

31996L0045

L 213/8

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA

1996.8.22.

**A BIZOTTSÁG 96/45/EK HETEDIK IRÁNYELVE****(1996. július 2.)****a kozmetikai termékek összetételének ellenőrzéséhez szükséges vizsgálati módszerekről****(EGT vonatkozású szöveg)**

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a legutóbb a 95/34/EK bizottsági irányelvvel<sup>(1)</sup> módosított, a kozmetikai termékekre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről szóló, 1976. július 27-i 76/768/EGK tanácsi irányelvre<sup>(2)</sup> és különösen annak 8. cikke (1) bekezdésére,

mivel a 76/768/EGK irányelv rendelkezik a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálatáról azzal a céllal, hogy biztosítsa a kozmetikai termékek összetételére vonatkozó közösségi rendelkezések által előírt feltételeknek betartását;

mivel minden szükséges vizsgálati módszert a lehető leggyorsabban meg kell határozni; mivel bizonyos módszereket a 87/143/EGK irányelvvel<sup>(3)</sup> módosított 80/1335/EGK bizottsági irányelv<sup>(4)</sup>, a 90/207/EGK<sup>(5)</sup>, a 83/514/EGK<sup>(6)</sup>, a 85/490/EGK<sup>(7)</sup>, a 93/73/EGK<sup>(8)</sup> és a 95/32/EK<sup>(9)</sup> bizottsági irányelvek által módosított 82/434/EGK irányelv<sup>(10)</sup> révén már elfogadtak;

mivel a kozmetikai termékekben lévő 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropán-2-ol, metil-, etil-, propil-, butil- és benzil-4-hidroxibenzoát azonosítása és mennyiségi meghatározása jelenti a hetedik lépést;

mivel az ebben az irányelvben megállapított intézkedések összhangban vannak a 76/768/EGK irányelvnek a műszaki fejlődéshez való hozzáigazításával foglalkozó bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

**1. cikk**

A tagállamok megtesznek minden szükséges intézkedést annak biztosítására, hogy a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálata során a 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropán-2-ol, metil-, etil-, pro-

pil-, butil- és benzil-4-hidroxibenzoát azonosítása és mennyiségi meghatározása a mellékletben leírt módszerek szerint történik.

**2. cikk**

(1) A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ennek az irányelvnek legkésőbb 1997. szeptember 30-ig megfeleljenek. Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

(2) Amikor a tagállamok elfogadják ezeket a rendelkezéseket, azokban hivatkozni kell erre az irányelvre, vagy azokhoz hivatalos kihirdetésük alkalmával ilyen hivatkozást kell fűzni. A hivatkozás módját a tagállamok határozzák meg.

(3) A tagállamok közlik a Bizottsággal nemzeti joguknak azokat a főbb rendelkezéseket, amelyeket az ezen irányelv által szabályozott területen fogadnak el.

**3. cikk**

Ez az irányelv az *Európai Közösségek Hivatalos Lapjában* való kihirdetését követő 20. napon lép hatályba.

**4. cikk**

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1996. július 2-án.

a Bizottság részéről

Emma BONINO

a Bizottság tagja

<sup>(1)</sup> HL L 167., 1995.7.18., 19. o.

<sup>(2)</sup> HL L 262., 1976.9.27., 169. o.

<sup>(3)</sup> HL L 57., 1987.2.27., 56. o.

<sup>(4)</sup> HL L 383., 1980.12.31., 27. o.

<sup>(5)</sup> HL L 108., 1990.4.28., 92. o.

<sup>(6)</sup> HL L 291., 1983.10.24., 9. o.

<sup>(7)</sup> HL L 295., 1985.11.7., 30. o.

<sup>(8)</sup> HL L 231., 1993.9.14., 34. o.

<sup>(9)</sup> HL L 178., 1995.7.28., 20. o.

<sup>(10)</sup> HL L 185., 1982.6.30., 1. o.

## MELLÉKLET

**2-FENOXIETANOL, 1-FENOXIPROPÁN-2-OL, METIL-, ETIL-, PROPIL-, BUTIL- ÉS BENZIL-4-HIDROXIBENZOÁT AZONOSÍTÁSA ÉS MEGHATÁROZÁSA KOZMETIKAI TERMÉKEKBEN**

## A. AZONOSÍTÁS

1. **Cél és alkalmazási terület**

Ez a módszer egy vékonyréteg-kromatográfiás (TLC) eljárást határoz meg, amely a B. szakaszban leírt meghatározási módszerrel együttesen lehetővé teszi 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropán-2-ol, metil-, etil-, propil-, butil- és benzil-4-hidroxibenzoát azonosítását a kozmetikai termékekben.

