 van 30. 6. 1982, blz. 1.
([6]) PB nr. L 108 van 28. 4. 1990, blz. 92.
([7]) PB nr. L 291 van 24. 10. 1983, blz. 9.
([8]) PB nr. L 295 van 7. 11. 1985, blz. 30.
([9]) PB nr. L 231 van 14. 9. 1993, blz. 34.
([10]) PB nr. L 178 van 28. 7. 1995, blz. 20.

BIJLAGE

IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN 2-FENOXYETHANOL, 1-FENOXYPROPAAN-2-OL, METHYL-, ETHYL-, PROPYL-, BUTYL- EN BENZYL-4-HYDROXYBENZOAAT IN KOSMETISCHE PRODUKTEN

A. IDENTIFICATIE

1. Doel en toepassingsgebied

Deze methode beschrijft een DLC-procedure waarmee, in combinatie met de in onderdeel B beschreven kwantitatieve analysemethode, de aanwezigheid van 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol, methyl-4-hydroxybenzoaat, ethyl-4-hydroxybenzoaat, propyl-4-hydroxybenzoaat, butyl-4-hydroxybenzoaat en benzyl-4-hydroxybenzoaat in kosmetische produkten kan worden aangetoond.

2. Beginsel

De conserveermiddelen worden met aceton uit het aangezuurde kosmetische monster geëxtraheerd. Na filtratie wordt de acetonoplossing met water gemengd, waarna de vetzuren in alkalisch milieu als calciumzouten worden neergeslagen. Het alkalische aceton/watermengsel wordt met diethylether geëxtraheerd om lipofiele stoffen te verwijderen. Na aanzuren worden de conserveermiddelen met diethylether geëxtraheerd. Een aliquot van het diethylether-extract wordt op een met silicagel gecoate dunnelaagplaat gebracht. Na ontwikkeling van de plaat wordt het verkregen chromatogram onder UV-licht bekeken en met Millon's reagens zichtbaar gemaakt.

3. Reagentia

3.1. Algemeen

Alle reagentia moeten van analysekwaliteit zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van minstens gelijkwaardige zuiverheid te zijn.

3.2. Aceton.

3.3. Diethylether.

3.4. n-Pentaan.

3.5. Methanol.

3.6. IJsazijn.

3.7. Zoutzuur, c(HCl) = 4mol/l.

3.8. Kaliumhydroxideoplossing c(KOH) = 4mol/l.

3.9. Calciumchloride-dihydraat ($CaCl_2 \cdot 2H_2O$).

3.10. Detectiereagens: Millon's reagens.

Millon's reagens (kwik(II)nitraat) is een in de handel verkrijgbare gebruiksklare oplossing (Fluka 69820).

3.11. 2-Fenoxyethanol.

3.12. 1-Fenoxypropaan-2-ol.

3.13. Methyl-4-hydroxybenzoaat (methylparaben).

3.14. Ethyl-4-hydroxybenzoaat (ethylparaben).

3.15. n-Propyl-4-hydroxybenzoaat (propylparaben).

3.16. n-Butyl-4-hydroxybenzoaat (butylparaben).

3.17. Benzyl-4-hydroxybenzoaat (benzylparaben).

3.18. Referentieoplossingen

Bereid 0,1 %-ige (m/V) oplossingen van elk van de referentiestoffen 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 en 3.17 in methanol.

3.19. Loopvloeistof

Meng 88 volumedelen n-pentaan met 12 volumedelen ijsazijn.

4. **Apparatuur**

Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede

4.1. waterbad, geschikt voor een temperatuur van 60 °C;

4.2. chromatografietank (zonder filtreerpapierbekleding);

4.3. UV-lamp, 254 nm;

4.4. DLC-platen, 20 cm × 20 cm, voorzien van een 0,25 mm laag silicagel 60 F_{254}, met concentratiezone (Merck Nr. 11798, Darmstadt, of gelijkwaardig);

4.5. oven, geschikt voor een temperatuur van 105 °C;

4.6. föhn;

4.7. wollen verfroller, lengte circa 10 cm, buitendiameter circa 3,5 cm. De wollaag moet 2 à 3 mm dik zijn. Zo nodig wordt de wol bijgesneden.

