

31995L0032

L 178/20

IL-ĠURNAL UFFIĊJALI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ

28.7.1995

## IS-SITT DIRETTIVA TAL-KUMMISSJONI 95/32/KE

tas-7 ta' Lulju 1995

li tirrigwardja l-metodi ta' l-analiżi meħtieġa għal verifikar tal-kompożizzjoni ta' prodotti kosmetiċi

(Test b'relevanza għaż-ŻEE)

IL-KUMMISSJONI TAL-KOMUNITAJIET EWROPEJ,

Wara li kkunsidrat it-Trattat li jstabbilixxi l-Komunità Ewropea,

Wara li kkunsidrat Direttiva tal-Kunsill 76/768/KEE tas-27 ta' Lulju 1976 dwar l-approssimazzjoni tal-liġijiet tal-Istati Membri li għandhom x'jaqsmu mal-prodotti kosmetiċi <sup>(1)</sup>, kif emendata l-aħħar bid-Direttiva tal-Kummissjoni 94/32/KEE <sup>(2)</sup>, u partikolarment l-Artikolu 8(1) tagħha,

Billi d-Direttiva 76/768/KEE tippovdi għal testijiet uffiċjali ta' prodotti kosmetiċi bil-ghan li jkun assigurat li l-kondizzjonijiet stabbiliti bid-dispożizzjonijiet tal-Kummissjoni li jikkonċernaw il-kompożizzjoni tal-prodotti kosmetiċi jkunu sodisfatti;

Billi l-metodi ta' l-analiżi kollha meħtieġa għandhom ikunu stabbiliti malajr kemm jista' jkun possibbli; billi ċerti metodi diġà ġew adottati fid-Direttivi tal-Kummissjoni 80/1335/KEE <sup>(3)</sup>, kif emendata bid-Direttiva 87/143/KEE <sup>(4)</sup>, 82/434/KEE <sup>(5)</sup>, kif emendata bid-Direttiva 90/207/KEE <sup>(6)</sup>, 83/514/KEE <sup>(7)</sup>, 85/490/KEE <sup>(8)</sup> u 93/73/KEE <sup>(9)</sup>;Billi l-identifikazzjoni u d-determinazzjoni ta' l-aċidu benzojku, l-aċidu 4-idroksibenzojku, l-aċidu sorbiku, l-aċidu Saliciku u l-aċidu propjoniku fil-prodotti kosmetiċi u l-identifikazzjoni u determinazzjoni ta' hydroquinone, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* u *hydroquinone monobenzylether* fi prodotti kosmetiċi jikkonstitwixxu is-sitt pass;

Billi l-miżuri li hemm dispożizzjoni dwarhom f'din id-Direttiva huma bi qbil ma' l-opinjoni tal-Kumitat dwar l-adattament tad-Direttiva 76/768/KEE għal progress tekniku,

ADOTTAT DIN ID-DIRETTIVA:

## L-Artikolu 1

Stati Membri għandhom jieħdu l-passi kollha meħtieġa biex jassiguraw li matul it-testijiet uffiċjali ta' prodotti kosmetiċi:

— l-identifikazzjoni u d-determinazzjoni ta' l-aċidu benzojku, l-aċidu 4-idroksibenzojku, l-aċidu sorbiku, l-aċidu saliciliku u l-aċidu propjoniku,

— l-identifikazzjoni u d-determinazzjoni ta' *hydroquinone*, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* u *hydroquinone monobenzylether*,

għandhom jitwettqu bi qbil mal-metodi deskritti fl-Anness.

## L-Artikolu 2

1. L-Istati Membri għandhom idahhlu fis-seħh il-liġijiet, ir-regolamenti u d-dispożizzjonijiet amministrattivi meħtieġa sabiex ikunu konformi ma' din id-Direttiva mhux aktar tard mit-30 ta' Settembru 1996. Għandhom minnufih jinfurmaw lill-Kummissjoni dwar dan.

Meta l-Istati Membri jadottaw dawn id-dispożizzjonijiet, dawn għandhom ikollhom referenza għal din id-Direttiva jew għandhom ikunu akkumpanjati b'din ir-referenza fil-waqt tal-pubblikazzjoni uffiċjali tagħhom. Il-proċedura għal din ir-referenza għandha tkun adottata mill-Istati Membri.

2. L-Istati Membri għandhom jikkomunikaw lill-Kummissjoni d-dispożizzjonijiet tal-liġi nazzjonali li huma jadottaw fil-qasam kopert b'din id-Direttiva.

## L-Artikolu 3

Din id-Direttiva għandha tidhol fis-seħh fl-20 jum ta' wara l-pubblikazzjoni tagħha fil-Ġurnal Uffiċjali tal-Komunitajiet Ewropej.

