

31996L0045

22.8.1996

JURNALUL OFICIAL AL COMUNITĂȚILOR EUROPENE

L 213/8

DIRECTIVA A ȘAPTEA 96/45/CE A COMISIEI
din 2 iulie 1996
privind metodele de analiză necesare pentru controlul compoziției produselor cosmetice
(Text cu relevanță pentru SEE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Economice Europene,

având în vedere Directiva 76/768/CEE a Consiliului din 27 iulie 1976 privind apropierea legislației statelor membre cu privire la produsele cosmetice ⁽¹⁾, modificată ultima dată de Directiva 95/34/CE a Comisiei ⁽²⁾, în special articolul 8 alineatul (1),

întrucât Directiva 76/768/CEE prevede testarea oficială a produselor cosmetice cu scopul constatării îndeplinirii condițiilor stabilite de dispozițiile Comunității privind compoziția produselor cosmetice;

întrucât toate metodele de analiză necesare trebuie să fie stabilite cât mai repede posibil; întrucât anumite metode au fost deja adoptate de Directiva 80/1335/CEE a Comisiei ⁽³⁾, modificată de Directiva 87/143/EEC ⁽⁴⁾, de Directiva 82/434/CEE a Comisiei ⁽⁵⁾, modificată de Directiva 90/207/CEE ⁽⁶⁾, și de Directivele 83/514/CEE ⁽⁷⁾, 85/490/CEE ⁽⁸⁾, 93/73/CEE ⁽⁹⁾ și 95/32/CE ⁽¹⁰⁾ ale Comisiei;

întrucât identificarea și determinarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropandiolului, 4-hidroxibenzoatului de metil, etil, propil, butil și benzil în produsele cosmetice constituie o a șaptea etapă;

întrucât măsurile prevăzute de prezenta directivă sunt în conformitate cu avizul Comitetului privind adaptarea Directivei 76/768/CEE la progresul tehnic,

ADOPTĂ PREZENTA DIRECTIVĂ:

Articolul 1

Statele membre adoptă toate măsurile necesare pentru a asigura ca în timpul testării oficiale a produselor cosmetice identificarea și

determinarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropandiolului, 4-hidroxibenzoatului de metil, etil, propil, butil și benzil să fie efectuate în conformitate cu metodele descrise în anexă.

Articolul 2

(1) Statele membre pun în aplicare actele cu putere de lege și actele administrative necesare pentru a se conforma prezentei directive până la 30 septembrie 1997. Statele membre informează de îndată Comisia cu privire la aceasta.

(2) Atunci când statele membre adoptă aceste acte, acestea cuprind o trimitere la prezenta directivă sau sunt însoțite de o asemenea trimitere la data publicării lor oficiale. Statele membre stabilesc modalitatea de efectuare a acestei trimiteri.

(3) Comisiei îi sunt comunicate de către statele membre textele dispozițiilor de drept intern pe care le adoptă în domeniul reglementat de prezenta directivă.

Articolul 3

Prezenta directivă intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Comunităților Europene*.

Articolul 4

Prezenta directivă se adresează statelor membre.

Adoptată la Bruxelles, 2 iulie 1996.

Pentru Comisie

Emma BONINO

Membru al Comisiei

⁽¹⁾ JO L 262, 27.9.1976, p. 169.

⁽²⁾ JO L 167, 18.7.1995, p. 19.

⁽³⁾ JO L 383, 31.12.1980, p. 27.

⁽⁴⁾ JO L 57, 27.2.1987, p. 56.

⁽⁵⁾ JO L 185, 30.6.1982, p. 1.

⁽⁶⁾ JO L 108, 28.4.1990, p. 92.

⁽⁷⁾ JO L 291, 24.10.1983, p. 9.

⁽⁸⁾ JO L 295, 7.11.1985, p. 30.

⁽⁹⁾ JO L 231, 14.9.1993, p. 34.

⁽¹⁰⁾ JO L 178, 28.7.1995, p. 20.

