

31996L0045

L 213/8

URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI

22.8.1996

SEDMA DIREKTIVA KOMISIJE 96/45/ES**z dne 2. julija 1996****o analiznih metodah, ki so potrebne za p****(Besedilo velja za EGP)reverjanje sestave kozmetičnih izdelkov**

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske skupnosti,

ob upoštevanju Direktive Sveta 76/768/EGS z dne 27. julija 1976 o približevanju zakonodaje držav članic v zvezi s kozmetičnimi izdelki ⁽¹⁾, kakor je nazadnje spremenjena z Direktivo Komisije 95/34/ES ⁽²⁾, in zlasti člena 8(1) Direktive,

ker je v Direktivi 76/768/EGS določeno uradno preskušanje kozmetičnih izdelkov, da se zagotovi izpolnitev pogojev o sestavi kozmetičnih izdelkov, predpisanih v določbah Skupnosti;

ker je vse potrebne analitske metode treba čim prej določiti; ker so bile nekatere metode že sprejete z Direktivami Komisije 80/1335/EGS ⁽³⁾, kakor je spremenjena z Direktivo 87/143/EGS ⁽⁴⁾, 82/434/EGS ⁽⁵⁾, kakor je spremenjena z Direktivo 90/207/EGS ⁽⁶⁾, in z direktivami Komisije 83/514/EGS ⁽⁷⁾, 85/490/EGS ⁽⁸⁾, 93/73/EGS ⁽⁹⁾ in 95/32/ES ⁽¹⁰⁾;

ker kvalitativna in kvantitativna analiza 2-fenoksietanola, 1-fenoksiopropan-2-ola, metil, etil, propil, butil in benzil 4-hidroksibenzoata v kozmetičnih izdelkih sestavljata sedmi korak;

ker so ukrepi, predvideni v tej direktivi, v skladu z mnenjem Odbora za prilagajanje Direktive 76/768/EGS tehničnemu napredku,

SPREJELA NASLEDNJO DIREKTIVO:

Člen 1

Države članice sprejmejo vse potrebne ukrepe za zagotovitev, da sta med uradnim preskušanjem kozmetičnih izdelkov kvalitativno in kvantitativno določanje količine 2-fenoksietanola, 1-

fenoksiopropan-2-ola, metil, etil, propil, butil in benzil 4-hidroksibenzoata v kozmetičnih izdelkih opravljena v skladu s postopki, opisanimi v Prilogi.

Člen 2

1. Države članice sprejmejo zakone in druge predpise, potrebne za usklajitev s to direktivo, najpozneje do 30. septembra 1997. O tem takoj obvestijo Komisijo.

2. Države članice se v sprejetih predpisih sklicujejo na to direktivo ali pa sklic nanjo navedejo ob njihovi uradni objavi. Način sklicevanja določijo države članice.

3. Države članice predložijo Komisiji besedila predpisov nacionalne zakonodaje, sprejetih na področju, ki ga ureja ta direktiva.

Člen 3Ta direktiva začne veljati dvajseti dan po objavi v *Uradnem listu Evropskih skupnosti*.**Člen 4**

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

V Bruslju, 2. julija 1996

Za Komisijo

Emma BONINO

Članica Komisije

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

PRILOGA

KVALITATIVNO IN KVANTITATIVNO DOLOČANJE KOLIČINE 2-FENOKSIETANOLA, 1-FENOKSIPROPAN-2-OLA, METIL, ETIL, PROPIL, BUTIL IN BENZIL 4-HIDROKSIBENZOATA V KOZMETIČNIH IZDELKIH**A. KVALITATIVNO DOLOČANJE****1. Namen in področje uporabe**

S to metodo je natančno določen TLC-postopek, ki v kombinaciji z metodo kvantitativnega določanja, ki je opisana v razdelku B, omogoča kvalitativno določanje 2-fenoksietanola, 1-fenoksipropan-2-ola, metil 4-hidroksibenzoata, etil 4-hidroksibenzoata, propil 4-hidroksibenzoata, butil 4-hidroksibenzoata in benzil 4-hidroksibenzoata v kozmetičnih izdelkih.

