

KOMMISSIONENS SYVENDE DIREKTIV 96/45/EF

af 2. juli 1996

om analysemetoderne for kontrol af kosmetiske midlers sammensætning

(Tekst af betydning for EØS)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE
FÆLLESSKABER HAR —under henvisning til traktaten om oprettelse af Det
Europæiske Fællesskab,under henvisning til Rådets direktiv 76/768/EØF af 27.
juli 1976 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes
lovgivning om kosmetiske midler⁽¹⁾, senest ændret ved
Kommissionens direktiv 95/34/EF⁽²⁾, særlig artikel 8, stk.
1, og

ud fra følgende betragtninger:

I direktiv 76/768/EØF foreskrives en officiel kontrol af
kosmetiske midler til konstatering af, om de i fællesskabs-
bestemmelserne fastsatte betingelser vedrørende sammen-
sætningen af kosmetiske midler overholdes;de nødvendige analysemetoder bør fastlægges hurtigst
muligt; en række metoder er allerede blevet vedtaget med
Kommissionens direktiv 80/1335/EØF⁽³⁾, ændret ved
direktiv 87/143/EØF⁽⁴⁾, Kommissionens direktiv 82/434/
EØF⁽⁵⁾, ændret ved direktiv 90/207/EØF⁽⁶⁾, Kommissio-
nens direktiv 83/514/EØF⁽⁷⁾, 85/490/EØF⁽⁸⁾, 93/73/
EØF⁽⁹⁾ og 95/32/EF⁽¹⁰⁾;identifikation og bestemmelse af 2-phenoxyethanol, 1-
phenoxypropan-2-ol samt methyl-, ethyl-, propyl-, butyl-
og benzyl-4-hydroxybenzoat i kosmetiske midler udgør
syvende etape;de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overens-
stemmelse med udtalelse fra Udvalget for Tilpasning af
Direktiv 76/768/EØF til det Tekniske Fremskridt —

HAR UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

*Artikel 1*I forbindelse med den officielle kontrol af kosmetiske
midler træffer medlemsstaterne de fornødne foranstalt-ninger for at sikre, at identifikation og bestemmelse af
2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol samt methyl-,
ethyl-, propyl-, butyl- og benzyl-4-hydroxybenzoat fore-
tages efter de metoder, der er beskrevet i bilaget.*Artikel 2*1. Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og
administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme
dette direktiv senest den 30. september 1997. De under-
retter straks Kommissionen herom.2. Når medlemsstaterne vedtager disse bestemmelser,
henvises der deri til dette direktiv, eller de ledsages ved
offentliggørelsen af en sådan henvisning. De nærmere
regler for denne henvisning fastsættes af medlemsstaterne.3. Medlemsstaterne meddeler Kommissionen teksten
til de nationale retsfor skrifter, som de udsteder på det
område, der er omfattet af dette direktiv.*Artikel 3*Dette direktiv træder i kraft på tyvendedagen efter offent-
liggørelsen i *De Europæiske Fællesskabers Tidende*.*Artikel 4*

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 2. juli 1996.

På Kommissionens vegne

Emma BONINO

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

BILAG

IDENTIFIKATION OG KVANTITATIV BESTEMMELSE AF 2-PHENOXYETHANOL, 1-PHENOXYPROPAN-2-OL SAMT METHYL-, ETHYL-, PROPYL-, BUTYL- OG BENZYL-4-HYDROXYBENZOAT I KOSMETISKE PRODUKTER

A. IDENTIFIKATION

1. Formål og anvendelsesområde

Denne TLC-metode anvendes sammen med den i afsnit B beskrevne HPLC-metode til at identificere 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol samt methyl-4-hydroxybenzoat, ethyl-4-hydroxybenzoat, propyl-4-hydroxybenzoat, butyl-4-hydroxybenzoat og benzyl-4-hydroxybenzoat i kosmetiske produkter.

2. Princip

Konservationsstofferne ekstraheres med acetone af den forsurede prøve af kosmetikproduktet. Efter filtrering blandes acetoneopløsningen med vand, og fedtsyrerne bundfældes i alkalisk miljø som calciumsalte. Den alkaliske acetone/vandblanding ekstraheres med diethylæter for at fjerne lipofile stoffer. Efter forsuring ekstraheres konservationsstofferne med diethylæter. Der påføres en plet af diethylæterekstrakten på en tyndlagsplade belagt med silicagel. Efter udvikling betragtes kromatogrammet under UV-lys og fremkaldes med Millons reagens.