Zie de opmerking in punt 5.2.

4.8. glazen buizen, 50 ml, met schroefdop.

4.9. elektrische kookplaat met thermostaat. Temperatuurinstelling: circa 80 °C. De kookplaat wordt bedekt met een aluminiumplaat van 20 cm × 20 cm en een dikte van circa 6 mm om een gelijkmatige warmteverdeling te verkrijgen.

5. **Werkwijze**

5.1. Monstervoorbereiding

Weeg circa 1 g monster in een 50 ml glazen buis met schroefdop. Voeg vier druppels zoutzuur (punt 3.7) en 40 ml aceton toe.

In geval van sterk alkalische kosmetische produkten, zoals toiletzeep, worden 20 druppels zoutzuur toegevoegd. Sluit de buis, verwarm het mengsel voorzichtig tot circa 60 °C om de extractie van de conserveermiddelen in de acetonfase te vergemakkelijken en schud krachtig gedurende één minuut.

Bepaal de pH van de oplossing met pH-papier en zuur de oplossing aan met zoutzuur tot de pH ≤3 is. Schud krachtig gedurende één minuut.

Laat de oplossing afkoelen tot kamertemperatuur en filtreer over een papieren filter in een erlenmeyer. Breng 20 ml van het filtraat over in een 200 ml-erlenmeyer, voeg 60 ml water toe en meng. Breng de pH van het mengsel met kaliumhydroxideoplossing (punt 3.8) op ongeveer 10 onder gebruikmaking van pH-papier.

Voeg 1 g calciumchloride-dihydraat (punt 3.9) toe en schud krachtig. Filtreer de oplossing over een papieren filter in een 250 ml-scheitrechter die 75 ml diethylether bevat en schud krachtig gedurende één minuut. Wacht tot de fasen gescheiden zijn en vang de waterlaag op in een 200 ml-erlenmeyer.

Breng de pH van de oplossing met zoutzuur op ongeveer 2 onder gebruikmaking van pH-papier. Voeg vervolgens 10 ml diethylether toe en schud krachtig gedurende één minuut. Wacht tot de fasen gescheiden zijn en breng circa 2 ml van de diethyletherlaag over in een 5 ml-monsterflesje.

5.2. Dunnelaagchromatografie

Leg een DLC-plaat (punt 4.4) op de verwarmde aluminiumplaat (punt 4.9). Breng op de startlijn in de concentratiezone van de DLC-plaat 10 µl van elk van de referentieoplossingen (punt 3.18) en 100 µl van de monsteroplossing(en) (punt 5.1) op.

Desgewenst kan de verdamping van het oplosmiddel met een luchtstroom worden bevorderd. Neem de DLC-plaat van de verwarmingsplaat af en laat afkoelen tot kamertemperatuur.

Breng 100 ml van de loopvloeistof (punt 3.19) in de chromatografietank (punt 4.2). Plaats de DLC-plaat onmiddellijk in de onverzadigde tank en ontwikkel bij kamertemperatuur totdat het vloeistoffront een afstand van ongeveer 15 cm vanaf de basislijn heeft afgelegd. Neem de plaat uit de chromatografietank en droog de plaat met behulp van een föhn in een stroom hete lucht.

Bekijk de plaat onder UV-licht (punt 4.3) en markeer de positie van de vlekken. Verwarm de plaat gedurende 30 minuten in een oven (punt 4.5) op 100 °C om overtollig azijnzuur te verwijderen. Maak de conserveermiddelen zichtbaar met Millon's reagens (punt 3.10) door de verfroller (punt 4.7) in het reagens te dopen en over de DLC-plaat te rollen deze gelijkmatig gevochtigd is.

Opmerking: Als alternatief kunnen de vlekken zichtbaar worden gemaakt door op elk van de onder UV-licht gemarkeerde vlekken een druppel Millon's reagens te brengen.