ANEXĂ

IDENTIFICAREA ȘI DETERMINAREA 2-FENOXIETANOLULUI, 1-FENOXIPROPANDIOLULUI, 4-HIDROXIBENZOATULUI DE METIL, ETIL, PROPIL, BUTIL ȘI BENZIL ÎN PRODUSELE COSMETICE**A. IDENTIFICARE****1. Obiectul și domeniul de aplicare**

Prezenta metodă specifică un procedeu TLC care, în combinație cu metoda de determinare descrisă în secțiunea B, permite identificarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropandiolului, 4-hidroxibenzoatului de metil, 4-hidroxibenzoatului de etil, 4-hidroxibenzoatului de propil, 4-hidroxibenzoatului de butil și 4-hidroxibenzoatului de benzil în produsele cosmetice.

2. Principiu

Conservanții sunt extrași din probele cosmetice acidificate cu acetonă. După filtrare, soluția de acetonă este amestecată cu apă și, într-un mediu alcalin, acizii grași sunt precipitați sub forma sărurilor lor de calciu. Amestecul alcalin acetonă/apă este extras cu dietileter pentru a îndepărta substanțele lipofile. După acidificare, conservanții sunt extrași cu dietileter. O porțiune din extractul dietileteric este picurată pe o placă pentru cromatografie în strat subțire acoperită cu silicagel. După dezvoltarea plăcii, cromatograma obținută este observată în lumină UV și vizualizată prin utilizarea reactivului Millon.

3. Reactivi**3.1. Generalități**

Toți reactivii utilizați trebuie să fie de puritate analitică. Apa este apă distilată sau apă de cel puțin aceeași puritate.

3.2. Acetonă**3.3. Dietileter****3.4. n-pentan****3.5. Metanol****3.6. Acid acetic glacial****3.7. Soluție de acid clorhidric, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.8. Soluție de hidroxid de potasiu, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.9. Clorură de calciu dihidratată ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)****3.10. Reactiv de detectare: reactiv Millon**

Reactivul Millon [azotat de mercur (II)] este o soluție gata preparată, disponibilă în comerț (Fluka 69820).

3.11. 2-fenoxietanol**3.12. 1-fenoxipropandiol****3.13. 4-hidroxibenzoat de metil (metilparaben)****3.14. 4-hidroxibenzoat de etil (etilparaben)****3.15. 4-hidroxibenzoat de n-propil (propilparaben)****3.16. 4-hidroxibenzoat de n-butil (butilparaben)****3.17. 4-hidroxibenzoat de benzil (benzilparaben)****3.18. Soluții de referință**

Se prepară soluții 0,1 % (m/v) în metanol din fiecare din substanțele de referință 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 și 3.17.

3.19. Solvent de dezvoltare

Se amestecă 88 volume de n-pentan (3.4) cu 12 volume de acid acetic glacial (3.6).

4. Aparatură

Echipament obișnuit de laborator și:

- 4.1. Baie de apă, capabilă de menținerea unei temperaturi de 60 °C
- 4.2. Tanc de dezvoltare (necăptușit cu hârtie de filtru)
- 4.3. Sursă de lumină UV, 254 nm
- 4.4. Plăci pentru cromatografie în strat subțire, 20 cm × 20 cm, preacoperite cu 0,25 mm silicagel 60F₂₅₄, cu zonă concentratoare (Merck nr. 11798, Darmstadt sau echivalent)
- 4.5. Cuptor capabil de menținerea unei temperaturi până la 105 °C
- 4.6. Uscător pentru păr cu aer fierbinte
- 4.7. Rolă pentru vopsirea lânii, lungime aproximativ 10 cm, diametru exterior aproximativ 3,5 cm. Grosimea stratului de lână va fi de 2 până la 3 mm. Dacă este necesar, lâna se ajustează.
A se vedea nota de la punctul 5.2.
- 4.8. Epubete de sticlă de 50 ml cu dop filetat
- 4.9. Plită cu încălzire electrică, cu termostat pentru controlul temperaturii. Reglarea temperaturii: aproximativ 80 °C. Plita se acoperă cu o placă de aluminiu de 20 cm × 20 cm și grosime de aproximativ 6 mm, pentru a obține o distribuție uniformă a temperaturii.