3. Reagenser

3.1. Generelt

Alle reagenser skal være af analysekvalitet. Vand skal være destilleret vand eller vand af mindst tilsvarende renhed.

3.2. Acetone

3.3. Diethylæter

3.4. n-Pentan

3.5. Methanol

3.6. Iseddikesyre

3.7. Saltsyre, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$ 3.8. Kaliumhydroxidopløsning, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$ 3.9. Calciumchlorid (dihydrat) ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.10. Detektionsreagens: Millons reagens

Millons reagens (Hg(II) nitrat) er en opløsning, der fås færdigfremstillet i handelen (Fluka 69820)

3.11. 2-Phenoxyethanol

3.12. 1-Phenoxypropan-2-ol

3.13. Methyl-4-hydroxybenzoat (methylparaben)

3.14. Ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben)

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

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

3.17. Benzyl-4-hydroxybenzoat (benzylparaben)

3.18. Referenceopløsninger

Af hvert af referencestofferne 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 og 3.17 fremstilles en 0,1 % (m/v) opløsning i methanol.

3.19. Mobil fase

Bland n-pentan og iseddikesyre i forhold 88:12 (v/v).

4. Apparatur

Sædvanligt laboratorieudstyr, samt

- 4.1. Termostateret vandbad, 60 °C
- 4.2. TLC-kar (uden filtrerpapirbeklædning)
- 4.3. Ultraviolet lyskilde, 254 nm
- 4.4. Tyndtlagsplader 20 cm × 20 cm, belagt med 0,25 mm silicagel 60 F₂₅₄, med koncentrationszone (Merck nr. 11798, Darmstadt, eller tilsvarende).
- 4.5. Termostatovn med temperaturområde indtil 105 °C
- 4.6. Varmfluthårtørrer.
- 4.7. Malerulle med udlag, længde ca. 10 cm, udv. diameter ca. 3,5 cm. Udlagets tykkelse skal være 2-3 mm. Om nødvendigt trimmes udlaget. (Se bemærkningen under punkt 5.2).
- 4.8. 50 ml reagensglas med skruelåg
- 4.9. Elektrisk termostatvarmeplade. Temperaturindstilling: ca. 80 °C. Varmepladen skal være dækket af en aluminiumplade på 20 × 20 cm af ca. 6 mm tykkelse for at sikre ensartet varmfordeling.

5. Fremgangsmåde

5.1. Prøvetilberedning

Afvej ca. 1 g prøve i et 50 ml reagensglas med skruelåg. Tilsæt 4 dråber saltsyreopløsning (3.7) og 40 ml acetone.

Til stærkt basiske kosmetikprodukter som f.eks. håndsæbe tilsættes 20 dråber saltsyreopløsning. Glasset lukkes, og blandingen opvarmes forsigtigt til ca. 60 °C for at fremme ekstraktion af konserveringsstofferne i acetonefasen, hvorpå det omrystes kraftigt i et minut.

Mål opløsningens pH ved brug af pH-indikatorpapir og indstil pH til ≤ 3 med saltsyreopløsning. Derpå omrystes igen kraftigt i et minut.

Opløsningen afkøles til stuetemperatur og filtreres gennem filtrerpapir ned i en konisk kolbe. 20 ml af filtratet overføres til en 200 ml konisk kolbe, der tilsættes 60 ml vand og blandes. Blandingens pH indstilles til ca. 10 med kaliumhydroxidopløsning (3.8) ved brug af pH-indikatorpapir.

Der tilsættes 1 g calciumchlorid dihydrat (3.9) og omrystes kraftigt. Opløsningen filtreres gennem filtrerpapir over i en 250 ml skilletragt indeholdende 75 ml dietylæter, hvorpå der omrystes kraftigt i 1 minut. Når faserne er adskilt, overføres den vandige fase til en 200 ml konisk kolbe. Opløsningens pH indstilles til ca. 2 med saltsyreopløsning ved brug af pH-indikatorpapir, hvorefter der tilsættes 10 ml dietylæter og omrystes kraftigt i et minut. Når faserne er adskilt, overføres ca. 2 ml af æterfasen til et 5 ml hætteglas.