2. **Alapelv**

A tartósítószerkeket acetonnal vonjuk ki a megsavanyított vizsgálati mintából. Szűrés után az acetonos oldatot vízzel elegyítjük, és lúgos közegben a zsírsavakat kalciumsóik formájában csapadékként leválasztjuk. A lúgos aceton/víz elegyet dietil-éterrel kivonjuk a lipofil anyagok eltávolítása céljából. Savanyítás után a tartósítószerkeket dietil-éterrel kivonjuk. A dietil-éteres kivonat egy részét szilikagéllel bevont vékonyréteg lemezre cseppentjük. A lemez előhívása után a kapott kromatogramot UV fény alatt vizsgáljuk meg, és a foltokat Millon reagenssel tesszük láthatóvá.

3. **Reagensek**

## 3.1. Általános rész

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie. A felhasznált víznek desztillált víznek vagy legalább ezzel egyenértékű tisztaságú víznek kell lennie.

## 3.2. Aceton

## 3.3. Dietil-éter

## 3.4. n-pentán

## 3.5. Metil-alkohol

## 3.6. Ecetsav (Jégecet)

3.7. Sósav oldat,  $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$ 3.8. Kálium-hidroxid oldat,  $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$ 3.9. Kalcium-klorid dihidrát ( $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

## 3.10. Detektáló szer: Millon reagens

A Millon reagens (higany(II)-nitrát egy készen, a kereskedelemben beszerezhető oldat (69820 Fluka).

## 3.11. 2-Fenoxietanol

## 3.12. 1-Fenoxipropán-2-ol

## 3.13. Metil 4-hidroxibenzoát (metilparaben)

## 3.14. Etil 4-hidroxibenzoát (etilparaben)

## 3.15. n-Propil 4-hidroxibenzoát (propilparaben)

## 3.16. n-Butil 4-hidroxibenzoát (butilparaben)

## 3.17. Benzil 4-hidroxibenzoát (benzilparaben)

## 3.18. Referencia-oldatok

Készítsünk 0,1 %-os (m/v) oldatokat mindegyik referencia-oldatból (3.11., 3.12., 3.13., 3.14., 3.15., 3.16. és 3.17.) metanollal.

## 3.19. Előhívószer

Elegyítsünk 88 térfogatrész n-pentánt (3.4.) 12 térfogatrész ecetsavat (3.6.).

#### 4. Eszközök

Szokásos laboratóriumi berendezés, és:

- 4.1. 60 °C hőmérséklet tartására alkalmas vízfürdő
- 4.2. Előhívó kád (szűrőpapír bevonat nélkül)
- 4.3. Ultraibolya fényforrás, 254 nm
- 4.4. Vékonyréteg lemezek, 20 x 20 cm, 0,25 mm 60F<sub>254</sub> szilikagéllel bevonva, koncentráló zónával (Merck 11798, Darmstadt, vagy ezzel egyenértékű)
- 4.5. Maximum 105 °C hőmérséklet tartására alkalmas szárítószekrény
- 4.6. Meleglevegős hajszárító
- 4.7. Gyapjú festőhenger, hossza kb. 10 cm, külső átmérője kb. 3,5 cm. A gyapjúréteg vastagsága 2-3 mm. Nyírjuk le a gyapjút, ha szükséges.  
Lásd az 5.2. alatti megjegyzést.
- 4.8. 50 ml-es üvegcső csavaros kupakkal.
- 4.9. Elektromos fűtőlap termosztátos hőmérséklet-szabályozóval. Hőmérséklet-beállítás: kb. 80 °C. A fűtőlapot fedjük le egy 20 x 20 cm-es, kb. 6 mm vastagságú alumínium lemezzel, az egyenletes hőeloszlás érdekében.

#### 5. Eljárás

##### 5.1. Mintaelőkészítés

Mérjük be hozzávetőlegesen 1 g mintát egy 50 ml-es csavaros tetejű üvegcsőbe (4.8.). Adjunk hozzá négy csepp sósavat (3.7.) és 40 ml acetont.