2. Princip

Konzervansi se ekstrahirajo iz nakisanih kozmetičnih vzorcev z acetonom. Po filtraciji se raztopina acetona zmeša z vodo, maščobne kisline pa se v alkalnem mediju oborijo kot njihove kalcijeve soli. Alkalna mešanica acetona in vode se izloči z dietiletrom, s čimer se odstranijo lipofilne snovi. Po nakisanju se konzervansi izločijo z dietiletrom. Alikvotni del ekstrakta, ki ga dobimo z dietiletrom, se obarva na tankoplastni plošči, ki je obdana s silikagelom. Po razvijanju plošče se dobljeni kromatogram pregleda na UV-svetlobi, viden pa postane z Millonovim reagentom.

3. Reagenti**3.1 Splošno**

Vsi uporabljeni reagenti morajo biti analitske čistote. Voda naj bo destilirana ali pa naj bo vsaj enake čistote.

3.2 Aceton**3.3 Dietileter****3.4 N-pentan****3.5 Metanol****3.6 Led-ocetna kislina,****3.7 Raztopina klorovodikove kisline, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.8 Raztopina kalijevega hidroksida, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$** **3.9 Kalcijev klorid dihidrat ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$)****3.10 Reagent za detekcijo: Millonov reagent**

Millonov reagent (živosrebrov (II) nitrat) je za uporabo pripravljena raztopina, ki je komercialno na razpolago (Fluka 69820).

3.11 2-fenoksietanol**3.12 1-fenoksipropan-2-ol****3.13 Metil 4-hidroksibenzoat (metilparaben)****3.14 Etil 4-hidroksibenzoat (etilparaben)****3.15 N-propil 4-hidroksibenzoat (propilparaben)****3.16 N-butil 4-hidroksibenzoat (butilparaben)****3.17 Benzil 4-hidroksibenzoat (benzilparaben)****3.18 Referenčne raztopine**

V metanolu pripravite 0,1-odstotne (m/V) raztopine vsake izmed referenčnih spojin 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 in 3.17.

3.19 Topilo za razvijanje

Zmešajte 88 prostorninskih enot n-pentana (3.4) z 12 prostorninskimi enotami led-ocetne kisline (3.6).

4. Aparatura

Običajna laboratorijska oprema in:

- 4.1 Vodna kopel, zmožna vzdrževati temperaturo na 60 °C
 - 4.2 Posoda za razvijanje (ni obložena s filtrirnim papirjem)
 - 4.3 Izvor ultravijolične svetlobe, 254 nm
 - 4.4 Tankoplastne plošče, 20 x 20 cm, predhodno prevlečene z 0,25-milimetrsko plastjo silikagela 60 F₂₅₄ s koncentracijskim območjem (Merck št. 11798, Darmstadt ali ekvivalentne)
 - 4.5 Peč, sposobna vzdrževati temperature do 105 °C
 - 4.6 Sušilnik za lase z vročim zrakom
 - 4.7 Volneni valj za barvo, dolg približno 10 cm, z zunanjim premerom približno 3,5 cm. Debelina volnenega sloja naj bi bila od 2 do 3 mm. Če je treba, volno skrajšajte.
- Glejte opombe pod 5.2.
- 4.8 50-mililitrske steklene epruvete s pokrovčkom z navojem
 - 4.9 Električna grelna plošča s termostatom. Nastavitev temperature: približno 80 °C. Vročo ploščo prekritje z aluminijasto ploščo velikosti 20 x 20 cm in debeline približno 6 mm, da bi tako dosegli enakomerno porazdelitev toplote.

5. Postopek

5.1 Priprava vzorca

V 50-mililitrsko stekleno epruveto s pokrovčkom z navojem (4.8) odtehtajte približno 1 g vzorca. Dodajte štiri kapljice raztopine klorovodikove kisline (3.7) in 40 ml acetona.