Esters van 4-hydroxybenzoëzuur verschijnen als rode vlekken, 2 fenoxyethanol en 1-fenoxypropaan-2-ol als gele vlekken. Er wordt echter op gewezen dat 4-hydroxybenzoëzuur zelf, dat in de monsters aanwezig kan zijn als conserveermiddel of als ontledingsprodukt van de parabenen, ook als rode vlek verschijnt. Zie de punten 7.3 en 7.4.

6. **Identificatie**

Bereken de R_f-waarde van alle vlekken. Vergelijk de bij de monsteroplossing verkregen vlekken met die van de referentieoplossingen, daarbij lettend op de R_f-waarden, het gedrag onder UV-bestraling en de kleur na zichtbaar maken. Trek een voorlopige conclusie omtrent de identiteit van de conserveermiddelen.

Als er parabenen aanwezig lijken te zijn, moet de HPLC-methode zoals beschreven in onderdeel B worden uitgevoerd. Combineer de resultaten van DLC en HPLC om de aanwezigheid van 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol en de parabenen te bevestigen.

7. **Opmerkingen**

7.1. In verband met de giftigheid van Millon's reagens kan dit het best volgens één van de beschreven methoden worden opgebracht. Sproeien wordt niet aanbevolen.

7.2. Andere verbindingen die hydroxylgroepen bevatten kunnen met Millon's reagens ook kleuren te zien geven. Een tabel met de kleuren en R_f-waarden voor een aantal conserveermiddelen, zoals die met deze DLC-methode worden verkregen, is opgenomen in: N. de Kruijf, M.A.H. de 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. Chromatoghraphy 410, blz. 395-411).

7.3. De onderstaande R_f-waarden dienen als indicatie voor de waarden die kunnen worden verkregen.

Verbinding	hR_f	Kleur
4-Hydroxybenzoëzuur	11	rood
Methylparaben	12	rood
Ethylparaben	17	rood
Propylparaben	21	rood
Butylparaben	26	rood
Benzylparaben	16	rood
2-Fenoxyethanol	29	geel
1-Fenoxypropaan-2-ol	50	geel

7.4. Er wordt geen scheiding verkregen tussen 4-hydroxybenzoëzuur en methylparaben, evenmin als tussen benzylparaben en ethylparaben. De identificatie van deze verbindingen moet worden bevestigd met behulp van de in onderdeel B beschreven HPLC-methode door vergelijking van de verkregen retentietijden met die van de standaarden.

B. GEHALTEBEPALING

1. **Doel en toepassingsgebied**

Deze methode beschrijft een werkwijze voor de gehaltebepaling van 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol, methyl-4-hydroxybenzoaat, ethyl-4-hydroxybenzoaat, propyl-4-hydroxybenzoaat, butyl-4-hydroxybenzoaat en benzyl-4-hydroxybenzoaat in kosmetische produkten.

2. **Definitie**

De volgens deze methode bepaalde gehaltes aan conserveermiddelen worden uitgedrukt als massapercentage.

3. **Beginsel**

Het monster wordt aangezuurd met zwavelzuur en vervolgens gesuspendeerd in een ethanol/watermengsel. Na voorzichtig verwarmen van het mengsel om de vetfase te smelten, teneinde kwantitatieve extractie te bevorderen, wordt het mengsel gefiltreerd. De conserveermiddelen in het filtraat worden bepaald met behulp van reversed-phase HPLC, waarbij isopropyl-4-hydroxybenzoaat gebruikt wordt als interne standaard.

4. **Reagentia**

4.1. Algemeen

Alle reagentia moeten van analysekwaliteit en, waar van toepassing, geschikt voor HPLC zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van minstens gelijkwaardige zuiverheid te zijn.

4.2. Ethanol, absoluut.

4.3. 2-Fenoxyethanol.

4.4. 1-Fenoxypropaan-2-ol.

4.5. Methyl-4-hydroxybenzoaat (methylparaben).

4.6. Ethyl-4-hydroxybenzoaat (ethylparaben).

4.7. n-Propyl-4-hydroxybenzoaat (propylparaben).

