

31995L0032

L 178/20

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

28.7.1995

**KUUES KOMISJONI DIREKTIIV 95/32/EÜ,****7. juuli 1995,****mis käsitleb kosmeetikatoodete koostise kontrolliks vajalikke analüüsimeetodeid****(EMPs kohaldatav tekst)**

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 27. juuli 1976. aasta direktiivi 76/768/EMÜ liikmesriikides kosmeetikatoodete kohta vastuvõetud õigusaktide ühtlustamise kohta, <sup>(1)</sup> viimati muudetud komisjoni direktiiviga 94/32/EÜ, <sup>(2)</sup> eriti selle artikli 8 lõiget 1,

ning arvestades, et:

direktiiviga 76/768/EMÜ on ette nähtud kosmeetikatoodete ametlik katsetamine, et tagada kosmeetikatoodete koostist käsitlevate ühenduse õigusnormidega ettenähtud tingimuste täitmine;

kõik vajalikud analüüsimeetodid tuleks sätestada niipea kui võimalik; teatavad meetodid on juba vastu võetud komisjoni direktiiviga 80/1335/EMÜ <sup>(3)</sup> (muudetud direktiiviga 87/143/EMÜ <sup>(4)</sup>), direktiiviga 82/434/EMÜ <sup>(5)</sup> (muudetud direktiiviga 90/207/EMÜ <sup>(6)</sup>) ning direktiividega 83/514/EMÜ, <sup>(7)</sup> 85/490/EMÜ <sup>(8)</sup> ja 93/73/EMÜ; <sup>(9)</sup>

kuuendaks sammuks on bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbhappe, salitsüülhappe ja propioonhappe identifitseerimine ja määramine kosmeetikatoodetes ning hüdrokiinooni, hüdrokiinoonmonometüüleetri, hüdrokiinoonmonoetüüleetri ja hüdrokiinoonmonobensüüleetri identifitseerimine ja määramine kosmeetikatoodetes;

käesolevas direktiivis sätestatud meetmed on kooskõlas direktiivi 76/768/EMÜ kohandamist tehnika arenguga käsitleva komitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

*Artikkel 1*

Liikmesriigid võtavad kõik vajalikud meetmed tagamaks, et kosmeetikatoodete ametliku katsetamise käigus:

- bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbhappe, salitsüülhappe ja propioonhappe identifitseerimine ja määramine,
  - hüdrokiinooni, hüdrokiinoonmonometüüleetri, hüdrokiinoonmonoetüüleetri ja hüdrokiinoonmonobensüüleetri identifitseerimine ja määramine
- viiakse läbi kooskõlas lisa kirjeldatud meetoditega.

*Artikkel 2*

1. Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi täitmiseks vajalikud õigus- ja haldusnormid hiljemalt 30. septembril 1996. Liikmesriigid teatavad nendest viivitamata komisjonile.

Kui liikmesriigid kõnealused õigusaktid vastu võtavad, lisavad nad nendesse või nende ametliku avaldamise korral nende juurde viite käesolevale direktiivile. Sellise viitamise viisi näevad ette liikmesriigid.

2. Liikmesriigid edastavad komisjonile käesoleva direktiiviga reguleeritavas valdkonnas nende poolt vastu võetud siseriiklike õigusnormide teksti.

*Artikkel 3*

Käesolev direktiiv jõustub 20. päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Ühenduste Teatajas*.

*Artikkel 4*

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 7. juuli 1995

Komisjoni nimel

komisjoni liige

Emma BONINO

<sup>(1)</sup> EÜT L 262, 27.9.1976, lk 169.<sup>(2)</sup> EÜT L 181, 15.7.1994, lk 31.<sup>(3)</sup> EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.<sup>(4)</sup> EÜT L 57, 27.2.1987, lk 56.<sup>(5)</sup> EÜT L 185, 30.6.1982, lk 1.<sup>(6)</sup> EÜT L 108, 28.4.1990, lk 92.<sup>(7)</sup> EÜT L 291, 24.10.1983, lk 9.<sup>(8)</sup> EÜT L 295, 7.11.1985, lk 30.<sup>(9)</sup> EÜT L 231, 14.9.1993, lk 34.

## LISA

## I. BENSOEHAPPE, 4-HÜDROKSÜBENSOEHAPPE, SORBHAPPE, SALITSÜÜLHAPPE JA PROPIOONHAPPE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES

1. **Rakendatavus ja rakendusala**

Meetodit kohaldatakse bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbhappe, salitsüülhappe ja propioonhappe identifitseerimisel ja määramisel kosmeetikatoodes. Eraldi on kirjeldatud kõnealuste säilitusainete identifitseerimise, propioonhappe määramise ning 4-hüdroksübensoehappe, salitsüülhappe, sorbhappe ja bensoehappe määramise meetodeid.

2. **Määratlus**

Käesoleva meetodiga määratud bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, salitsüülhappe, sorbhappe ja propioonhappe sisaldust väljendatakse vabade hapete massiprotsendina.

## A. IDENTIFITSEERIMINE

1. **Põhimõte**

Pärast säilitusainete happelist/aluselist ekstraheerimist analüüsitakse ekstrakti õhekihikromatograafia (ÖKK) abil, kasutades *on-plate* derivatsiooni. Sõltuvalt tulemustest toimub täiendav identifitseerimine kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) või propioonhappe puhul gaasikromatograafia abil.

2. **Reaktiivid**

## 2.1. Üldnõuded

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad. Kasutada tuleb destilleeritud või vähemalt samaväärselt puhtustastmega vett.

## 2.2. Atsetoon

## 2.3. Dietüüleeter

## 2.4. Atsetonitriil

## 2.5. Toluene

## 2.6. n-heksaan

## 2.7. Vedel parafiin

## 2.8. Soolhape, 4 M.

## 2.9. Kaaliumhüdroksiidi vesilahus, 4 M

2.10. Kaltsiumkloriid,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2.11. Liitiumkarbonaat,  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ 

## 2.12. 2-bromo-2'-atsetonaftoon

## 2.13. 4-hüdroksübensoehape

## 2.14. Salitsüülhape

## 2.15. Bensoehape

## 2.16. Sorbhape

## 2.17. Propioonhape

- 2.18. Võrdluslahused
- Valmistatakse kõigi viie säilitusaine (2.13–2.17) 0,1(massi/mahu)protsendilised lahused (100 mg/100 ml) dietüületris.
- 2.19. Derivatiseerimisreaktiiv
- 2-bromo-2'-atsetonaftooni (2.12) 0,5(massi/mahu)protsendiline lahus atsetonitriilis (2.4) (50 mg/10 ml). Kõnealust lahust tuleb valmistada iga nädal uuesti ja säilitada külmikus.
- 2.20. Katalüsaatori lahus
- Liitiumkarbonaadi (2.11) 0,3(massi/mahu)protsendiline vesilahus (300 mg/100 ml). Kõnealune lahus peab olema värskest valmistatud.
- 2.21. Eluent
- Tolueen (2.5)/atsetoon (2.2) (mahuvahekorras 20:0,5).
- 2.22. Vedel parafiin (2.7)/n-heksaan (2.6) (mahuvahekorras 1:2).