Erősen lúgos termékeknel, mint amilyen a pipereszappan, 20 csepp sósav oldatot kell adagolni. Zárjuk le a csövet, melegítsük fel az elegyet kb. 60 °C-ra, hogy elősegítsük a tartósítószer kivonását az acetonos fázisba, majd rázzuk erősen egy percig.

Mérjük meg az oldat pH-ját pH-indikátorpapírral, és állítsuk be  $\leq 3$  értékre sósav oldattal. Ismét erősen rázzuk egy percig.

Hűtsük le az oldatot szobahőmérsékletre, és szűrjük át egy szűrőpapíron egy Erlenmeyer lombikba. Töltsünk 20 ml szűrletet egy 200 ml-es Erlenmeyer lombikba, adjunk hozzá 60 ml vizet és keverjük meg. Állítsuk be a pH-t körülbelül 10-es értékre kálium-hidroxiddal (3.8.) úgy, hogy a pH mérésére indikátorpapírt használunk.

Adjunk hozzá 1 g kalcium-klorid-dihidrátot (3.9.) és rázzuk fel erősen. Szűrőpapíron szűrjük át egy 250 ml-es Erlenmeyer lombikba, amely 75 ml dietil-étert tartalmaz, és rázzuk erősen egy percig. Hagyjuk szétválni a fázisokat, és a vizes réteget gyűjtjük össze egy 200 ml-es Erlenmeyer lombikba. Indikátorpapír segítségével állítsuk be a vizes oldat pH-ját hozzávetőlegesen 2-re sósav oldattal. Ezt követően adjunk hozzá 10 ml dietil-étert, és rázzuk erősen egy percig. Hagyjuk szétválni a fázisokat, és a dietil-éteres rétegből 2 ml-t töltsük át egy 5 ml-es mintatartó ampullába.

##### 5.2. Vékonyréteg kromatográfia (TLC)

Tegyünk egy TLC lemezt (4.4.) a megmelegített alumínium lapra (4.9.). Minden referencia oldatból (3.18.) kb. 10  $\mu$ l-t, a mintaoldatból (5.1.) pedig 100  $\mu$ l-t vigyünk fel a TLC lemez koncentrációs zónájának alapvonalára.

Ha szükséges, használhatunk légáramot az oldószer párolgásának elősegítésére. Vegyük le a TLC lemezt a melegítőlapról, és hagyjuk lehűlni szobahőmérsékletre. Töltsünk 100 ml előhívó oldószert (3.19.) egy előhívó kádba (4.2.).

Tegyük a TLC lemezt azonnal a telítetlen kádba, és szobahőmérsékleten végezzük el az előhívást addig, amíg az oldószerfront mintegy 15 cm-re eltávolodik az alapvonaltól. Vegyük ki a lemezt az előhívókádból, és szárítsuk meg meleg levegőáramban egy meleglevegős hajszárító segítségével.

Vizsgáljuk meg a lemezt UV fény (4.3.) alatt, és jelöljük be a foltok helyét. Melegítsük a lemezt 30 percig egy szárítószekrényben (4.5.) 100 °C -on a felesleges ecetsav eltávolítása érdekében. A tartósítószereket Millon reagenssel (3.10.) tegyük láthatóvá a kromatogramon úgy, hogy a festőhengert (4.7.) belemerítjük a reagensbe, és addig görgetjük a TLC lemezen, ameddig az egyenletesen benedvesedik.

*Megjegyzés:* Nagyjából ugyanúgy is láthatóvá tehetők, hogy egy csepp Millon reagenst viszünk fel minden, UV fény alatt kijelölt foltra.

A 4-hidroxibenzoészav észterek piros foltokként, míg az 2-fenoxipropanol és az 1 fenoxipropan-2-ol sárga foltokként jelennek meg. Megjegyezzük ugyanakkor, hogy maga a 4-hidroxibenzoészav, amely a mintában tartósítószerként vagy a parabének bomlástermékeként jelen lehet, ugyancsak vörös foltként fog megjelenni. Lásd a 7.3. és 7.4. pontot.

## 6. Azonosítás

Számítsuk ki az  $R_f$  értéket minden egyes foltra. Hasonlítsuk össze a mintaoldatra kapott foltokat az referencia-  
oldatokra kapott foltokkal az  $R_f$  értékek, az UV sugárzás alatti viselkedésük, és a láthatóvá tett színük  
szempontjából. Vonjunk le előzetes következtetéseket a tartósítószer azonosítására vonatkozóan.