5.2. Tyndtlagskromatografi

En TLC-plade (4.4) anbringes på den opvarmede aluminiumplade (4.9). Der påsættes 10 µl af hver referenceopløsning (3.18) og 100 µl af prøveopløsning(-erne) (5.1) på startlinjen, der afmærkes i TLC-pladens koncentrationszone.

Om ønsket kan der benyttes lufttørring til at fremskynde fordampningen af opløsningsmidlet. Fjern TLC-pladen fra varmepladen og lad den afkøle til rumtemperatur. Overfør 100 ml af den mobile fase (3.19) til et TLC-kar (4.2). Tyndtlagspladen anbringes straks i det umættede kar og udvikles ved stuetemperatur, indtil væskefronten har bevæget sig ca. 15 cm fra startlinjen. Tag pladen ud af karret og tør den med en varmlufthårtørrer.

Undersøg pladen under UV-lys (4.3), og afmærk pletterne. Anbring pladen i en termostatovn (4.5) ved 100 °C i 30 minutter for at fjerne overskydende eddikesyre. Pletterne af konserveringsstof fremkaldes derpå med Millons reagens (3.10), der påføres tyndtlagspladen ved hjælp af malerulle (4.7), således at pladen fugtes jævnt over det hele.

Bemærkning: Alternativt kan pletterne fremkaldes ved omhyggelig påføring af en dråbe Millons reagens på hver af de under UV-lys afmærkede pletter.

Estre af 4-hydroxybenzoesyre fremtræder som røde pletter, 2-phenoxyethanol og 1-phenoxypropan-2-ol som gule. Bemærk dog, at 4-hydroxybenzoesyren selv, der kan være tilstede i prøverne som konserveringsstof eller som nedbrydningsprodukt af parabenerne, ligeledes vil fremtræde som en rød plet. Se 7.3 og 7.4.

6. Identifikation

R_f -værdien for hver plet beregnes. Pletter fra prøveopløsningen sammenholdes med pletter af referenceopløsningen med hensyn til R_f -værdi, udseende i UV-lys og farve efter fremkaldelse og konserveringsstofferne identificeres foreløbigt. Hvis resultaterne tyder på tilstedeværelse af parabener, udføres den i afsnit B beskrevne HPLC-analyse. Ved sammenholdelse af resultaterne af TLC og HPLC bekræftes tilstedeværelsen af 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol og parabenerne.

7. Bemærkninger

- 7.1. Millons reagens bør som følge af sin giftighed påføres på en af de beskrevne måder. Påsprøjtning kan ikke anbefales.
- 7.2. Andre hydroxyl-forbindelser kan også give farvereaktion med Millons reagens. En tabel over farver og R_f -værdier af en række konserveringsstoffer opnået ved denne TLC-metode kan findes i: N. de Kruijf, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi og 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. R_f -værdierne i følgende tabel kan tjene som vejledning med hensyn til de værdier, der kan forventes:

Forbindelse	hR_f	Farve
4-hydroxybenzoesyre	11	rød
methylparaben	12	rød
ethylparaben	17	rød
propylparaben	21	rød
butylparaben	26	rød
benzylparaben	16	rød
2-phenoxyethanol	29	gul
1-phenoxypropan-2-ol	50	gul

- 7.4. Metoden kan ikke adskille 4-hydroxybenzoesyre fra methylparaben eller benzylparaben fra ethylparaben. Identifikation af disse stoffer skal bekræftes ved udførelse af den i afsnit B beskrevne HPLC-analyse og sammenholdelse af de opnåede retentionstider for henholdsvis prøve og standarder.

B. KVANTITATIV BESTEMMELSE

1. Formål og anvendelsesområde

Denne metode anvendes til kvantitativ bestemmelse af 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol samt methyl-4-hydroxybenzoat, ethyl-4-hydroxybenzoat, propyl-4-hydroxybenzoat, butyl-4-hydroxybenzoat og benzyl-4-hydroxybenzoat i kosmetiske produkter.

2. Definition

Mængden af konserveringsstof, bestemt ved denne metode, udtrykkes i masseprocent.

3. Princip

Prøven gøres sur ved tilsætning af svovlsyre og opslæmmes derefter i en blanding af ethanol og vand. Blandingen opvarmes forsigtigt for at smelte lipidfasen for at opnå kvantitativ ekstraktion, hvorpå den filtreres.