4.8. Isopropyl-4-hydroxybenzoaat (isopropylparaben).

4.9. n-Butyl-4-hydroxybenzoaat (butylparaben).

4.10. Benzyl-4-hydroxybenzoaat (benzylparaben).

4.11. Tetrahydrofuran.

4.12. Methanol.

4.13. Acetonitril.

4.14. Verdund zwavelzuur, $c(H_2SO_4) = 2 mol/l$.

4.15. Ethanol/Watermengsel

Meng negen volumedelen ethanol (punt 4.2) met één volumedeel water.

4.16. Interne-standaardoplossing

Weeg circa 0,25 g isopropylparaben (punt 4.8) nauwkeurig af, breng dit kwantitatief over in een maatkolf van 500 ml, los op en vul aan tot de streep met ethanol/watermengsel (punt 4.15).

4.17. Mobiele fase: tetrahydrofuran/water/methanol/acetonitrilmengsel

Meng vijf volumedelen tetrahydrofuran, 60 volumedelen water, tien volumedelen methanol en 25 volumedelen acetonitril.

4.18. Stamoplossing conserveermiddelen

Weeg nauwkeurig circa 0,2 g 2-fenoxyethanol, 0,2 g 1-fenoxypropaan-2-ol, 0,05 g methylparaben, 0,05 g ethylparaben, 0,05 g propylparaben, 0,05 g butylparaben en 0,025 g benzylparaben af in een maatkolf van 100 ml, los op en vul aan tot de streep met ethanol/watermengsel.

Bewaard in de koelkast is deze oplossing een week houdbaar.

4.19. Standaardoplossingen conserveermiddelen

Breng respectievelijk 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml en 1,00 ml stamoplossing (punt 4.18) in maatkolven van 50 ml. Voeg telkens 10,00 ml interne-standaardoplossing (punt 4.16) en 1,0 ml verdund zwavelzuur (punt 4.14) toe en vul aan tot de streep met ethanol/watermengsel. Deze oplossingen moeten vers bereid worden.

5. Apparatuur

Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede:

5.1. waterbad, geschikt voor een temperatuur van 60 °C ± 1 °C;

5.2. HPLC-apparaat, voorzien van een UV-detector, golflengte: 280 nm;

5.3. analytische kolom:

Roestvrij staal, 25 cm × 4,6 mm inwendige diameter (of 12,5 cm × 4,6 mm), gevuld met Nucleosil 5C18 of gelijkwaardig (zie punt 10.1);

5.4. glazen buizen, 100 ml, met schroefdop;

5.5. kooksteentjes, carborundum, afmeting 2-4 mm, of gelijkwaardig.

6. Werkwijze

6.1. Monstervoorbereiding

6.1.1. Monstervoorbereiding zonder toevoeging van interne standaard

Weeg in een glazen buis van 100 ml met schroefdop circa 1,0 g monster af. Pipetteer 1,0 ml verdund zwavelzuur (punt 4.14) en 50,0 ml ethanol/watermengsel (punt 4.15) in de buis. Voeg circa 1 g kooksteentjes (punt 5.5) toe, sluit de buis en schud krachtig tot een homogene suspensie is verkregen.

Schud ten minste één minuut. Plaats de buis gedurende vijf minuten in een waterbad (punt 5.1) op 60 °C ± 1 °C om de extractie van de conserveermiddelen in de ethanolfase te vergemakkelijken.

Koel de buis onmiddellijk onder koud stromend water en plaats het extract gedurende één uur in de koelkast. Filtreer het extract over een papieren filter. Breng circa 2 ml van het filtraat over in een monsterflesje van 5 ml. Bewaar de extracten in de koelkast en voer de HPLC-bepaling binnen 24 uur uit.

6.1.2. Monstervoorbereiding met toevoeging van interne standaard

Weeg in een glazen buis van 100 ml met schroefdop tot op drie decimale plaatsen 1,0 g ± 0,1 g monster af (= *a* g). Pipetteer 1,0 ml verdund zwavelzuur en 40,0 ml ethanol/watermengsel in de buis. Voeg circa 1 g kooksteentjes en exact 10,00 ml interne-standaardoplossing toe. Sluit de buis en schud krachtig tot een homogene suspensie is verkregen.