Ha úgy tűnik, hogy parabének vannak jelen, akkor a B. szakaszban leírt HPLC vizsgálatot kell végrehajtani.  
Vessük össze a TLC-vel és a nagynyomású folyadék-kromatográfiával (HPLC) kapott eredményeket, hogy  
megerősítsük a 2-fenoxietanol, az 1-fenoxipropán-2-ol és a parabének jelenlétét.

## 7. Megjegyzések

- 7.1. A Millon reagens mérgező volta miatt ezt a reagenst legjobb a leírt eljárások egyikének megfelelően használni.  
Permetezése nem ajánlott.
- 7.2. Hidroxil-csoportokat tartalmazó egyéb vegyületek is kelhetnek színt Millon reagenssel. N. de Kruijff, M.A.H.  
Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi és A. Schouten (1987): Determination of preservatives in cosmetic products I:  
Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products (*J. Chroma-  
tography* 410, 395-411.) cikkében számos tartósítószerre vonatkozó színtáblázat és a TLC eljárás a használa-  
tával kapott  $R_f$  értékekre vonatkozó találhatók.
- 7.3. A következő táblázatban felsorolt  $R_f$  értékek a vizsgálatban kapható értékek jelzésére szolgálnak:

Vegyület	$R_f$	Szín
4-hidroxibenzoesav	11	piros
metil-parabén	12	piros
etil-parabén	17	piros
propil-parabén	21	piros
butil-parabén	26	piros
benzil-parabén	16	piros
2-fenoxietanol	29	sárga
1-fenoxipropán-2-ol	50	sárga

- 7.4. A 4-hidroxibenzoesav és metil-parabén vagy a benzil-parabén és etil-parabén esetén nem kapunk szétválást.  
Ezeknek a vegyületeknek az azonosítását úgy kell megerősíteni, hogy elvégezzük a B. szakaszban leírt HPLC  
vizsgálatot, és a mintára kapott retenciós időket egybevetjük a referencia-*oldatok* retenciós időivel.

## B. MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS

### 1. Cél és alkalmazási terület

Ez a módszer eljárást határoz meg a 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropán-2-ol, metil 4-hidroxibenzoát, etil-4-  
hidroxibenzoát, propil-4-hidroxibenzoát, butil-4-hidroxibenzoát és benzil-4-hidroxibenzoát kozmetikai termé-  
kekben történő meghatározására.

### 2. Fogalom meghatározás

Az e módszerrel meghatározott tartósítószer mennyiségét tömegszázalékban fejezzük ki.

### 3. Alapelv

A mintát kénsav hozzáadásával megsavanyítjuk, majd pedig etil-alkohol és víz elegyével szuszpendáljuk.  
Miután gyengén melegítettük a keveréket a lipid fázis megolvasztása és a kvantitatív kivonás elősegítése  
céljából, a keveréket megsűrjük.

A szűrletben lévő tartósítószereket fordított fázisú HPLC-vel határozzuk meg, belső standardként izopropil-4-  
hidroxibenzoát használjunk.

### 4. Reagensek

#### 4.1. Általános rész

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie, és HPLC-re alkalmasnak ott, ahol erre szükség van. A  
felhasznált víznek desztillált víznek vagy legalább ezzel megegyező tisztaságú víznek kell lennie.