Indholdet af konserveringsstoffer i filtratet bestemmes ved omvendt fase HPLC med anvendelse af isopropyl-4-hydroxybenzoat som intern standard.

4. Reagenser

4.1. Generelt

Alle reagenser skal være af analysekvalitet henholdsvis egnede til HPLC. Vand skal være destilleret vand eller vand af mindst tilsvarende renhed.

4.2. Ethanol, absolut

4.3. 2-Phenoxyethanol

4.4. 1-Phenoxypropan-2-ol

- 4.5. Methyl-4-hydroxybenzoat (methylparaben)
- 4.6. Ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben)
- 4.7. n-Propyl-4-hydroxybenzoat (propylparaben)
- 4.8. Isopropyl-4-hydroxybenzoat (isopropylparaben)
- 4.9. n-Butyl-4-hydroxybenzoat (butylparaben)
- 4.10. Benzyl-4-hydroxybenzoat (benzylparaben)
- 4.11. Tetrahydrofuran
- 4.12. Methanol
- 4.13. Acetonitril
- 4.14. Svovlsyreopløsning, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2\text{ mol/l}$
- 4.15. Ethanol/vandblanding
Bland ethanol (4.2) og vand i forholdet 9:1 (v/v).
- 4.16. Intern standardopløsning
Ca. 0,25 g isopropylparaben (4.8) afvejes nøjagtigt og overføres til en 500 ml målekolbe og opløses i ethanol/vandblanding (4.15). Målekolben fyldes op til mærket med ethanol/vandblanding (4.15).
- 4.17. Mobil fase: tetrahydrofuran/vand/methanol/acetonitril
Bland 5 rumfang tetrahydrofuran med 60 rumfang vand, 10 rumfang methanol og 25 rumfang acetonitril.
- 4.18. Stamopløsning af konserveringsstof
I en 100 ml målekolbe afvejes nøjagtigt ca. 0,2 g 2-phenoxyethanol, 0,2 g 1-phenoxypropan-2-ol, 0,05 g methylparaben, 0,05 g ethylparaben, 0,05 g propylparaben, 0,05 g butylparaben og 0,025 g benzylparaben, som opløses i ethanol/vandblanding, hvorefter kolben fyldes op til stregen dermed.
Opløsningen kan i køleskab holde sig i indtil en uge.
- 4.19. Standardopløsninger af konserveringsstof
Fyld henholdsvis 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml og 1,00 ml af stamopløsningen (4.18) i 50 ml målekolber. Hver kolbe tilsættes 10,00 ml intern standardopløsning (4.16) og 1,0 ml svovlsyreopløsning (4.14), hvorpå der fyldes op til stregen med ethanol/vandblandingen. Disse opløsninger skal være friskfremstillede.
5. **Apparatur**
Sædvanligt laboratorieudstyr, samt:
 - 5.1. Termostateret vandbad, der kan holde $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.
 - 5.2. HPLC-apparat med UV-detektor, bølgelængde 280 nm.
 - 5.3. HPLC-kolonne:
Rustfrit stål, 25 cm \times Ø indv. 4,6 mm (eller 12,5 cm \times Ø indv. 4,6 mm), pakket med Nucleosil 5C18 eller tilsvarende (se 10.1).
 - 5.4. 100 ml reagensglas med skruelåg.
 - 5.5. Kogesten, carborumdumkorn, størrelse 2-4 mm, eller tilsvarende.
6. **Fremgangsmåde**
 - 6.1. Prøvetilberedning
 - 6.1.1. Prøvetilberedning uden tilsætning af intern standard
Afvej ca. 1,0 g prøve i et 100 ml glas med skruelåg. Afpipetter 1,0 ml svovlsyreopløsning (4.14) og 50,0 ml ethanol/vandblanding (4.15) i glasset. Tilsæt ca. 1 g kogesten (5.5), luk glasset og omryst det kraftigt til en homogen suspension dannes. Omryst i mindst et minut. Anbring glasset i vandbad (5.1) i 5 minutter ved $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ for at lette ekstraktion af konserveringsstoffer over i ethanolfasen.
Afkøl straks glasset under rindende koldt vand og lad ekstraktet henstå i køleskab i en time. Filtrer ekstraktet gennem filterpapir. Overfør ca. 2 ml af filtratet til et 5 ml hætteglas. Ekstrakterne opbevares i køleskab, og HPLC-bestemmelsen udføres inden 24 timer.