### 3. Seadmed

Tavalised laboriseadmed

- 3.1. Veevann, võimalik säilitada temperatuuri 60 °C
- 3.2. Kromatograafiakamber
- 3.3. UV-valgusallikas, lainepikkusega 254 ja 366 nm
- 3.4. ÕKK-plaadid, *Kieselgel 60*, fluorestsentsindikaatorita, 20 × 20 cm, kihi paksus 0,25 mm, kontsentreerimistsoon 2,5 × 20 cm (*Merck 11845* või samaväärne)
- 3.5. Mikrosüstal, 10 µl
- 3.6. Mikrosüstal, 25 µl
- 3.7. Kuivatusahi, võimalik säilitada temperatuuri kuni 105 °C
- 3.8. 50 ml keeratavate korkidega katseklaasid
- 3.9. Filterpaber, läbimõõt 90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband* nr 5892 või samaväärne
- 3.10. Universaalne pH-indikaatorpaber, pH 1–11
- 3.11. 5 ml klaaspudelid
- 3.12. Filter-pöördaurusti (*Rotavapor* või samaväärne)
- 3.13. Kuumutusplaat

### 4. Analüüsi käik

- 4.1. Proovi ettevalmistamine

Ligikaudu 1 g proovi kaalutakse 50 ml keeratava korgiga katseklaasi (3.8). Lisatakse neli tilka 4 M soolhapet (2.8) ja 40 ml atsetooni (2.2). Tugevalt aluseliste toodete, näiteks tualettseebi puhul tuleks lisada 20 tilka 4 M soolhapet (2.8). Kontrollitakse indikaatorpaberiga (3.10), et pH oleks ligikaudu 2. Suletakse katseklaas ja loksutatakse tugevasti üks minut.

Kui on vaja hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist atsetoonifaasiks, kuumutatakse segu kergelt kuni temperatuurini 60 °C, et vedelfaas sulaks.

Lahus jahutatakse toatemperatuurini ja filtreeritakse läbi filterpaberi (3.9) koonilisse kolbi.

20 ml filtraati viiakse 200 ml koonilisse kolbi, lisatakse 20 ml vett ja segatakse. Segu pH viiakse 4 M kaaliumhüdrosiidiga (2.9) umbes 10ni, kasutades pH mõõtmiseks indikaatorpaberit (3.10).

Lisatakse 1 g kaltsiumkloriidi (2.10) ja loksutatakse tugevasti. Filtreeritakse läbi filterpaberi (3.9) 25 ml jaotuslehtrisse, milles on 75 ml dietüületrit (2.3) ja loksutatakse tugevasti üks minut. Lastakse kihistuda ja valatakse veekiht 250 ml koonilisse kolbi. Eetrikiht visatakse ära. Indikaatorpaberiga (3.10) viiakse vesilahuse pH 4 M soolhappega (2.8) umbes kaheni. Lisatakse 10 ml dietüületrit (2.3), suletakse kolb ja loksutatakse tugevasti üks minut. Lastakse kihistuda ja viiakse eetrikiht filter-pöördaurustusse (3.12). Veekiht visatakse ära.

Eetrikiht aurutatakse peaaegu kuivaks ja jääk lahustatakse uuesti 1 ml dietüületris (2.3). Lahus viiakse klaaspudelisse (3.11).

#### 4.2. Õhekihikromatograafia

Iga kromatografeeritava võrdluslahuse ja proovi kohta kantakse ligikaudu 3 µl liitiumkarbonaadi lahust (2.20) süstlaga (3.5) võrdsete vahedega ÕKK-plaadi (3.4) kontsentratsioonitsooni stardijoonele ja kuivatatakse külma õhu joaga.

ÕKK-plaat pannakse temperatuurini 40 °C soojendatud kuumutusplaadile (3.13), et hoida laigud võimalikult väiksed. Mikrosüstlaga (3.5) kantakse 10 µl kõiki võrdluslahuseid (2.18) ja proovilahust (4.1) plaadi stardijoonele täpselt samadele kohtadele, kuhu on kantud liitiumkarbonaadi lahust.

Lõpuks kantakse ligikaudu 15 µl derivatiseerimisreaktiivi (2.19) (2-bromo-2'-atsetonaftooni lahus) samuti täpselt nendele kohtadele, kuhu on kantud võrdlus- ja proovilahuseid ning liitiumkarbonaadi lahust.

ÕKK-plaati kuumutatakse kuivatusahjus (3.7) temperatuuril 80 °C 45 minutit. Pärast jahutamist elueeritakse kromatograafiakambris (3.2), mida on tasakaalustatud 15 minutit (ilma filterpabervooderdiseta), kasutades punktis 2.21 nimetatud eluenti (tolueen/atsetoon), kuni lahusti piir on tõusnud 15 cm kõrgusele (selleks võib kuluda ligikaudu 80 minutit).

Plaat kuivatatakse külma õhu joas ja tekkinud laike vaadeldakse UV-valguses (3.3). Nõrkade laikude fluorestskeerumise suurendamiseks võib ÕKK-plaadi kasta vedela parafiini ja n-hektaani segusse (2.22).

### 5. Identifitseerimine

Arvutatakse iga laigu R<sub>f</sub>.

Võrreldakse proovi ja võrdluslahuste puhul saadud R<sub>f</sub> väärtusi ning nende laikude käitumist UV-valguses.

Tehakse esialgne järeldus selle kohta, missuguseid säilitusaineid toode sisaldab. Tehakse B osas kirjeldatud vedelikkromatograafiline analüüs või kui ilmneb propioonhappe olemasolu, siis tehakse C osas kirjeldatud gaasikromatograafiline analüüs. Saadud retentsiooniaegu võrreldakse võrdluslahuste retentsiooniaegadega.