#### 4.2. Abszolút etil-alkohol

#### 4.3. 2-fenoxietanol

#### 4.4. 1-fenoxipropán-2-ol

- 4.5. Metil-4-hidroxi-benzoát (metil-parabén)
- 4.6. Etil-4-hidroxi-benzoát (etil-parabén)
- 4.7. n-propil-4-hidroxi-benzoát (propil-parabén)
- 4.8. Izopropil-4-hidroxi-benzoát (izopropil-parabén)
- 4.9. n-butil-4-hidroxi-benzoát (butil-parabén)
- 4.10. Benzil-4-hidroxi-benzoát (benzil-parabén)
- 4.11. Tetrahydrofuran
- 4.12. Metil-alkohol
- 4.13. Acetonitril
- 4.14. Kénsav oldat  $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/l}$
- 4.15. Etil-alkohol/víz elegy  
Keverjük össze kilenc térfogatrész etil-alkoholt (4.2.) és egy térfogatrész vizet.
- 4.16. Belső standard oldat  
Nagy pontossággal mérjük be kb. 0,25 g izopropil-parabént (4.8.), töltjük át egy 500 ml-es mérőlombikba, oldjuk fel és töltjük fel a jelig etil-alkohol/víz eleggyel (4.15.).
- 4.17. Mozgó fázis: tetrahydrofuran/víz/metil-alkohol/acetonitril elegy  
Keverjük össze 5 térfogatrész tetrahydrofuránt, 60 térfogatrész vizet, 10 térfogatrész metil-alkoholt és 25 térfogatrész acetonitrilt.
- 4.18. Tartósítószerkező törzsoldata  
Nagy pontossággal mérjük be kb. 0,2 g 2-fenoxietanolt, 0,2 g 1-fenoxipropán-2-ol-t, 0,05 g metil-parabént, 0,05 g etil-parabént, 0,05 g propil-parabént, 0,05 g butil-parabént és 0,025 g benzil-parabént egy 100 ml-es mérőlombikba, oldjuk fel és töltjük jelig etil-alkohol/víz eleggyel.  
Hűtőszekrényben tartva az oldat egy hétig stabil.
- 4.19. Tartósítószerkező standard oldata  
A törzsoldatból (4.18.) töltünk át 20,00 ml-t, 10,00 ml-t, 5,00 ml-t, 2,00 ml-t és 1,00 ml-t egy-egy 50 ml-es mérőlombikba. Minden mérőlombikhoz adjunk 10 ml belső standard oldatot (4.16.) és 1,0 ml kénsav oldatot (4.14.), majd töltjük fel a jelig etil-alkohol/víz eleggyel. Ezeket az oldatokat frissen kell készíteni.
5. **Eszközők**  
Hagyományos laboratóriumi felszerelés, és még:
  - 5.1.  $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$  fenntartására alkalmas vízfürdő
  - 5.2. Nagynyomású folyadék-kromatográf 280 nm hullámhosszú UV detektorral
  - 5.3. Analitikai oszlop  
Rozsdamentes acél, 25 cm x 4,6 mm belső átmérő (vagy 12,5 cm x 4,6 mm belső átmérő), Nucleosil 5C18 vagy ezzel egyenértékű töltettel töltve (lásd a 10.1. pontot)
  - 5.4. 100 ml-es üvegcsővek csavaros kupakkal
  - 5.5. Forrkő, 2-4 mm méretű vagy ezzel egyenértékű
6. **Eljárás**
  - 6.1. Mintaelőkészítés
    - 6.1.1. A minta előkészítése belső standard hozzáadása nélkül  
Mérjük be körülbelül 1 g-nyi mintát egy 100 ml-es csavaros tetejű üvegcsőbe. Pipetázzunk 1,0 ml kénsav oldatot (4.14.) és 50,0 ml etil-alkohol/víz elegyet (4.15.) a csőbe. Adjunk hozzá körülbelül 1 g forrkövet (5.5.), zárjuk le a csövet és rázzuk erősen addig, amíg homogén szuszpenziót nem kapunk. Rázzuk legalább egy percig. Tegyük a csövet öt percre vízfürdőbe (5.1.), és tartsuk  $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ -on a tartósítószerkező etil-alkoholos fázisba történő kivonásának elősegítése céljából.  
Azonnal hűtsük le a csövet hideg vízáramban, és tartsuk a kivonatot hűtőszekrényben egy órán keresztül. Szűrjük le a kivonatot egy szűrőpapíron keresztül. Töltünk át körülbelül 2 ml kivonatot egy 5 ml-es mintatartó küvetta. Tartsuk a kivonatot hűtőszekrényben, és 24 órán belül végezzük el a HPLC-s meghatározást.

## 6.1.2. A minta előkészítése belső standard hozzáadásával

Mérjük be három tizedes pontossággal  $1 \pm 0,1$  g mintát egy 100 ml-es csavaros tetejű üvegcsőbe.