Pri močno alkalnih kozmetičnih izdelkih, kakršno je na primer toaletno milo, dodajte 20 kapljic raztopine klorovodikove kisline. Epruveto zaprite, mešanico počasi segrevajte na približno 60 °C za lažje ekstrahiranje konzervansov v acetonsko fazo in nato eno minuto močno stresajte.

Z indikatorskim papirjem izmerite pH raztopine in z raztopino klorovodikove kisline naravnajte pH te raztopine na ≤ 3. Spet močno stresajte eno minuto.

Raztopino ohladite na sobno temperaturo in filtrirajte skozi filtrirni papir v erlenmajerico. Prenesite 20 ml filtrata v 200-mililitrsko erlenmajerico, dodajte 60 ml vode in premešajte. S kalijevim hidroksidom (3.8) in ob uporabi indikatorskega papirja naravnajte pH mešanice na približno 10.

Dodajte 1 g kalcijevega klorida dihidrata (3.9) in močno stresajte. Raztopino filtrirajte skozi filtrirni papir v 250-mililitrski ločevalni lij, ki vsebuje 75 ml dietiletra, in močno stresajte eno minuto. Pustite, dokler se fazi ne ločita, in nato vodno fazo zberite v 200-mililitrsko erlenmajerico. Z raztopino klorovodikove kisline in ob uporabi indikatorskega papirja naravnajte pH raztopine na približno 2. Nato dodajte 10 ml dietiletra in močno stresajte eno minuto. Počakajte, da se fazi ločita, in nato prenesite približno 2 ml dietiletrskega sloja v 5-mililitrsko epruveto za vzorce.

5.2 Tankoplastna kromatografija (TLC)

TLC-ploščo (4.4) postavite na segreto aluminijasto ploščo (4.9). Na startno črto na koncentracijskem območju TLC-plošče nanesite 10 µl vsake izmed referenčnih raztopin (3.18) in dodajte 100 µl raztopine vzorca(ev) (5.1).

Če želite, lahko za boljše izhlapevanje topila uporabite tok zraka. TLC-ploščo odstranite z grelne plošče in jo pustite, da se ohladi na sobno temperaturo. 100 ml topila za razvijanje (3.19) prenesite v posodo za razvijanje (4.2).

TLC-ploščo takoj postavite v nenasičeno komoro in jo razvijajte pri sobni temperaturi, dokler se sprednja meja topila ne pomakne za 15 cm od startne črte. Ploščo odstranite iz posode za razvijanje in jo posušite s tokom vročega zraka iz sušilnika za lase.

Ploščo pregledajte na UV-svetlobi (4.3) in označite lise. Ploščo segrevajte 30 minut v peči (4.5) pri 100 °C, da odstranite presežek očetne kisline. Konzervanse naredite v kromatogramu vidne z Millonovim reagentom (3.10), tako da valj za barvo (4.7) pomočite v reagent in ga nato povaljate po TLC-plošči, dokler se ne razporedi enakomerno.

Opomba: lise lahko naredite vidne tudi s pozornim nanašanjem kapljice Millonovega reagenta na vsako izmed lis, ki so vidne na UV-svetlobi.

Estri 4-hidroksibenzojske kisline se pojavijo kot rdeče lise, 2-fenoksietanola in 1-fenoksiprop-2-ola pa kot rumene lise. Upoštevajte, da se sama 4-hidroksibenzojska kislina, ki je lahko v vzorcih navzoča kot konzervans ali produkt razpada parabenov, prav tako pojavi kot rdeča lisa. Glej 7.3 in 7.4.

6. Kvalitativna določitev

Za vsako liso izračunajte R_f-vrednost. Lise, dobljene iz raztopine vzorca, primerjajte z lisami referenčnih raztopin glede na njihove R_f-vrednosti, njihovo vedenje na UV-svetlobi in barvo, ki jo dobijo, ko postanejo vidne. Naredite prve sklepe o navzočnosti konzervansov.