6.1.2. Prøvetilberedning med tilsætning af intern standard

Afvej 1,0 g \pm 0,1 g prøve med tre decimalers nøjagtighed (a gram) i et 100 ml reagensglas med skruelåg.

Afpipettér 1,0 ml svovlsyreopløsning og 40,0 ml ethanol/vandblanding i glasset. Tilsæt ca. 1 g kogesten og nøjagtig 10,00 ml intern standardopløsning. Luk glasset og omryst det kraftigt, indtil en homogen suspension dannes. Omryst glasset i mindst et minut. Anbring glasset i termostatvandbad 60 °C \pm 1 °C i 5 minutter for at lette ekstraktion af konserveringsstoffer over i ethanol-fasen.

Afkøl straks glasset under rindende koldt vand og lad ekstraktet henstå i køleskab i en time. Derpå filtreres ekstraktet med filterpapir.

Overfør ca. 2 ml af filtratet i et 5 ml hætteglas (prøveopløsning). Ekstraktet opbevares i køleskab, og HPLC-bestemmelse udføres inden 24 timer.

6.2. Højtryksvæskerkromatografi

6.2.1. Kromatografiske parametre

- Mobil fase: tetrahydrofuran/vand/methanol/acetonitril-blanding (4.17).
- Flow af den mobile fase: 1,5 ml/minut.
- Detektorbølgelængde: 280 nm.

6.2.2. Kalibrering

Der injiceres 10 μ l af hver konserveringsstof-standardopløsning (4.19). Af de opnåede kromatogrammer bestemmes forholdet mellem tophøjden for standardopløsninger af konserveringsstofferne og tophøjden for den interne standard. For hvert konserveringsstof optegnes en kurve, der viser sammenhængen mellem tophøjde-forhold og standardopløsningens koncentration.

6.2.3. Kvantitativ bestemmelse

Injicer 10 μ l af prøveopløsningen uden intern standard (6.1.1) i kromatografen, og optag kromatogrammet.

Injicer 10 μ l af en af standardopløsningerne af konserveringsstof (4.19), og optag kromatogrammet. De således optagede kromatogrammer sammenlignes.

Hvis kromatogrammet af prøveekstraktet (6.1.1) ikke indeholder en top med tilnærmelsesvis samme retentionstid som isopropylparaben (den anbefalede interne standard), fortsættes med injektion af 10 μ l prøveopløsning med intern standard (6.1.2). Kromatogrammet optages, og tophøjderne måles.

Hvis kromatogrammet af prøveopløsningen indeholder en interfererende top med tilnærmelsesvis samme retentionstid som isopropylparaben, bør der vælges en anden intern standard.

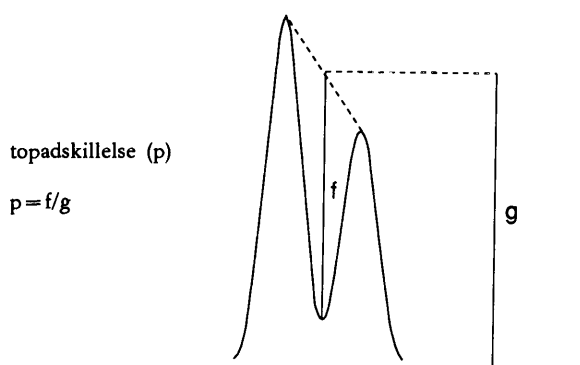
Hvis et af de undersøgte konserveringsstoffer er fraværende i kromatogrammet af prøven, kan dette konserveringsstof bruges som alternativ intern standard.

Beregn forholdet mellem tophøjderne for de undersøgte konserveringsstoffer og tophøjden for den interne standard.

Det sikres at lineær respons opnås for de standardopløsninger, der er anvendt til kalibrering.