Pipetázzunk 1,0 ml kénsav oldatot és 40,0 ml etil-alkohol/víz elegyet a csőbe. Adjunk hozzá körülbelül 1 g forrkövet (5.5.) és pontosan 10,00 ml belső standard oldatot. Zárjuk le a csövet, és rázzuk erősen addig, amíg homogén szuszpenziót nem kapunk. Rázzuk legalább egy percig. Tegyük a csövet öt percre vízfürdőbe (5.1.), és tartsuk  $60 \pm 1$  °C-on a tartósítószer etil-alkoholos fázisba történő kivonásának elősegítése céljából.

Azonnal hűtsük le a csövet hideg vízáramban, és tartsuk a kivonatot hűtőszekrényben egy órán keresztül. Szűrjük le a kivonatot egy szűrőpapíron keresztül.

Töltsünk át körülbelül 2 ml kivonatot egy 5 ml-es mintatartó küvetába (vakoldat). Tartsuk a kivonatot hűtőszekrényben, és 24 órán belül végezzük el a HPLC-s meghatározást.

## 6.2. Nagynyomású folyadék-kromatográfia (HPLC)

## 6.2.1. Kromatografálási feltételek:

- Mozgó fázis: tetrahydrofuran/víz/metil-alkohol/acetonitril elegy (4.17.)
- Áramlási sebesség: 1,5 ml/perc
- A detektálás hullámhossza: 280 nm

## 6.2.2. Kalibrálás

Minden tartósítószer standard oldatából (4.19.) fecskendezünk 10 µl-t. A kapott kromatogramokból határozzuk meg a vizsgált tartósítószer standard oldat csúcsmagasságának a belső standard csúcsmagasságához viszonyított arányát. Ábrázoljuk görbén az egyes tartósítószerhez tartozó csúcsmagasságok arányát az egyes standard oldatok koncentrációjának függvényében.

## 6.2.3. Mennyiségi meghatározás

Fecskendezünk 10 µl belső standard nélküli mintaoldatot (6.1.1.) a kromatográfba, és vegyük fel a kromatogramot.

Fecskendezünk az egyik tartósítószer standard oldatból (4.19.) 10 µl-t, és vegyük fel a kromatogramot. Hasonlítsuk össze a kapott kromatogramokat.

Ha a minta kivonásának (6.1.1.) kromatogramján nincs csúcs nagyjából ugyanannál a retenciós időnél, mint az izopropil-parabének (ajánlott belső standard), akkor azzal folytassuk, hogy fecskendezünk 10 µl belső standardt tartalmazó minta kivonatot (6.1.2.). Vegyük fel a kromatogramot, és mérjük meg a csúcsmagasságokat.

Ha zavaró csúcsot találunk a minta kivonatának kromatogramján ugyanannál a retenciós időnél, mint az izopropil-parabénnél, akkor egy másik megfelelő belső standardot kell választani.

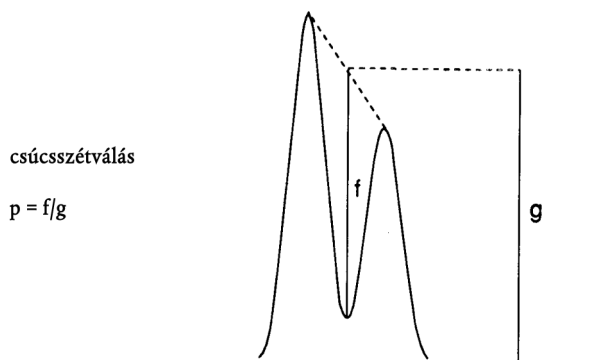
Ha a vizsgált tartósítószer egyik hiányzik a kromatogramról, akkor ez a tartósítószer használható fel belső standardként.

Számítsuk ki a vizsgált tartósítószer csúcsmagasságainak a belső standard csúcsmagasságaihoz viszonyított arányát.

Győződjünk meg arról, hogy kalibrálásnál a felhasznált belső standardokra lineáris görbét kaptunk.

Győződjünk meg arról, hogy a tartósítószer standard oldatára és a mintaoldatra kapott kromatogramok kielégítik a következő elvárásokat:

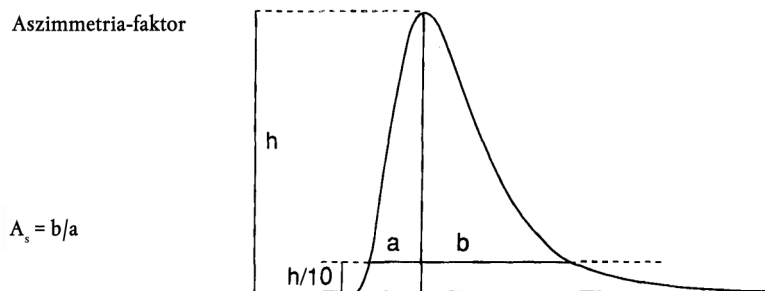
- csúcsházáránál a leggyengébben szétvált párnak legalább 0,90-nek kell lennie.