Če so navzoči paraben, bi bilo treba opraviti HPLC-postopek, opisan v razdelku B. Primerjajte rezultate TLC-preiskave in tekočinske kromatografije visoke ločljivosti, da bi tako potrdili navzočnost 2-fenoksietanola, 1-fenoksiprop-2-ola in parabenov.

7. Opombe

- 7.1 Zaradi strupenosti Millonovega reagenta je ta reagent najbolje uporabljati po enem izmed opisanih postopkov. Pršenje ni priporočljivo.
- 7.2 Druge spojine, ki vsebujejo hidroksilne skupine, lahko z Millonovim reagentom prav tako sestavljajo barve. Tabela barv in R_f-vrednosti, ki so bile dobljene s postopkom TLC za številne konzervanse, je v: N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato - Soetardhi in A. Schouten (1987): Določanje količine konzervansov v kozmetičnih izdelkih I: postopek tankoplastne kromatografije pri kvalitativni določitvi konzervansov v kozmetičnih izdelkih (*J. Chromatography* 410, 395–411).
- 7.3 R_f-vrednosti, našteje v naslednji tabeli, rabijo kot indikatorji vrednosti, ki se lahko dobijo:

Spojina	hR _f	Barva
4-hidroksibenzojska kislina	11	Rdeča
Metilparaben	12	Rdeča
Etilparaben	17	Rdeča
Propilparaben	21	Rdeča
Butilparaben	26	Rdeča
Benzilparaben	16	Rdeča
2-fenoksietanol	29	Rumena
1-fenoksiprop-2-ol	50	Rumena

- 7.4 Za 4-hidroksibenzojsko kislino in metilparaben ali benzilparaben in etilparaben se ne dobi ustrezna ločitev. Kvalitativna določitev teh spojin naj bi se potrdila s HPLC-postopkom, ki je opisan v razdelku B, poleg tega pa bi bilo treba primerjati retenzijske čase vzorcev z retenzijskimi časi standardov.

B. KVANTITATIVNO DOLOČANJE

1. Namen in področje uporabe

S to metodo je natančno določen postopek za kvantitativno določanje 2-fenoksietanola, 1-fenoksiprop-2-ola, metil 4-hidroksibenzoata, etil 4-hidroksibenzoata, propil 4-hidroksibenzoata, butil 4-hidroksibenzoata in benzil 4-hidroksibenzoata v kozmetičnih izdelkih.

2. Opredelitev

Količine konzervansov, določene s to metodo, se izrazijo kot masni odstotek.

3. Princip

Vzorec se nakisa z dodajanjem žveplove kisline in nato suspendira v mešanici etanola in vode. Po počasnem segrevanju mešanice do tališča, s čimer se raztopi lipidna faza in tako pospeši kvantitativno izločanje, se mešanica filtrira.

Količina konzervansov v filtratu se določi s HPLC z reverzno fazo ob uporabi izopropil 4-hidroksibenzoata kot internega standarda.

4. Reagenti

4.1 Splošno

Vsi reagenti morajo biti analitske čistote in po možnosti primerni za HPLC. Voda je destilirana ali vsaj enake čistote.

4.2 Etanol, absolutni

4.3 2-fenoksietanol

4.4 1-fenoksiprop-2-ol

- 4.5 Metil 4-hidroksibenzoat (metilparaben)
- 4.6 Etil 4-hidroksibenzoat (etilparaben)
- 4.7 N-propil 4-hidroksibenzoat (propilparaben)
- 4.8 Izopropil 4-hidroksibenzoat (izopropilparaben)
- 4.9 N-butil 4-hidroksibenzoat (butilparaben)
- 4.10 Benzil 4-hidroksibenzoat (benzilparaben)
- 4.11 Tetrahidrofuran
- 4.12 Metanol
- 4.13 Acetonitril
- 4.14 Raztopina žveplove kisline $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$
- 4.15 Mešanica etanola in vode

Zmešajte devet prostorninskih enot etanola (4.2) in eno prostorninsko enoto vode.