Ühendatakse õhekihikromatograferimise, kõrgfektiivse vedelikkromatograferimise ja gaasikromatograferimise tulemused ning koondtulemuste põhjal identifitseeritakse lõplikult proovis sisalduvad säilitusained.

#### B. BENSOEHAPPE, 4-HÜDROKSÜBENSOEHAPPE, SORBHAPPE JA SALITSÜÜLHAPPE MÄÄRAMINE

##### 1. Põhimõte

Pärast hapestamist ekstraheeritakse proovi etanooli ja vee seguga. Pärast filtreerimist määratakse säilitusained kõrgfektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil.

##### 2. Reaktiivid

- 2.1. Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajaduse korral sobivad kõrgfektiivse vedelikkromatograafia jaoks. Kasutada tuleb destilleeritud või vähemalt samaväärselt puhtusastmega vett.
- 2.2. Absoluutne etanool
- 2.3. 4-hüdrosübensoehape

- 2.4. Salitsüülhape
  - 2.5. Bensoehape
  - 2.6. Sorbhape
  - 2.7. Naatriumatsetaat,  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
  - 2.8. Äädikhape ( $\alpha_4^{20} = 1,05 \text{ g/ml}$ )
  - 2.9. Atsetonitriil
  - 2.10. Väävelhape, 2 M
  - 2.11. Kaaliumhüdrosiidi vesilahus, 0,2 M
  - 2.12. 2-metoksübensoehape
  - 2.13. Etanooli ja vee segu  
Segatakse üheksa mahuosa etanooli (2.2) ja üks mahuosa vett (2:1).
  - 2.14. Sisestandardi lahus  
Valmistatakse lahus, mis sisaldab ligikaudu 1 g 2-metoksübensoehapet (2.12) 500 milliliitris etanooli ja vee segus (2.13).
  - 2.15. HPLC liikuv faas
  - 2.15.1. Atsetaatpuhver: ühele liitrile veele lisatakse 6,35 g naatriumatsetaati (2.7) ja 20,0 ml äädikhapet (2.8) ning segatakse.
  - 2.15.2. Valmistatakse liikuv faas, segades üheksa mahuosa atsetaatpuhvrit (2.15.1) ja üks mahuosa atsetonitriili (2.9).
  - 2.16. Säilitusaine põhilahus  
50 ml mõõtekolbi kaalutakse hoolikalt ligikaudu 0,05 g 4-hüdrosübensoehapet (2.3), 0,2 g salitsüülhapet (2.4), 0,2 g bensoehapet (2.5) ja 0,05 g sorbhapet (2.6) ning täiendatakse määrgini etanooli ja vee seguga (2.13). Kõnealust lahust säilitatakse külmikus. Lahus säilib üks nädal.
  - 2.17. Säilitusainete standardlahused  
20-ml mõõtekolbidesse viiakse vastavalt 8,00 ml, 4,00 ml, 2,00 ml, 1,00 ml ja 0,50 ml põhilahust (2.16). Igasse kolbi lisatakse 10,00 ml sisestandardi lahust (2.14) ja 0,5 ml 2 M väävelhapet (2.10). Täiendatakse määrgini etanooli ja vee seguga (2.13). Kõnealused lahused peavad olema värskest valmistatud.
3. **Seadmed**
- Mujal määratlemata tavapärased laboriseadmed ja järgmised seadmed:
- 3.1. Veevann, reguleeritud temperatuurile 60 °C
  - 3.2. Kõrgefektiivne vedelikukromatograaf muudetava lainepikkusega UV-detektoriga ja 10 µl sissesüstimissilmusega.
  - 3.3. Analüütiline kolonn  
Roostevabast terasest, pikkus 12,5–25 cm, siseläbimõõt 4,6 mm, täidiseks *Nucleosil 5C18* või samaväärne.
  - 3.4. Filterpaber, läbimõõt 90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband* nr 5892 või samaväärne
  - 3.5. 50 ml keeratavate korkidega katseklaasid

- 3.6. 5 ml klaaspudelid
- 3.7. Karborundist keedukivikesed, suurusega 2–4 mm või samaväärsed

#### 4. Analüüsi käik

- 4.1. Proovi ettevalmistamine
- 4.1.1. Proovi ettevalmistamine ilma sisestandardit lisamata

1 g proovi kaalutakse 50 ml keeratava korgiga katseklaasi (3.5). Katseklaasi pipeteeritakse 1,00 ml 2 M väävelhapet (2.10) ning 40,0 ml etanooli ja vee segu (2.13). Lisatakse ligikaudu 1 g keedukivikesi (3.7), suletakse katseklaas ja loksutatakse tugevasti vähemalt üks minut, kuni saadakse homogeenne suspensioon. Et hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist etanoolifaasiks, asetatakse katseklaas täpselt viieks minutiks veevanni (3.1) temperatuurile 60 °C.

Katseklaas jahutatakse kohe jooksvas külmas vees ja ekstrakti hoitakse üks tund temperatuuril 5 °C.

Ekstrakt filtreeritakse läbi filterpaberi (3.4). Ligikaudu 2 ml ekstrakti viiakse klaaspudelisse (3.6). Ekstrakti säilitatakse temperatuuril 5 °C ja kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline määramine viiakse läbi 24 tunni jooksul pärast valmistamist.

- 4.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardit lisades

Kolme kümnendkoha täpsusega kaalutakse  $1 \pm 0,1$  g (a grammi) proovi 50 ml keeratava korgiga katseklaasi (3.5). Pipeteerides lisatakse 1,00 ml 2 M väävelhapet (2.10) ning 30,0 ml etanooli ja vee segu (2.13). Lisatakse ligikaudu 1 g keedukivikesi (3.7) ja 10,00 ml sisestandardi lahust (2.14). Katseklaas suletakse ja loksutatakse tugevasti vähemalt üks minut, kuni saadakse homogeenne suspensioon. Et hõlbustada säilitusainete ekstraheerimist etanoolifaasiks, asetatakse katseklaas täpselt viieks minutiks veevanni (3.1) temperatuurile 60 °C.

Katseklaas jahutatakse kohe jooksvas külmas vees ja ekstrakti hoitakse üks tund temperatuuril 5 °C.