5. Procedură**5.1. Pregătirea probei**

Într-o eprubetă de sticlă de 50 ml cu dop filetat (4.8) se cântărește aproximativ 1 g de probă. Se adaugă patru picături de soluție de acid clorhidric (3.7) și 40 ml de acetonă.

Pentru produsele cosmetice puternic bazice, cum ar fi săpunul de toaletă, se adaugă 20 de picături de soluție de acid clorhidric. Se închide eprubeta, se încălzește ușor amestecul până la aproximativ 60 °C pentru a facilita extragerea conservanților în faza de acetonă și se agită puternic timp de un minut.

Se măsoară pH-ul soluției cu hârtie indicatoare de pH și se reglează pH-ul soluției ≤ 3 cu soluție de acid clorhidric. Se agită din nou puternic timp de un minut.

Se răcește soluția la temperatura camerei și se filtrează prin hârtie de filtru într-un pahar conic. Se transferă 20 ml din filtrat într-un pahar conic de 200 ml, se adaugă 60 ml apă și se amestecă. Se reglează pH-ul amestecului la aproximativ 10 cu hidroxid de potasiu (3.8), folosind hârtie indicatoare de pH.

Se adaugă 1 g clorură de calciu dihidratată (3.9) și se agită puternic. Se filtrează soluția prin hârtie de filtru într-o pâlnie de separare de 250 ml conținând 75 ml dietileter și se agită puternic timp de un minut. Se lasă fazele să se separe și se colectează stratul apos într-un pahar conic de 200 ml. Se reglează pH-ul soluției la aproximativ 2 cu soluție de acid clorhidric, folosind hârtie indicatoare de pH. Ulterior se adaugă 10 ml dietileter și se agită puternic timp de un minut. Se lasă ca fazele să se separe și se transferă aproximativ 2 ml din stratul dietileteric într-o fiolă de probă de 5 ml.

5.2. Cromatografie în strat subțire (TLC)

Se pune o placă pentru TLC (4.4) pe placa de aluminiu încălzită (4.9). Se pun 10 μl din fiecare dintre soluțiile de referință (3.18) și 100 μl de soluție de probă (5.1) pe linia de start a zonei concentratoare a plăcii pentru TLC.

Dacă se dorește, se poate folosi un curent de aer care facilitează evaporarea solventului. Se îndepărtează placa pentru TLC de pe plită și se lasă să se răcească la temperatura camerei. Se transferă 100 ml solvent de dezvoltare (3.19) într-un tanc de dezvoltare (4.2).

Se pune imediat placa pentru TLC în camera nesaturată și se dezvoltă la temperatura camerei până când frontul de solvent avansează aproximativ 15 cm față de linia de pornire. Se îndepărtează placa din tancul de dezvoltare și se usucă într-un curent de aer fierbinte cu ajutorul unui uscător pentru păr cu aer fierbinte.

Se examinează placa în lumină UV (4.3) și se marchează poziția petelor. Se încălzește placa timp de 30 de minute într-un cuptor (4.5) la 100 °C pentru a îndepărta excesul de acid acetic. Se vizualizează conservanții din cromatogramă cu ajutorul reactivului Millon (3.10), prin înmuierea în reactiv a roleurilor pentru vopsire (4.7) și rularea peste placa pentru TLC până la udare uniformă.

Notă: Ca alternativă, petele pot fi vizualizate în lumină UV prin aplicarea cu grijă a unei picături din reactivul Millon pe fiecare pată marcată.