- 4.16 Raztopina internega standarda

Natančno odtehtajte približno 0,25 g izopropilparabena (4.8), ga prenesite v 500-mililitrsko merilno bučko, raztopite in do označene prostornine dopolnite z mešanico etanola in vode (4.15).

- 4.17 Mobilna faza: mešanica tetrahidrofurana, vode, metanola in acetonitrila

Zmešajte 5 prostorninskih enot tetrahidrofurana, 60 prostorninskih enot vode, 10 prostorninskih enot metanola in 25 prostorninskih enot acetonitrila.

- 4.18 Osnovna raztopina konzervansov

V 100-mililitrsko merilno bučko natančno odtehtajte približno 0,2 g 2-fenoksietanola, 0,2 g 1-fenoksipropan-2-ola, 0,05 g metilparabena, 0,05 g etilparabena, 0,05 g propilparabena, 0,05 g butilparabena in 0,025 g benzilparabena, jih raztopite in do končne prostornine dolijte mešanico etanola in vode.

Shranjena v hladilniku ostane mešanica stabilna en teden.

- 4.19 Standardne raztopine konzervansov

V 50-mililitrske merilne bučke prenesite v navedenem zaporedju 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml in 1,00 ml iz osnovne raztopine (4.18). Vsaki bučki dodajte 10,00 ml raztopine internega standarda (4.16) in 1,0 ml raztopine žveplove kisline (4.14) ter do končne prostornine dolijte mešanico etanola in vode. Te raztopine naj bi bile sveže pripravljene.

5. Priprave

Običajna laboratorijska oprema in:

- 5.1 Vodna kopel, zmožna vzdrževati temperaturo na $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
- 5.2 Tekočinski kromatograf visoke ločljivosti z UV-detektorjem, valovna dolžina 280 nm.
- 5.3 Analitska kolona:

Nerjavno jeklo, z notranjimi merami $25 \text{ cm} \times 4,6 \text{ mm}$ (ali z notranjimi merami $12,5 \text{ cm} \times 4,6 \text{ mm}$), napolnjeno z nucleosilom 5C18 ali ekvivalentom (glej 10.1).

- 5.4 100-mililitrske steklene epruvete s pokrovčkom z navojem.
- 5.5 Vrelni kamenčki karborund velikosti od 2 do 4 mm ali ekvivalentni.

6. Postopek

- 6.1 Priprava vzorca

- 6.1.1 Priprava vzorca brez dodajanja internega standarda

V 100-mililitrsko stekleno epruveto s pokrovčkom z navojem natančno odtehtajte približno 1,0 g vzorca. S pipeto dodajte 1,0 ml raztopine žveplove kisline (4.14) in 50,0 ml mešanice etanola in vode (4.15). Dodajte približno 1 g vrelnih kamenčkov (5.5), zaprite epruveto in močno stresajte, dokler ne dobite homogene suspenzije. Stresajte vsaj eno minuto. Epruveto za pet minut postavite v vodno kopel (5.1), segreto na $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, za lažjo ekstrakcijo konzervansov v fazo etanola.

Epruveto takoj ohladite pod curkom hladne vode, ekstrakt pa za eno uro shranite v hladilniku. Ekstrakt filtrirajte s filtrirnim papirjem. Približno 2 ml filtrata prenesite v 5-mililitrsko stekleničko za vzorce. Ekstrakte shranite v hladilniku in v 24 urah opravite določanje s HPLC.

6.1.2 Priprava vzorca z dodajanjem internega standarda

Na tri decimalna mesta natančno odtehtajte $1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ vzorca v 100-mililitrsko stekleno epruveto s pokrovčkom z navojem.

V epruveto odpipetirajte 1,0 ml raztopine žveplove kisline ter 40,0 ml mešanice etanola in vode. Dodajte približno 1 g vrelnih kamenčkov (5.5) in natančno 10,00 g raztopine internega standarda. Epruveto zamašite in jo močno stresajte, dokler ne dobite homogene suspenzije. Stresajte vsaj eno minuto. Epruveto postavite za 5 minut v vodno kopel, segreto na $60 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$, da bi tako olajšali ekstrakcijo konzervansov v etanolsko fazo.