Ekstrakt filtreeritakse läbi filterpaberi (3.4). Ligikaudu 2 ml filtraati viiakse klaaspudelisse (3.6). Filtraati säilitatakse temperatuuril 5 °C ja kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline määramine viiakse läbi 24 tunni jooksul pärast valmistamist.

- 4.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

Liikuv faas: atsetonitril/atsetaathapet (2.15)

Liikuva faasi voolukiiruseks kolonnis reguleeritakse  $2,0 \pm 0,5$  ml/min. Detektor reguleeritakse lainepikkusele 240 nm.

- 4.2.1. Kalibreerimine

Vedelikkromatograafi (3.2) süstitakse 10 µl kõiki säilitusainete standardlahuseid (2.17). Iga lahuse kohta määratakse kromatogrammi järgi uuritavate säilitusainete piikide kõrguste ja sisestandardi piigi kõrguse suhe. Iga säilitusaine kohta joonestatakse graafik piikide kõrguste suhte ja iga standardlahuse kontsentratsiooni alusel.

Veendutakse, et standardlahuste kohta saadud kalibreerimistulemus on lineaarne.

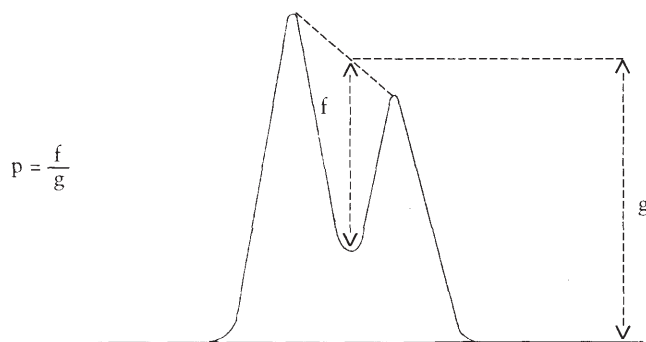
- 4.2.2. Määramine

Vedelikkromatograafi (3.2) süstitakse 10 µl prooviekstrakti (4.1.1) ja registreeritakse kromatogramm. Süstitakse 10 µl säilitusainete standardlahust (2.17) ja registreeritakse kromatogramm. Võrreldakse saadud kromatogramme. Kui prooviekstrakti (4.1.1) kromatogrammil ei ole piike, mille retentsiooniaeg oleks ligilähedane 2-metoksübensoehappe (soovitatud sisestandard) retentsiooniajale, süstitakse vedelikkromatograafi 10 µl prooviekstrakti, millele on lisatud sisestandardit (4.1.2) ning registreeritakse kromatogramm.

Kui prooviekstrakti (4.1.1) kromatogrammil täheldatakse segavat piiki, mille retentsiooniaeg on analoogne 2-metoksübensoehappe retentsiooniajaga, tuleks valida mõni muu sobiv sisestandard. Kui kromatogrammit puudub mõni uuritav säilitusaine, võib sisestandardina kasutada kõnealust ainet.

Veendutakse, kas standardlahuse ja proovilahuse kohta saadud kromatogrammid vastavad järgmistele nõuetele:

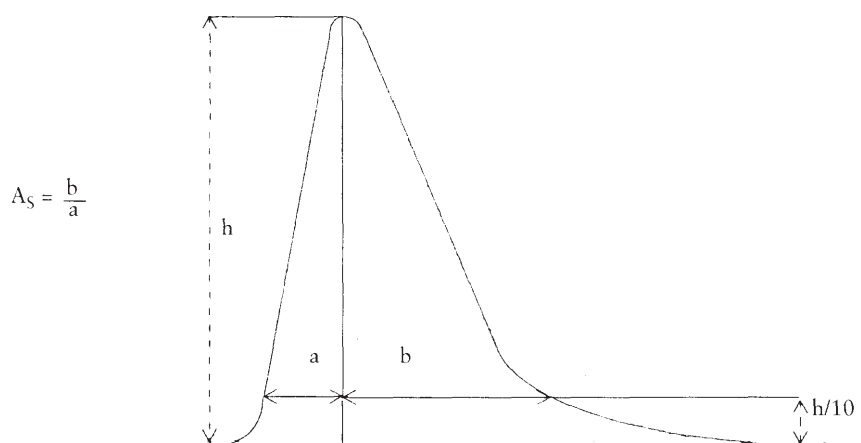
- piikide eraldatus ei tohi kõige halvemini eraldatud paari puhul olla väiksem kui 0,90. (Piikide eraldatus on määratletud joonisel 1).



Joonis 1: Piikide eraldatus

Kui vajalik eraldatus puudub, tuleks kas kasutada tõhusamat kolonni või reguleerida liikuva faasi koostist, kuni nõue on täidetud.

- Kõikide piikide asümmeetriategur  $A_s$  peaks jääma vahemikku 0,9–1,5. (Piikide asümmeetriategur on määratletud joonisel 2). Kromatogrammi registreerimisel asümmeetriateguri määramiseks on isekirjuti lindi soovitatav liikumiskiirus vähemalt 2 cm/min.



Joonis 2: Piikide asümmeetriategur

- Lähtejoon peab olema püsiv.

## 5. Arvutamine

Proovilahuse happeliste säilitusainete sisalduse arvutamiseks kasutatakse uuritavate säilitusainete piikide kõrguste ja 2-metoksübensoehappe piigi kõrguse suhet ning kalibreerimisgraafikut. Proovi bensoehappe-, 4-hüdroksübensoehappe-, sorbhappe- või salitsüülhappesisaldus massiprotsentides ( $x_i$ ) arvutatakse järgmise valemi alusel:

$$x_i \% (\text{m/m}) = \frac{100 \cdot 20 \cdot b}{10^6 \cdot a} = \frac{b}{500 \cdot a}$$

kus:

a = katsekoguse (4.1.2) mass grammides,

b = säilitusaine sisaldus ( $\mu\text{g/ml}$ ) prooviekstraktis (4.1.2) vastavalt kalibreerimisgraafikule.

**6. Korratavus<sup>(1)</sup>**

Kui 4-hüdroksübensoehappe sisaldus on 0,40 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,035 %.

Kui bensoehappe sisaldus on 0,50 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,050 %.

Kui salitsüülhappe sisaldus on 0,50 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,045 %.

Kui sorbhappe sisaldus on 0,60 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,035 %.