Schud tenminste één minuut. Plaats de buis gedurende vijf minuten in een waterbad op 60 °C ± 1 °C om de extractie van de conserveermiddelen in de ethanolfase te vergemakkelijken.

Koel de buis onmiddellijk onder koud stromend water en plaats het extract gedurende één uur in de koelkast. Filtreer het extract over een papieren filter. Breng circa 2 ml van het filtraat over in een monsterflesje van 5 ml (proefoplossing). Bewaar de extracten in de koelkast en voer de HPLC-bepaling binnen 24 uur uit.

6.2. HPLC

6.2.1. Chromatografie

— Mobiele fase: tetrahydrofuran/water/methanol/acetonitril mengsel (punt 4.17).

— Debiet: 1,5 ml/minuut.

— Detectiegolflengte: 280 nm.

6.2.2. IJking

Injecteer achtereenvolgens 10 µl van elk van de conserveermiddel-standaardoplossingen (punt 4.19). Bepaal in de verkregen chromatogrammen de verhouding tussen de piekhoogtes van de conserveermiddel-standaardoplossingen en die van de interne standaard. Maak voor elk conserveermiddel een ijkgrafiek door de aldus bepaalde verhouding uit te zetten tegen de concentratie van het conserveermiddel in de standaardoplossing.

6.2.3. Bepaling

Injecteer 10 µl van de monsteroplossing zonder interne standaard (punt 6.1.1) in de chromatograaf en neem het chromatogram op.

Injecteer 10 µl van één van de conserveermiddel-standaardoplossingen (punt 4.19) en neem het chromatogram op. Vergelijk de verkregen chromatogrammen. Komt in het chromatogram van het monsterextract (punt 6.1.1) geen piek voor met ongeveer dezelfde retentietijd als isopropylparaben (de aanbevolen interne standaard), injecteer dan 10 µl monsteroplossing met interne standaard (punt 6.1.2). Neem het chromatogram op en meet de piekhoogtes.

Als in het chromatogram van de monsteroplossing een storende piek aanwezig is met ongeveer dezelfde retentietijd als isopropylparaben, moet een andere interne standaard worden gekozen. Als één van de onderzochte conserveermiddelen niet in het chromatogram van het monster voorkomt, kan dit als alternatieve interne standaard gebruikt worden.

Bereken de verhoudingen van de piekhoogtes van de onderzochte conserveermiddelen tot die van de interne standaard.

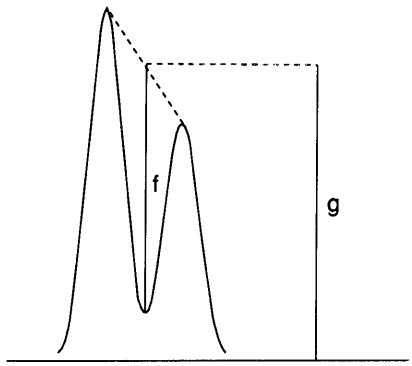
Ga na of voor de standaardoplossingen bij de ijking een lineaire afhankelijkheid wordt verkregen.

Ga na of de met de standaardoplossing en de monsteroplossing verkregen chromatogrammen aan de volgende voorwaarden voldoen:

— De piekscheiding van het slechts gescheiden paar moet minimaal 0,90 zijn (voor de definitie van de piekscheiding zie figuur 1).

Piekscheiding (p)

p = f/g.



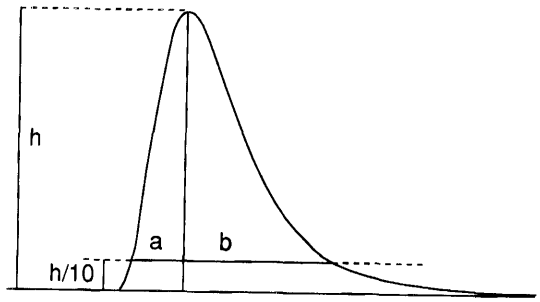
Figuur 1: Piekscheiding

Indien de vereiste scheiding niet wordt verkregen moet er of een efficiëntere kolom worden gebruikt of moet de samenstelling van de mobiele fase worden aangepast totdat dit wel het geval is.