Epruveto takoj ohladite pod curkom hladne vode, ekstrakt pa za eno uro shranite v hladilniku. Ekstrakt filtrirajte s filtrirnim papirjem.

Približno 2 ml filtrata prenesite v 5-mililitrsko stekleničko za vzorce. Ekstrakte shranite v hladilniku in v 24 urah opravite določanje s HPLC.

6.2 Tekočinska kromatografija visoke ločljivosti (HPLC)

6.2.1 Pogoji za kromatografijo:

- Mobilna faza: mešanica tetrahidrofurana, vode, metanola, acetonitrila (4.17)
- Hitrost pretoka: 1,5 ml/minuto
- Detekcijska valovna dolžina: 280 nm

6.2.2 Umerjanje

Vbrizgajte 10 μl vsake standardne raztopine konzervansov (4.19). Iz dobljenih kromatogramov določite razmerja med višinami vrhov standardnih raztopin konzervansov in višino vrha internega standarda. Za vsak konzervans narišite krivuljo tako, da dobljena razmerja primerjate s koncentracijami standardnih raztopin.

6.2.3 Kvantitativno določanje

10 μl raztopine vzorca brez internega standarda (6.1.1) vbrizgajte v kromatograf in posnemite kromatogram.

Vbrizgajte 10 μl ene izmed standardnih raztopin konzervansov (4.19) in posnemite kromatogram. Primerjajte dobljene kromatograme.

Če v kromatogramu ekstrakta vzorca (6.1.1) ni vrha, ki bi imel približno enak retenzijski čas kakor izopropilparaben (priporočen interni standard), nadaljujte vbrizgavanje 10 μl raztopine vzorca z internim standardom (6.1.2). Kromatogram posnemite in izmerite višine vrhov.

Če v kromatogramu raztopine vzorca opazite interferenco vrhov zaradi približno enakega retenzijskega časa, kakor ga ima izopropilparaben, potem morate izbrati drugačen interni standard.

Če je eden od konzervansov, ki jih preiskujete, odsoten v kromatogramu vzorca, lahko ta konzervans uporabite kot alternativni interni standard.

Izračunajte razmerja med višinami vrhov preiskovanih konzervansov in višino vrha internega standarda.

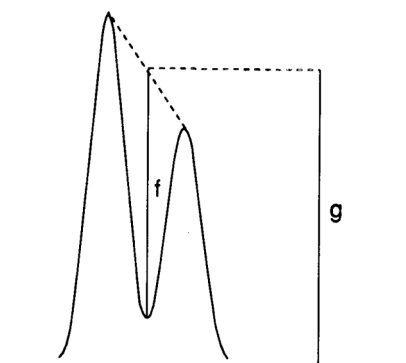
Poglejte, ali za standardne raztopine, uporabljene pri postopku umerjanja, dobite linearen odziv.

Poglejte, ali kromatogrami, dobljeni za standardno raztopino in raztopino vzorca, ustrezajo naslednjim zahtevam:

- ločitev med dvema najslabše ločenima vrhovoma mora biti vsaj 0,90 (pri opredelitvi ločitve vrhov glejte sliko 1).

Ločitev vrhov (p)

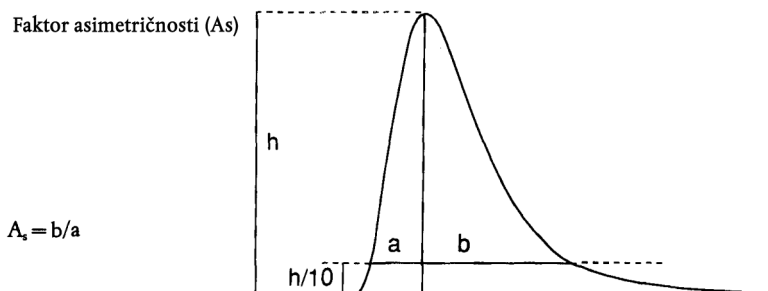
$$p = f/g$$



Slika 1: Ločitev vrhov

Če zahtevana ločitev vrhov ni dosežena, uporabite učinkovitejšo kolono ali prilagodite sestavo mobilne faze, tako da bo ta ustrezala navedenim zahtevam.