Esterii acidului 4-hidroxibenzoic apar ca pete roșii, 2-fenoxietanolul și 1-fenoxipropandiolul ca pete galbene. De remarcat că acidul 4-hidroxibenzoic însuși, care poate fi prezent în probe drept conservant sau drept produs de descompunere al derivaților hidroxiparabenzoatici, apare, de asemenea, ca o pată roșie. A se vedea punctele 7.3 și 7.4.

6. **Identificare**

Se calculează valoarea R_f pentru fiecare pată. Se compară petele obținute pentru soluția de probă cu acelea ale soluțiilor de referință, din punct de vedere al valorilor R_f , al comportamentului în radiație ultravioletă și al culorii după vizualizare. Se trag concluzii preliminare asupra identității conservanților.

Dacă apar ca prezenți derivați hidroxiparabenoatici, trebuie realizată procedura prin HPLC descrisă în secțiunea B. Se combină rezultatele obținute prin TLC și prin cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC) pentru a confirma prezența a 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropandiolului și a derivaților hidroxiparabenoatici.

7. **Observații**

- 7.1. Din cauza toxicității reactivului Millon, acesta se aplică cel mai bine printr-unul dintre procedeele descrise. Nu este recomandată pulverizarea.
- 7.2. Alți compuși conținând grupări hidroxil pot de asemenea colora reactivul Millon. Un tabel conținând culori și valori ale R_f obținute pentru un număr de conservanți folosind această procedură prin TLC poate fi găsit în: N. de Kruijff, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi și 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. Valorile R_f enumerate în următorul tabel servesc ca indicație a valorilor care ar putea fi obținute.

Compus	hR_f	Culoare
acid 4-hidroxibenzoic	11	roșu
metilparaben	12	roșu
etilparaben	17	roșu
propilparaben	21	roșu
butilparaben	26	roșu
benzilparaben	16	roșu
2-fenoxietanol	29	galben
1-fenoxipropandiol	50	galben

- 7.4. Nu se obține nici o separare pentru acidul 4-hidroxibenzoic și metilparaben sau pentru benzilparaben și etilparaben. Identificarea acestor compuși trebuie confirmată prin aplicarea procedurii prin HPLC descrise în secțiunea B și compararea timpilor de retenție obținuți pentru probă cu cei ai standardelor.

B. **DETERMINARE**1. **Obiectul și domeniul de aplicare**

Prezenta metodă specifică un procedeu pentru determinarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropandiolului, 4-hidroxibenzoatului de metil, 4-hidroxibenzoatului de etil, 4-hidroxibenzoatului de propil, 4-hidroxibenzoatului de butil și 4-hidroxibenzoatului de benzil în produsele cosmetice.

2. **Definiție**

Cantitățile de conservanți determinate prin această metodă sunt exprimate ca procente masice.

3. **Principiu**

Proba este acidificată prin adăugare de acid sulfuric și apoi suspendată într-un amestec de etanol și apă. După încălzirea ușoară a amestecului pentru topirea fazei grase în vederea susținerii extracției cantitative, amestecul este filtrat.

Conservanții din filtrat sunt determinați prin HPLC cu fază inversă utilizând 4-hidroxibenzoat de izopropil ca standard intern.

4. **Reactivi**

4.1. Generalități

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și adecvați pentru HPLC, atunci când este cazul. Apa este apă distilată sau apă de puritate cel puțin echivalentă.