— De asymmetriefactor A_s van alle verkregen pieken moet tussen 0,9 en 1,5 liggen (voor een definitie van de piekasymmetriefactor zie figuur 2). Voor het bepalen van de asymmetriefactor wordt aanbevolen het chromatogram met een papiersnelheid van minimaal 2 cm/minuut op te nemen,

Asymmetriefactor (A_s)

$A_s = b/a$.



Figuur 2: Piekasymmetriefactor

— Er moet een vlakke basislijn worden verkregen.

7. **Berekening**

Bereken uit de verhoudingen van de piekhoogtes van de onderzochte conserveermiddelen tot die van de interne standaard met behulp van de ijkgrafiek (punt 6.2.2) de concentratie van de conserveermiddelen in de monsteroplossing. Bereken het gehalte aan 2-fenoxyethanol, 1-fenoxypropaan-2-ol, methyl-4-hydroxybenzoaat, ethyl-4-hydroxybenzoaat, propyl-4-hydroxybenzoaat, butyl-4-hydroxybenzoaat en benzyl-4-hydroxybenzoaat, w_i, als massapercentage (% m/m) met behulp van de volgende formule:

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

waarbij

b_i = concentratie van het conserveermiddel i in de proefoplossing in microgram per millimeter, zoals afgelezen uit de ijkgrafiek, en

a = monsterinweeg in gram.

8. **Herhaalbaarheid** (1)

Zie de opmerkingen in punt 10.5.

9. **Reproduceerbaarheid** (1)

Zie de opmerkingen in punt 10.5.

10. **Opmerkingen**

10.1. Stationaire fase

Het retentiegedrag bij HPLC-bepalingen hangt sterk af van het soort, het merk en de voorgeschiedenis van de stationaire fase. Of een kolom geschikt is voor de scheiding van de bestudeerde conserveermiddelen, kan worden opgemaakt uit de resultaten die met de standaardoplossingen worden verkregen (zie de opmerkingen in punt 6.2.3). Naast de voorgestelde kolompakking zijn ook Hypersil ODS en Zorbax ODS geschikt gebleken.

Eventueel kan de samenstelling van de mobiele fase worden geoptimaliseerd om de vereiste scheiding te verkrijgen.

10.2. Detectiegolflengte

Uit een robuustheidstest die op de beschreven methode is uitgevoerd, is gebleken dat een geringe verandering in de detectiegolflengte een aanzienlijk effect op de resultaten van de bepaling kan hebben. Daarom moet deze parameter bij de analyse zorgvuldig worden gecontroleerd.

(1) Volgens ISO 5725.

10.3. Storingen

Onder de in deze methode beschreven condities worden ook tal van andere verbindingen, zoals conserveermiddelen en kosmetica-additieven, geëlueerd. Een overzicht van de retentietijden van een groot aantal conserveermiddelen die vermeld staan in bijlage VI bij de richtlijn van de Raad inzake kosmetische produkten, is opgenomen in: N. De Kruijf, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten (1987): Determination of preservatives in cosmetic products II: High performance liquid chromatographic identification. (J. Chromatography 469, blz. 317-398).

10.4. Ter bescherming van de analytische kolom kan een geschikte guardkolom worden gebruikt.

10.5. De methode is onderzocht in een ringonderzoek waaraan negen laboratoria hebben deelgenomen. Hierbij zijn drie monsters geanalyseerd. De onderstaande tabel geeft voor elk van die drie monsters het gemiddelde gehalte als massapercentage (m), de herhaalbaarheid (r) en de reproduceerbaarheid (R) van de daarin aanwezige analyten.

Monster		2-Feno-xyethanol	1-Feno-xypropaan-2-ol	Methylparaben	Ethylparaben	Propylparaben	Butylparaben	Benzylparaben
Vitaminecrème	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	
Dagcrème	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Massagecrème	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