1. ábra: Csúcsházár

Ha a szükséges szétválást nem értük el, akkor vagy egy hatékonyabb oszlopot kell használni, vagy a mozgó fázis összetételét kell addig állítgatni, amíg az elvárásokat kielégíti.

- Minden kapott csúcs Aszimetria faktorának 0,9–1,5 közötti tartományban kell lennie. (A csúcsaszimetria-faktor definícióját lásd a 2. ábrán). Az aszimetria-faktor meghatározására szolgáló kromatogram felvételéhez legalább 2 cm/perc papíradagolási sebesség ajánlott.



2. ábra: Csúcsaszimetria-faktor

- Stabil alapvonalat kell kapnunk.

## 7. Számítás

Használjuk a kalibrációs görbét (6.2.2.) és a vizsgált tartósítószer csúcsmagasságának a belső standard csúcsmagasságához viszonyított arányait a mintaoldatban lévő tartósítószer koncentrációjának kiszámításához. Számítsuk ki a minta 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropán-2-ol, metil-4-hidroxibenzoát, etil-4-hidroxibenzoát, propil-4-hidroxibenzoát, butil-4-hidroxibenzoát és benzil-4-hidroxibenzoát tartalmát ( $w_i$ ) tömegszázalékban (%m/m) a következő képlet segítségével:

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

ahol:

$b$  = a vakolatban lévő  $i$ -edik tartósítószer koncentrációja ( $\mu\text{g/ml}$ ) a kalibrációs görbe alapján, és

$a$  = a vizsgált adag tömege (g).

## 8. Megismételhetőség<sup>(1)</sup>

Lásd a megjegyzések 10.5. pontját.

## 9. Reprodukálhatóság<sup>(1)</sup>

Lásd a megjegyzések 10.5. pontját.

## 10. Megjegyzések

### 10.1. Álló fázis

HPLC meghatározásoknál az oldatok retenció viselkedése erősen függ az álló fázis típusától, márkájától és előéletétől. Azt, hogy egy oszlop használható-e a vizsgált tartósítószer szétválasztására, a standard oldatokra kapott eredményekből tudjuk megállapítani (lásd a megjegyzések 6.2.3. pontját). A javasolt töltőanyagokon kívül a Hypersil ODS és a Zorbax ODS is ugyanúgy használható.

Vagylagosan az ajánlott mozgó fázis összetételét lehet optimalizálni az elvárt szétválasztás elérése érdekében.

### 10.2. A detektálás hullámhossza

A leírt módszerrel végzett egyenletlenségi vizsgálat azt mutatta, hogy a detektálás hullámhosszának kismértékű megváltozása jelentős hatással bír a meghatározás eredményeire.

Ezért ezt a paramétert az elemzés során igen alaposan kell szabályozni.

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

## 10.3. Zavaró hatások

Az ebben a módszerben leírt körülmények között sok más vegyület, mint például tartósítószer és kozmetikai adalékanyagok is kioldódnak. A kozmetikai termékekről szóló tanácsi irányelvhez tartozó VI. mellékletben említett nagyszámú tartósítószer retenciós ideje fel van sorolva N. de Kruijf, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi and Schouten, (1989): Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (*J. Chromatography* 469, 317-398) cikkében.

10.4. Az analitikai oszlop védelmére egy megfelelő védőoszlop is használható.

10.5. A módszert egy együttműködési kísérlet során vizsgálták, amelyben kilenc laboratórium vett részt. Három mintát vizsgáltak. A következő táblázat mindhárom mintára felsorolja a vizsgált mintákra kapott % m/m átlagokat (m), a megismételhetőségeket (r) és a reprodukálhatóságokat (R):

Minta		2-Fenoxi-etanol	1-Fenoxi-propán-2-ol	Metil-parabén	Etil-parabén	Propil-parabén	Butil-parabén	Benzil-parabén
Vitamin krém	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	
Nappali arckrém	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Masszázs krém	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