**7. Märkused**

7.1. Meetodi suhtes läbiviidud püsivustesti tulemused on näidanud, et proovist hapete ekstraheerimiseks lisatud väävelhappe kogus on oluline ja et töödeldava proovi koguse puhul tuleks järgida ettenähtud piirnorme.

7.2. Soovi korral võib kasutada sobivat eelkolonni.

**C. PROPIOONHAPPE MÄÄRAMINE****1. Rakendatavus ja rakendusala**

Käesolev meetod sobib maksimaalselt 2massiprotsendilise propioonhappesisalduse määramiseks kosmeetika-toodetes.

**2. Määratlus**

Käesoleva meetodiga mõõdetud propioonhappesisaldust tootes väljendatakse massiprotsendina.

**3. Põhimõte**

Pärast propioonhappe ekstraheerimist tootest määratakse see gaasikromatograafiliselt, kasutades sisestandardina 2-metüülpropioonhapet.

**4. Reaktiivid**

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad; kasutama peab destilleeritud või samaväärselt puhtusastmega vett.

4.1. Etanool, 96mahuprotsendiline

4.2. Propioonhape

4.3. 2-metüülpropioonhape

4.4. Ortofosforhape, 10(massi/mahu)protsendiline

4.5. Propioonhappe lahus

50 ml mõõtekolbi kaalutakse ligikaudu 1,00 g (p grammi) propioonhapet ja kolb täidetakse määrgini etanooliga (4.1).

4.6. Sisestandardi lahus

50 ml mõõtekolbi kaalutakse ligikaudu 1,00 g (e grammi) 2-metüülpropioonhapet ja kolb täidetakse määrgini etanooliga (4.1).

<sup>(1)</sup> Standard ISO 5725.



5. **Seadmed**

- 5.1. Tavalised laboriseadmed
- 5.2. Leekionisatsioonidetektoriga gaasikromatograaf
- 5.3. Keeratava korgiga katseklaas (20 × 150 mm)
- 5.4. Veevann, temperatuuril 60 °C
- 5.5. 10 ml klaasüstal membraanfiltriga (pooride läbimõõt: 0,45 µm).

6. **Analüüsi käik**

- 6.1. Proovi ettevalmistamine
- 6.1.1. Proovi ettevalmistamine sisestandardit lisamata

Katseklaasi (5.3) kaalutakse ligikaudu 1 g proovi. Lisatakse 0,5 ml fosforhapet (4.4) ja 9,5 ml etanooli (4.1).

Katseklaas suletakse ja loksutatakse tugevasti. Vajaduse korral pannakse katseklaas viieks minutiks temperatuurini 60 °C kuumutatud veevanni (5.4), et lipiidfaas lahustuks täielikult. Jahutatakse kiiresti voolava vee all. Osa lahusest filtreeritakse läbi membraanfiltriga (5.5). Filtraat kromatografeeritakse samal päeval.

- 6.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardit lisades

Kolme kümnendkoha täpsusega kaalutakse  $1 \pm 0,1$  g (a grammi) proovi katseklaasi (5.3). Lisatakse 0,5 ml fosforhapet (4.4), 0,50 ml sisestandardi lahust (4.6) ja 9 ml etanooli (4.1).

Katseklaas suletakse ja loksutatakse tugevasti. Vajaduse korral pannakse katseklaas viieks minutiks temperatuurile 60 °C kuumutatud veevanni (5.4), et lipiidfaas lahustuks. Jahutatakse kiiresti voolava vee all. Osa lahusest filtreeritakse läbi membraanfiltriga (5.5). Filtraat kromatografeeritakse samal päeval.

- 6.2. Gaasikromatograafia tingimused

Soovitatakse järgmisi töötingimusi:

**Kolonn**

Tüüp	Roostevabast terasest
Pikkus	2 m
Läbimõõt	1/8"
Kolonnitäidis	10 % SP <sup>TM</sup> 1000 (või samaväärne) + 1 % H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> Chromosorb WAW'l 100–120 mešši

**Temperatuur**

Aurusti	200 °C
Kolonn	120 °C
Detektor	200 °C
Kandegaas	Lämmastik
Voolukiirus	25 ml/min

- 6.3. Kromatograafia

- 6.3.1. Kalibreerimine

20-ml mõõtekolbidesse pipeteeritakse vastavalt 0,25 ml, 0,50 ml, 1,00 ml, 2,00 ml ja 4,00 ml propioonhappe lahust (4.5). Igasse mõõtekolbi pipeteeritakse 1,00 ml sisestandardi lahust (4.6); täiendatakse etanooliga (4.1) märgini ja segatakse. Sel viisil valmistatud lahused sisaldavad sisestandardina e mg/ml 2-metüülpropioonhapet (kui e = 1000, siis 1 mg/ml) ning p/4, p/2, p, 2p ja 4p mg/ml propioonhapet (kui p = 1000, siis 0,25 mg/ml, 0,50 mg/ml, 1,00 mg/ml, 2,00 mg/ml ja 4,00 mg/ml).

Süstitakse 1 µl kõnealuseid lahuseid ja joonestatakse kalibreerimiskõver, kandes x-teljele propioonhappe ja 2-metüülpropioonhappe masside suhte ning y-teljele vastavate piikide pindalade suhte.

Kõiki lahuseid süstitakse kolm korda ja arvutatakse keskmine piikide pindalade suhe.

#### 6.3.2. Määramine

Süstitakse 1 µl proovi filtraati (6.1.1). Kromatogrammi võrreldakse standardlahuste (6.3.1) kromatogrammiga. Kui piigi retentsiooniaeg on ligilähedane 2-metüülpropioonhappe retentsiooniajaga, vahetatakse sisestandardit. Kui segavaid tegureid ei täheldata, süstitakse 1 µl proovi filtraati (6.1.2) ning mõõdetakse propioonhappe ja sisestandardi piikide pindalad.

Kõiki lahuseid süstitakse kolm korda ja arvutatakse keskmine piikide pindalade suhe.

### 7. Arvutamine

7.1. Punkti 6.3.1 kohaselt saadud kalibreerimiskõveralt saadakse masside suhe (K), mis vastab punkti 6.3.2 kohaselt arvutatud piikide pindalade suhtele.