4.2. Etanol absolut

4.3. 2-fenoxietanol

4.4. 1-fenoxipropandiol

- 4.5. 4-hidroxibenzoat de metil (metilparaben)
- 4.6. 4-hidroxibenzoat de etil (etilparaben)
- 4.7. 4-hidroxibenzoat de n-propil (propilparaben)
- 4.8. 4-hidroxibenzoat de izopropil (izopropilparaben)
- 4.9. 4-hidroxibenzoat de n-butil (butilparaben)
- 4.10. 4-hidroxibenzoat de benzil (benzilparaben)
- 4.11. Tetrahidrofuran
- 4.12. Metanol
- 4.13. Acetonitril
- 4.14. Soluție de acid sulfuric $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$
- 4.15. Amestec etanol/apă
Se amestecă nouă volume de etanol (4.2) și un volum de apă.
- 4.16. Soluție de standard intern
Se cântăresc cu precizie 0,25 g izopropilparaben (4.8), se transferă într-un balon cotat de 500 ml, se dizolvă și se aduce la semn cu amestec etanol/apă (4.15).
- 4.17. Faza mobilă: amestec tetrahidrofuran/apă/metanol/acetonitril
Se amestecă 5 volume de tetrahidrofuran, 60 volume de apă, 10 volume de metanol și 25 volume de acetonitril.
- 4.18. Soluție stoc de conservant
Într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 0,2 g 2-fenoxietanol, 0,2 g 1-fenoxipropandiol, 0,05 g metilparaben, 0,05 g etilparaben, 0,05 g propilparaben, 0,05 g butilparaben și 0,025 g benzilparaben, se dizolvă și se aduce la semn cu amestec etanol/apă. Aceste soluții trebuie să fie proaspăt preparate.
Păstrată în frigider, soluția este stabilă timp de o săptămână.
- 4.19. Soluții standard de conservant
Din soluția stoc (4.18) se transferă în baloane cotate de 50 ml, 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml și, respectiv, 1,00 ml. În fiecare balon se adaugă 10,00 ml soluție standard intern (4.16) și 1,0 ml soluție de acid sulfuric (4.14) și se aduce la semn cu amestec etanol/apă. Aceste soluții trebuie să fie proaspăt preparate.
5. **Aparatură**
Echipament de laborator obișnuit și:
 - 5.1. Baie de apă, capabilă de menținerea temperaturii la $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$
 - 5.2. Cromatograf de lichid de înaltă performanță cu detector UV, lungime de undă 280 nm
 - 5.3. Coloană analitică:
Oțel inoxidabil, 25 cm $\times$ 4,6 mm diametru interior (sau 12,5 cm $\times$ 4,6 mm diametru interior), umplută cu Nucleosil 5C18 sau echivalent (a se vedea punctul 10.1).
 - 5.4. Eprubete de sticlă de 100 ml cu dop filetat.
 - 5.5. Granule pentru omogenizarea fierberii, carborundum, dimensiuni 2-4 mm sau echivalent.
6. **Procedură**
 - 6.1. Prepararea probei
 - 6.1.1. Pregătirea probei fără adaos de standard intern
Într-o eprubetă de sticlă de 100 ml cu dop filetat se cântărește aproximativ 1,0 g de probă. Se pun cu pipeta în eprubetă 1,0 ml soluție de acid sulfuric (4.14) și 50,0 ml amestec etanol/apă (4.15). Se adaugă 1 g de granule pentru omogenizarea fierberii (5.5), se închide eprubeta și se agită puternic până la obținerea unei suspensii omogene. Se agită timp de cel puțin un minut. Se introduce eprubeta pentru cinci minute într-o baie de apă (5.1) menținută la $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol.

Eprubeta se răcește imediat într-un curent de apă rece și se depozitează extractul în frigider pentru o oră. Se filtrează extractul folosind hârtie de filtru. Se transferă aproximativ 2 ml de filtrat într-o fiolă de probă de 5 ml. Se depozitează extractele în frigider și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 de ore.

6.1.2. Pregătirea probei cu adaos de standard intern

Într-o eprubetă de sticlă de 100 ml cu dop filetat se cântărește cu precizie de trei zecimale $1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ de probă.

Se pipetează în eprubetă 1,0 ml soluție de acid sulfuric și 40,0 ml amestec etanol/apă. Se adaugă aproximativ 1 g de granule pentru omogenizarea fierberii (5.5) și exact 10,00 ml soluție de standard intern. Se închide eprubeta și se agită puternic până la obținerea unei suspensii omogene. Se agită timp de cel puțin un minut. Se introduce eprubeta pentru cinci minute într-o baie de apă menținută la $60 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol.