- Faktor asimetričnosti A_s vseh dobljenih vrhov krivulje bo od 0,9 do 1,5. (Pri opredelitvi faktorja asimetričnosti vrhov glej sliko 2.) Da bi posneli kromatogram za določanje faktorja asimetričnosti, se priporoča uporaba hitrosti diagrama, ki znaša vsaj 2 cm/minuto.



Slika 2: Faktor asimetričnosti vrhov krivulje

- Tako se dobi enakomerna osnovna črta.

7. Izračun

Uporabite umeritveno krivuljo (6.2.2) in razmerja med višinami vrhov preiskanih konzervansov in višinami vrhov internega standarda, da izračunate koncentracijo konzervansov v raztopini vzorca. Izračunajte količino 2-fenoksietanola, 1-fenolsipropen-2-ola, metil 4-hidroksibenzoata, etil 4-hidroksibenzoata, propil 4-hidroksibenzoata, butil 4-hidroksibenzoata in benzil 4-hidroksibenzoata, w_i , kot masni odstotek (% m/m) po formuli

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

pri čemer je:

b_i = koncentracija ($\mu\text{g/ml}$) konzervansa i v preskusni raztopini, kakršna je bila odčitana z umeritvene krivulje, in

a = masa (g) testnega deleža.

8. Ponovljivost ⁽¹⁾

Glejte opombe, 10.5.

9. Obnovljivost ⁽¹⁾

Glejte opombe, 10.5.

10. Opombe

10.1 Stacionarna faza

Retenzijsko vedenje raztopin pri HPLC-določanjih je močno odvisno od tipa, vrste in preteklosti stacionarne faze. Ali lahko kolono uporabite za ločevanje konzervansov, ki jih preiskujete, lahko ugotovite iz rezultatov, dobljenih za standardne raztopine (glej opombe 6.2.3). Poleg predlaganega materiala za polnitev kolone sta bila ugotovljena za ustrezna tudi hypersil ODS in zorbax ODS.

Poleg tega lahko priporočeno sestavo mobilne faze optimizirate, da dobite zahtevano ločitev.

10.2 Detekcijska valovna dolžina

Grobi test pri opisani metodi je pokazal, da ima lahko majhna sprememba valovne dolžine precejšnje učinke na rezultate določanja.

Zato je treba to spremenljivko med analizo skrbno nadzorovati.

⁽¹⁾ ISO 5725.

10.3 Interference

Po pogojih, ki so bili opisani v tej metodi, se oborijo tudi mnoge druge spojine, kot so konzervansi in kozmetični dodatki. Retenzijski časi velikega števila konzervansov, ki so bili omenjeni v Prilogi VI k direktivi Sveta o kozmetičnih izdelkih, so navedeni v: N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato - Soetardhi in A. Schouten (1989). Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (*J. Chromatography* 469, 317–398.)

10.4 Za projekcijo analitske kolone se lahko uporabi ustrezna varnostna kolona.

10.5. Postopek je bil raziskan v skupnem preskusu, v katerem je sodelovalo devet laboratorijev. Analizirani so bili trije vzorci. V naslednji tabeli so za vsakega izmed treh vzorcev navedeni povprečja v % m/m (m), ponovljivosti (r), obnovljivosti (R), ki so bili odkriti za vsebovane analite:

Vzorec		2-fenoksi-etanol	1-fenoksipropan-2-ol	Metilparaben	Etilparaben	Propilparaben	Butilparaben	Benzilparaben
Vitaminska krema	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	
Čistilna krema	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Krema za masažo	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