7.2. Sel viisil saadud masside suhte alusel arvutatakse proovi propioonhappesisaldus (X) massiprotsentides järgmise valemi abil:

$$x \% (m/m) = K \frac{0,5 \cdot 100 \cdot e}{50 \cdot a} = K \frac{e}{a}$$

kus:

K = punkti 7.1 kohaselt arvutatud suhe,

e = punktis 4.6 kasutatud sisestandardi mass grammides,

a = punktis 6.1.2 kasutatud proovi mass grammides.

Tulemused ümardatakse esimese kümnendkohani.

### 8. Korratavus<sup>(1)</sup>

Kui propioonhappesisaldus on 2 massiprotsenti, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,12 %.

## II. HÜDROKINOONI, HÜDROKINOONMONOMETÜÜLEETRI, HÜDROKINOONMONOETÜÜLEETRI JA HÜDROKINOONMONOBENSÜÜLEETRI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES

### A. IDENTIFITSEERIMINE

#### 1. Rakendatavus ja rakendusala

Meetod kirjeldab hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüüleetri, hüdrokinoonmonoetüüleetri ja hüdrokinoonmonobensüüleetri (monobensoon) kindlaksmääramist ja identifitseerimist naha pleegitamiseks ettenähtud kosmeetikatoodetes.

#### 2. Põhimõte

Hüdrokinoon ja selle eetrid identifitseeritakse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.

#### 3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

<sup>(1)</sup> Standard ISO 5725.

- 3.1. Etanool, 96mahuprotsendiline
- 3.2. Kloroform
- 3.3. Dietüüleeter
- 3.4. Eluent:  
kloroform/dietüüleeter (mahuvahekorras 66:33)
- 3.5. Ammoniaak, 25massiprotsendiline ( $d_4^{20} = 0,91$  g/ml)
- 3.6. Askorbiinhape
- 3.7. Hüdrokinoon
- 3.8. Hüdrokinoonmonometüüleeter
- 3.9. Hüdrokinoonmonoetüüleeter
- 3.10. Hüdrokinoonmonobensüüleeter (monobensoon)
- 3.11. Võrdluslahused  
Järgmised võrdluslahused peavad olema värskest valmistatud ja säilivad muutumatuna ühe päeva.
  - 3.11.1. 0,05 g hüdrokinooni (3.7) kaalutakse 10 ml büretti. Lisatakse 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisatakse ammoniaaki (3.5), kuni pH on 10 ja täiendatakse etanooliga (3.1) 10 milliliitri.
  - 3.11.2. 0,05 g hüdrokinoonmonometüületrit (3.8) kaalutakse 10 ml büretti. Lisatakse 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisatakse ammoniaaki (3.5), kuni pH on 10 ja täiendatakse etanooliga (3.1) 10 milliliitri.
  - 3.11.3. 0,05 g hüdrokinoonmonoetüületrit (3.9) kaalutakse 10 ml büretti. Lisatakse 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisatakse ammoniaaki (3.5), kuni pH on 10 ja täiendatakse etanooliga (3.1) 10 milliliitri.
  - 3.11.4. 0,05 g hüdrokinoonmonobensüületrit (3.10) kaalutakse 10 ml büretti. Lisatakse 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisatakse ammoniaaki (3.5), kuni pH on 10 ja täiendatakse etanooliga (3.1) 10 milliliitri.
- 3.12. Höbenitraat
- 3.13. 12-molübdofosforhape
- 3.14. Kaaliumraud(III)tsüaniidheksahüdraat
- 3.15. Raud(III)kloriidheksahüdraat
- 3.16. Ilmutamisreaktiivid
  - 3.16.1. 5(massi/mahu)protsendilisele höbenitraadi vesilahusele (3.12) lisatakse ammoniaaki (3.5), kuni moodustunud sade lahustub.  
*Hoiatus:*  
lahus muutub seistes plahvatusohtlikuks ja tuleb pärast kasutamist ära visata.
  - 3.16.2. 12-molübdofosforhappe (3.13) 10-massi/mahu% lahus etanoolis (3.1).

- 3.16.3. Valmistatakse kaalium(III)raudtsüaniidi (3.14) (3.14) 1(massi/mahu)protsendiline vesilahus ja raud(III)kloriidi (3.15) 2(massi/mahu)protsendiline vesilahus. Lahused segatakse võrdses koguses vahetult enne kasutamist.

#### 4. Seadmed

Tavalised laboriseadmed ja

- 4.1. Tavalised ÕKK-seadmed
- 4.2. ÕKK-plaadid, kasutusvalmis: silikageel GHR/UV<sub>254</sub>; 20 × 20 cm (Machery, Nagel või samaväärsed). Kihi paksus 0,25 mm.
- 4.3. Ultrahelivann
- 4.4. Tsentrifuug
- 4.5. UV-lamp, 254 nm

#### 5. Analüüsi käik

- 5.1. Proovi ettevalmistamine

3,0 g proovi kaalutakse 10 ml büretti. Lisatakse 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lahuse pH viiakse ammoniaagiga (3.5) 10ni. Täiendatakse etanooliga (3.1) 10 milliliitri. Bürett suletakse korgiga ja homogeniseeritakse ultrahelivannis 10 minutit. Filtreeritakse läbi filterpaberi või tsentrifuugitakse kiirusel 3 000 pööret minutis.

- 5.2. ÕKK

- 5.2.1. Kromatograafiakamber küllastatakse eluendiga (3.4).

- 5.2.2. Plaadile kantakse 2 µl võrdluslahuseid (3.11) ja 2 µl proovilahust (5.1). Elueeritakse pimedas toatemperatuuril, kuni lahusti piir on tõusnud lähtejoonest 15 cm kõrgusele.

- 5.2.3. Plaat võetakse kambrist välja ja lastakse kuivada toatemperatuuril.

- 5.3. Määramine

- 5.3.1. Plaati vaadeldakse UV-valguses lainepikkusel 254 nm ja tähistatakse laikude asukoht.

- 5.3.2. Plaadile pihustatakse:

- hõbenitraadi reaktiivi (3.16.1) või
- 12-molübdofosforhappe reaktiivi (3.16.2); kuumatatakse temperatuurini umbes 120 °C, või
- kaaliumraud(III)tsüaniidi lahust ja raud(III)kloriidi lahust (3.16.3).

#### 6. Identifitseerimine

Arvutatakse iga laigu R<sub>f</sub> väärtus.

Võrreldakse proovilahuse ja võrdluslahuste kohta saadud laike, võttes arvesse järgmisi asjaolusid: R<sub>f</sub> väärtused, laikude värvus UV-valguses ning laikude värvus pärast ilmutamisreaktiiviga ilmutamist.