Se răcește imediat tubul într-un curent de apă rece și se depozitează extractul în frigider pentru o oră. Se filtrează extractul folosind hârtie de filtru.

Se transferă aproximativ 2 ml de filtrat într-o fiolă de probă de 5 ml (soluție de analizat). Se depozitează în frigider și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 de ore.

6.2. Cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC)

6.2.1. Condiții pentru cromatografie

— Faza mobilă: amestec tetrahidrofuran/apă/metanol/acetonitril (4.17)

— Debit: 1,5 ml/minut

— Lungime de undă a detecției: 280 nm

6.2.2. Etalonare

Se injectează 10 μl din fiecare dintre soluțiile standard de conservant (4.19). Din cromatogramele obținute se determină rapoartele dintre înălțimile vârfurilor pentru soluțiile standard de conservant și înălțimea vârfului pentru standardul intern. Se tratează o curbă pentru fiecare conservant, punând în relație aceste rapoarte cu concentrațiile soluțiilor standard.

6.2.3. Determinare

Se injectează 10 μl soluție de probă fără standard intern (6.1.1) în cromatograf și se înregistrează cromatograma.

Se injectează 10 μl din una dintre soluțiile standard de conservant (4.19) și se înregistrează cromatograma. Se compară cromatogramele obținute.

Dacă în cromatograma extractului probă (6.1.1) nu este prezent nici un vârf având aproximativ același timp de retenție ca cel corespunzător izopropilparabenului (standardul intern recomandat), se continuă prin injectarea a 10 μl soluție de probă cu standard intern (6.1.2). Se înregistrează cromatograma și se măsoară înălțimile vârfurilor.

Dacă se observă un vârf ce interferează în cromatograma soluției probă având aproximativ același timp de retenție ca cel corespunzător izopropilparabenului, trebuie selectat alt standard intern.

Dacă unul dintre conservanții examinați este absent în cromatograma probei, acest conservant poate fi utilizat ca standard intern alternativ.

Se calculează rapoartele dintre înălțimile vârfurilor pentru conservanții investigați și înălțimea vârfului standardului intern.

Se verifică dacă pentru soluțiile standard folosite în procedura de etalonare se obține un răspuns liniar.

Se verifică dacă următoarele cerințe sunt îndeplinite de cromatogramele obținute pentru o soluție standard și soluția de probă:

— Separarea vârfurilor celei mai prost separate perechi trebuie să fie de cel puțin 0,90 (Pentru definiția vârfului de separare, a se vedea figura 1).

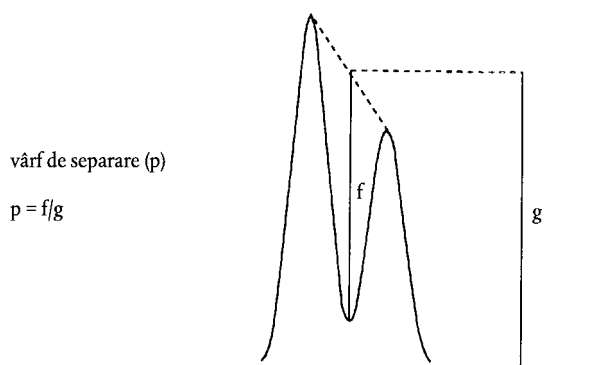


Figura 1: Vârf de separare

Dacă nu se realizează separarea cerută, fie trebuie folosită o coloană mai eficientă, fie trebuie ajustată compoziția fazei mobile până la îndeplinirea cerinței.

- Factorul de asimetrie al tuturor vârfurilor obținute, A_s , trebuie să fie cuprins într-un interval de la 0,9 până la 1,5. (Pentru definiția factorului de asimetrie A_s , a se vedea figura 2). pentru a înregistra cromatograma pentru determinarea factorului de asimetrie se recomandă o viteză a graficului de cel puțin 2 cm/minut.