Det sikres, at kromatogrammerne for standardopløsning og prøveopløsning opfylder følgende krav:

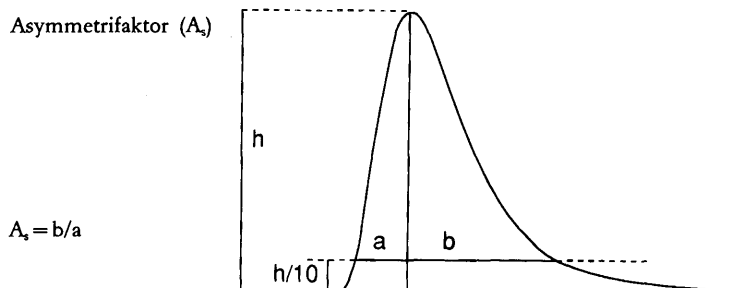
- topadskillelsen for dårligt adskilte par skal være mindst 0,90 (definition af topadskillelse er givet i figur 1).



Figur 1: Topadskillelse

Opnås den krævede topadskillelse ikke, må man enten benytte en mere effektiv kolonne eller korrigere sammensætningen af den mobile fase, således at kravet opfyldes.

- Asymmetrifaktoren A_s for samtlige toppe skal være mellem 0,9 og 1,5. (Asymmetrifaktoren er defineret i figur 2). Til optagning af kromatogrammet til bestemmelse af asymmetrifaktoren anbefales en papirhastighed på mindst 2 cm/min.



Figur 2: Asymmetrifaktor

- grundlinjen skal være stabil.

7. Beregning

Koncentrationerne af konserveringsstoffer i prøven bestemmes ved anvendelse af kalibreringskurver (6.2.2) og af forholdene mellem tophøjden for de undersøgte konserveringsstoffer og tophøjden for den interne standard. Af følgende beregnes koncentrationen, w_i i vægtprocent (% m/m), af 2-phenoxyethanol, 1-phenoxypropan-2-ol samt methyl-4-hydroxybenzoat, ethyl-4-hydroxybenzoat, propyl-4-hydroxybenzoat, butyl-4-hydroxybenzoat og benzyl-4-hydroxybenzoat:

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

hvor:

b_i = koncentrationen ($\mu\text{g/ml}$) af konserveringsstof i prøveopløsningen, aflæst af kalibreringskurven, og

a = prøvens masse (g).

8. Repeterbarhed (1)

Se bemærkningerne i punkt 10.5.

9. Reproducerbarhed (1)

Se bemærkningerne i punkt 10.5.

10. Bemærkninger

10.1. Stationær fase

Retentionsegenskaberne af opløste stoffer i HPLC-bestemmelser er stærkt afhængige af den stationære fases type, mærke og historie. Hvorvidt en given kolonne er anvendelig til adskillelse af de undersøgte konserveringsstoffer, kan afgøres ud fra resultaterne for standardopløsningerne (se bemærkningerne under 6.2.3). Ud over det foreslåede pakningsmateriel til HPLC-kolonnen er også Hypersil ODS og Zorbax ODS fundet egnede.

Som alternativ kan man optimere sammensætningen af den mobile fase med henblik på at opnå den krævede adskillelse.

10.2. Detektionsbølgelængde

En ruggednesstest af den beskrevne metode har vist, at en ringe ændring af detektorbølgelængde kan have væsentlig indvirkning på resultaterne af bestemmelsen.

Denne parameter skal derfor være nøje kontrolleret under analysen.

(1) ISO 5725.

10.3. Interferenser

Under de beskrevne betingelser bliver mange andre stoffer, f.eks. konserveringsstoffer og tilsætningsstoffer, ligeledes elueret. Retentionstid for en lang række af de konserveringsstoffer, der er anført i bilag VI til Rådets direktiv om kosmetiske produkter, er angivet i: N. de Kruijf, A. Schouten, M.A.H. Rijk og L.A. Pranato-Soetardhi (1989): »Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification« (J. Chromatography 469, 317-398).

10.4. Til beskyttelse af HPLC-kolonnen kan en passende forkolonne anvendes.

10.5. Metoden er undersøgt i en ringtest, hvori 9 laboratorier deltog. Der analyseredes tre prøver. I følgende tabel er for hver af de tre prøver angivet gennemsnit i % m/m (m), repeterbarhed (r) og reproducerbarhed (R) for de deri forekommende konserveringsstoffer:

prøve	2-phenoxy-ethanol		1-phenoxy-propan-2-ol	methylparaben	ethylparaben	propylparaben	butylparaben	benzylparaben
	m	r	R					
vitamincreme	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	
dagcreme	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
massagecreme	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