Tehakse järgmises osas (B) kirjeldatud kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline (HPLC) analüüs ning võrreldakse proovilahuse ja võrdluslahuste piikide retentsiooniaegu.

Hüdrokiinoni ja/või selle eetrite olemasolu identifitseerimiseks ühendatakse ÕKK ja HPLC analüüsi tulemused.

#### 7. Märkused

Kirjeldatud tingimustel on saadud järgmised R<sub>f</sub> väärtused:

hüdrokinoon:	0,32
hüdrokinoonmonometüüleeter:	0,53
hüdrokinoonmonoetüüleeter:	0,55
hüdrokinoonmonobensüüleeter:	0,58

## B. MÄÄRAMINE

### 1. Rakendatavus ja rakendusala

Käesolevas meetodis on määratletud hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüüleetri, hüdrokinoonmonoetüüleetri ja hüdrokinoonmonobensüüleetri määramise tingimused naha pleegitamiseks ettenähtud kosmeetikatoodetes.

### 2. Põhimõte

Proov ekstraheeritakse vee ja metanooli seguga, kuumutades seda kergelt, et sulatada lipiidid. Saadud lahuses määratakse uuritavad ained pöördfaasilise vedelikkromatograafia abil, kasutades UV-detektorit.

### 3. Reaktiivid

- 3.1. Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad. Kasutada tuleb destilleeritud või vähemalt samaväärse puhtusastmega vett.
- 3.2. Metanool
- 3.3. Hüdrokinoon
- 3.4. Hüdrokinoonmonometüüleeter
- 3.5. Hüdrokinoonmonoetüüleeter
- 3.6. Hüdrokinoonmonobensüüleeter (monobensoon)
- 3.7. Tetrahüdrofuraan, puhas HPLC jaoks.
- 3.8. Vee ja metanooli segu (mahuvahekorras 1:1). Segatakse üks mahuosa vett ja üks mahuosa metanooli (3.2).
- 3.9. Liikuv faas: tetrahüdrofuraani ja vee segu (mahuvahekorras 45:55). Segatakse 45 mahuosa tetrahüdrofuraani (3.7) ja 55 mahuosa vett.
- 3.10. Võrdluslahus

50 ml mõõtekolbi kaalutakse 0,06 g hüdrokinooni (3.3), 0,08 g hüdrokinoonmonometüüleetrit (3.4), 0,10 g hüdrokinoonmonoetüüleetrit (3.5) ja 0,12 g hüdrokinoonmonobensüüleetrit (3.6). Lahustatakse ja täiendatakse määrgini metanooliga (3.2). Valmistatakse võrdluslahus, lahjendades 10,00 ml kõnealust lahust 50,00 milliliitri vee ja metanooli seguga (3.8). Kõnealused lahused peavad olema värskest valmistatud.

### 4. Seadmed

Tavalised laboriseadmed ja:

- 4.1. Veevann, võimalik säilitada temperatuuri 60 °C.
- 4.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograaf muudetava lainepikkusega UV-detektoriga ja 10 µl sissesustimissilmusega.
- 4.3. Analüütiline kolonn:

roostevabast terasest kromatograafiakolonn, pikkus 250 mm, siseläbimõõt 4,6 mm, täidiseks Zorbax fenüül (keemiliselt seotud fenetüülsilaan Zorbax SIL1, deaktiveeritud trimetüülkloorsilaaniga), osakeste suurus 6 µm, või samaväärne. Eelkolonni ei kasutata, v.a fenüülkaitse või samaväärne.

4.4. Filterpaber, läbimõõt 90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband* nr 5892 või samaväärne.

## 5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kolme kümnendkoha täpsusega kaalutakse  $1 \pm 0,1$  g (a grammi) proovi 50 ml mõõtekolbi. Proov dispergeeritakse 25 milliliitris vee ja metanooli segus (3.8). Kolb suletakse ja seda loksutatakse tugevasti, kuni saadakse homogeenne suspensioon. Loksutatakse vähemalt üks minut. Kolb pannakse veevanni (4.1) temperatuurile 60 °C, et tõhustada ekstraheerimist. Kolb jahutatakse ja täidetakse märgini vee ja metanooli seguga (3.8). Ekstrakt filtreeritakse läbi filterpaberi (4.4). Kõrgefektiivne vedelikkromatograafiline analüüs tehakse 24 tunni jooksul pärast ekstrakti valmistamist.

5.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograafia

5.2.1. Liikuva faasi (3.9) voolukiiruseks reguleeritakse 1,0 ml/min ja detektori lainepikkuseks 295 nm.

5.2.2. Süstitakse 10 µl punkti 5.1 kohaselt saadud proovilahust ja registreeritakse kromatogramm. Mõõdetakse piikide pindalad. Kalibreeritakse punktis 5.2.3 kirjeldatud viisil. Võrreldakse proovilahuse ja standardlahuste kohta saadud kromatogramme. Uuritavate ainete sisalduse arvutamisel proovilahuses kasutatakse piikide pindalad ja punkti 5.2.3 kohaselt leitud kalibreerimistegureid (RF).

5.2.3. Kalibreerimine

Süstitakse 10 µl võrdluslahust (3.10) ja registreeritakse kromatogramm. Süstitakse mitu korda, kuni saadakse püsiva pindalaga piik.

Määratakse kalibreerimistegur  $RF_i$ :

$$RF_i = \frac{p_i}{c_i}$$

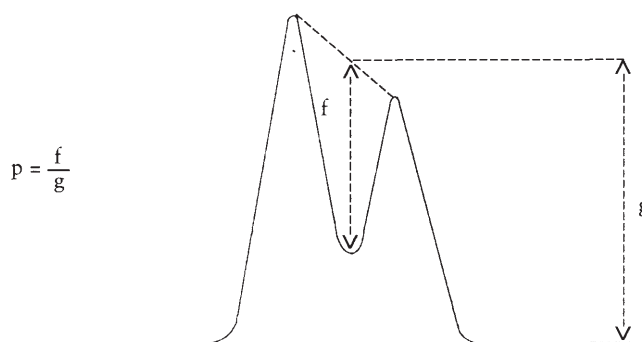
kus:

$p_i$  = hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüületri, hüdrokinoonmonoetüületri või hüdrokinoonmonoben-  
süületri piigi pindala,

$c_i$  = hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüületri, hüdrokinoonmonoetüületri või hüdrokinoonmonoben-  
süületri sisaldus (g/50 ml) võrdluslahuses (3.10).