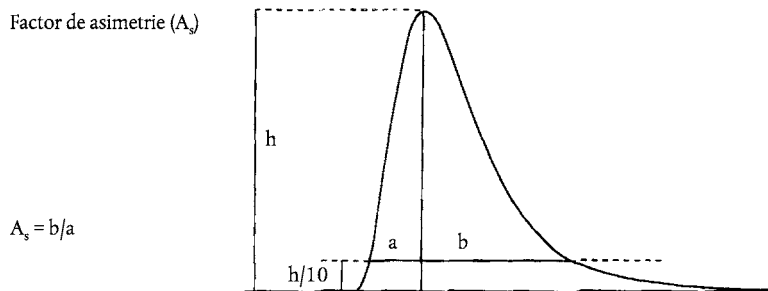


Figura 2: Factor de asimetrie a vârfurilor

- Trebuie să se obțină o linie de bază continuă.

7. Calcul

Pentru a calcula concentrațiile conservanților în soluția de probă se folosesc curba de etalonare (6.2.2) și rapoartele dintre înălțimile vârfurilor corespunzătoare conservanților investigați și înălțimea vârfului corespunzător standardului intern. Se calculează conținutul, w_i , de 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropandiol, 4-hidroxibenzoat de metil, 4-hidroxibenzoat de etil, 4-hidroxibenzoat de propil, 4-hidroxibenzoat de butil și 4-hidroxibenzoat de benzil ca procent masic (% m/m), folosind formula următoare:

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

în care:

b_i = concentrația (μg/ml) conservantului „i” în soluția analizată, citită de pe curba de etalonare și
 a = masa (g) porțiunii analizate.

8. Repetabilitate ⁽¹⁾

A se vedea observațiile de la punctul 10.5.

9. Reproducibilitate ⁽¹⁾

A se vedea observațiile de la punctul 10.5.

10. Observații

10.1. Faza staționară

Comportarea de retenție a substanțelor dizolvate în determinările HPLC este puternic dependentă de tipul, calitatea și istoria fazei staționare. Dacă o coloană poate fi folosită pentru separarea conservanților examinați se poate concluziona din rezultatele obținute pentru soluțiile standard (a se vedea observațiile de la punctul 6.2.3). În plus față de materialul propus pentru umplutura coloanei, s-a descoperit că sunt adecvate și Hypersil ODS și Zorbax ODS.

Alternativ, compoziția fazei mobile recomandate poate fi optimizată în vederea obținerii separării cerute.

10.2. Lungimea de undă a detecției

Un test de robustețe pe metoda descrisă a arătat că o ușoară schimbare în lungimea de undă a detecției poate avea un efect major asupra rezultatelor determinării.

De aceea, acest parametru trebuie controlat cu atenție pe durata analizelor.

⁽¹⁾ ISO 5725.

10.3. Interferențe

În condițiile descrise pentru prezenta metodă, mulți alți compuși, cum ar fi conservanții și aditivii cosmetici, sunt de asemenea eluați. Timpii de retenție ai unui mare număr de conservanți menționați în anexa VI la Directiva Consiliului privind produsele cosmetice sunt enumerați în: N. de Kruijf, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi și A. Schouten, (1989): Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (*J. Chromatography* 469, 317-398).

10.4. Pentru a proteja coloana analitică, se poate folosi o coloană de siguranță adecvată.

10.5. Metoda a fost cercetată într-un test în colaborare la care au participat nouă laboratoare. Au fost analizate trei probe. Următorul tabel conține, pentru fiecare dintre cele trei probe, media în % m/m (m), repetabilitățile (r) și reproductibilitățile (R) descoperite pentru substanțele analizate pe care acestea le conțin:

Probă		2-fenoxi- etanol	1-fenoxi- propandiol	Metilparaben	Etilparaben	Propilparaben	Butilparaben	Benzilparaben
Cremă cu vitamine	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	
Cremă antirid	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Cremă de masaj	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