Veendutakse, kas standardlahuse ja proovilahuse kohta saadud kromatogrammid vastavad järgmistele nõuetele:

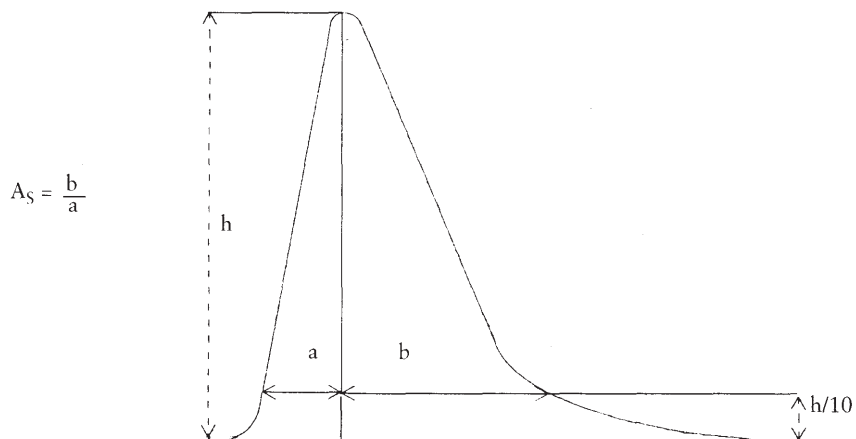
— piikide eraldatus ei tohi kõige halvemini eraldatud paari puhul olla väiksem kui 0,90. (Piikide eraldatus on määratletud joonisel 1).



Joonis 1: Piikide eraldatus

Kui vajalik eraldatus puudub, tuleks kas kasutada tõhusamat kolonni või reguleerida liikuva faasi koostist, kuni nõue on täidetud.

- piikide asümmeetriategur  $A_s$  peaks jääma vahemikku 0,9–1,5. (Piikide asümmeetriategur on määratletud joonisel 2). Kromatogrammi registreerimisel asümmeetriateguri määramiseks on isekirjuti lindi soovitatav liikumiskiirus vähemalt 2 cm/min.



Joonis 2: Piikide asümmeetriategur

- Lähtejoon peab olema püsiv.

## 6. Arvutamine

Analüüsitava(te) aine(te) sisalduse arvutamiseks proovis kasutatakse nimetatud aine või ainete piikide pindalaid. Analüüsitava aine sisaldus proovis massiprotsentides ( $x_i$ ) arvutatakse järgmise valemi alusel:

$$x_i \text{ \% (m/m)} = \frac{b_i \cdot 100}{RF_i \cdot a}$$

kus:

$a$  = proovi mass grammides,

$b_i$  = proovis analüüsitava aine piigi pindala.

## 7. Korratavus <sup>(1)</sup>

- 7.1. Kui hüdrokinoonisisaldus on 2,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,13 %.
- 7.2. Kui hüdrokinoonmonometüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,1 %.
- 7.3. Kui hüdrokinoonmonoetüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,11 %.
- 7.4. Kui hüdrokinoonmonobensüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,11 %.

## 8. Reprodutseeritavus <sup>(1)</sup>

- 8.1. Kui hüdrokinoonisisaldus on 2,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist eri tingimustel (eri laborid, eri analüüsi ajad, eri seadmed ja/või eri aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,37 %.

<sup>(1)</sup> Standard ISO 5725.

- 8.2. Kui hüdrokinoonmonometüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist eri tingimustel (eri laborid, eri analüüsijad, eri seadmed ja/või eri aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,21 %.
- 8.3. Kui hüdrokinoonmonoetüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist eri tingimustel (eri laborid, eri analüüsijad, eri seadmed ja/või eri aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,19 %.
- 8.4. Kui hüdrokinoonmonobensüüleetri sisaldus on 1,0 %, ei tohiks ühest ja samast proovist eri tingimustel (eri laborid, eri analüüsijad, eri seadmed ja/või eri aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,11 %.

## 9. Märkused

- 9.1. Kui leitakse, et hüdrokinoonisisaldus on märgatavalt suurem kui 2 % ja sisaldus on vaja täpselt määrata, tuleb prooviekstrakti (5.1) lahjendada nii palju, et hüdrokinoonisisaldus vastaks 2protsendilise proovi sisaldusele ning määramist korrata.

(Mõne seadme puhul võib detektori neelduvus jääda suure hüdrokinoonisisalduse korral väljapoole lineaarset ala.)

- 9.2. Segavad tegurid

Eespool kirjeldatud meetod võimaldab määrata hüdrokinooni ja selle eetreid ühe isokraatse analüüsiga. Fenüülkolonni kasutamine tagab hüdrokinooni piisava retentsiooni, mida ei ole võimalik tagada, kui kirjeldatud liikuva faasiga kasutatakse C18 kolonni.

Kuid käesolev meetod on vastuvõtlik segavatele teguritele, mida võivad põhjustada mitmed parabeenid. Sellistel juhtudel tuleks korrata määramist teistsuguse liikuva/statsionaarse faasiga. Sobivaid meetodeid võib leida viidetest 1 ja 2, täpsemalt:

Kolonni: *Zorbax ODS*, 4,6 mm × 25 mm, või samaväärne:

temperatuur: 36 °C,

voolukiirus: 1,5 ml/min,

liikuv faas:

hüdrokinooni puhul: metanool/vesi (mahuvahekorras 5:95),

hüdrokinoonmonometüüleetri puhul: metanool/vesi (mahuvahekorras 30:70),

hüdrokinoonmonobensüüleetri puhul: metanool/vesi (mahuvahekorras 80:20).<sup>(1)</sup>

Kolonni: *Spherisorb S5-ODS* või samaväärne:

liikuv faas: vesi/metanool (mahuvahekorras 90:10),

voolukiirus: 1,5 ml/min.

Kõnealused tingimused sobivad hüdrokinooni puhul.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> M. Herpol-Borremans et M.-O. Masse, Identification et dosage de l'hydroquinone et de ses éthers méthylique et benzylique dans les produits cosmétiques pour blanchir la peau. *Int. j. Cosmet. Sci.* 8-203-214 (1986).

<sup>(2)</sup> J. Firth and I. Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, *Analyst* (1986), 111, p. 129.