## L-Artikolu 4

Din id-Direttiva hija indirizzata lill-Istati Membri.

Magħmula fi Brussel, fis-7 ta' Lulju 1995.

Għall-Kummissjoni

Emma BONINO

Membru tal-Kummissjoni

<sup>(1)</sup> ĠU L 262, tas-27.9.1976, p. 169.<sup>(2)</sup> ĠU L 181, tal-15.7.1994, p. 31.<sup>(3)</sup> ĠU L 383, tal-31.12.1980, p. 27.<sup>(4)</sup> ĠU L 57, tas-27.2.1987, p. 56.<sup>(5)</sup> ĠU L 185, tat-30.6.1982, p. 1.<sup>(6)</sup> ĠU L 108, tat-28.4.1990, p. 92.<sup>(7)</sup> ĠU L 291, ta' l-24.10.1983, p. 9.<sup>(8)</sup> ĠU L 295, tas-7.11.1985, p. 30.<sup>(9)</sup> ĠU L 231, ta' l-14.9.1993, p. 34.

## L-ANNEX

## I. IDENTIFIKAZZJONI U DETERMINAZZJONI TA' L-AĊIDU BENZOJJKU, L-AĊIDU 4-IDROKSIBENZOJJKU, L-AĊIDU SORBIKU, L-AĊIDU SALIKLIKU U L-AĊIDU PROPJONIKU FI PRODOTTI KOSMETIĊI

1. **Skop u qasam ta' l-applikazzjoni**

Il-metodu huwa applikabbli għall-identifikazzjoni u d-determinazzjoni ta' l-aċidu benzojku, l-aċidu 4-idroksibenzojku, l-aċidu sorbiku, l-aċidu salikiku u l-aċidu propjoniku fi prodotti kosmetiċi. Proċeduri separati jiddeskrivu l-identifikazzjoni ta' dawn il-preservattivi; id-determinazzjoni ta' l-aċidu propjoniku; u d-determinazzjoni ta' l-aċidu 4-idroksibenzojku, l-aċidu salikiku, l-aċidu sorbiku u l-aċidu benzojku.

2. **Definizzjoni**

L-ammonti tal-aċidu benzojku, l-aċidu 4-idroksibenzojku, l-aċidu salikiku, l-aċidu sorbiku u l-aċidu propjoniku determinati b'dan il-metodu huma espressi bħala persentaġġi bil-massa ta' l-aċidi hielsa.

## A. IDENTIFIKAZZJONI

1. **Prinċipju**

B'segwiment ta' l-estratt ta' l-aċidu/baži ta' preservattivi, l-estratt huwa analizzat bikromatografija ta' saff irqiq (TLC) li tuża derivitazzjoni tal-jum. Jiddependi mir-riżultati, l-identifikazzjoni hija kkonfermata bi kromatografija likwida ta' prestazzjoni għolja ta' (HPLC) jew, fil-każ ta' l-aċidu propjoniku, bil-kromatografija tal-gass (GC).

2. **Reaġenti**2.1. **Ġenerali**

Ir-reaġenti kollha għandhom ikunu ta' kwalità analitika. L-ilma użat għandu jkun ilma iddistillat, jew ilma ta' mill-anqas purità ekwivalenti

2.2. **Āċetun**2.3. **Diethyl ether**2.4. **Acetonitrile**2.5. **Toluene**2.6. **n-Hexane**2.7. **Paraffin, likwidu**2.8. **Acidu idrokloriku, 4 M**2.9. **Idrossidu tal-potassju, akweju, 4 M**2.10. **Klorin tal-ġir,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$** 2.11. **Karbonat tal-litjum,  $\text{Li}_2\text{CO}_3$** 2.12. **2-Bromo-2'-acetonaphthone**2.13. **4-Aċidu idroksibenzojku**2.14. **Aċidu salikiku**2.15. **Aċidu benzojku**2.16. **Aċidu sorbiku**2.17. **Aċidu propjoniku**

- 2.18. Soluzzjonijiet ta' Referenza
- Ipprepara 0,1 % (m/v) soluzzjonijiet (100 mg/100 ml) ta' kull waħda mill-hames preservattivi (2.13 sa 2.17) fi *diethyl ether*
- 2.19. Reaġent ta' derivazzjoni
- 0,5 % (m/v) soluzzjoni ta' 2-bromo-2'-acetonephthone (2.12) fi acetone (2.4) (50 mg/10 ml). Din is-soluzzjoni għandha tkun imhejjija kull gimgha u merfuha f'refriġerator
- 2.20. Soluzzjoni katalitika
- 0,3 % (m/v) soluzzjoni ta' karbonat tal-litjum (2.11) filma (300 mg/100 ml). Din is-soluzzjoni għandha tkun imhejjija friska
- 2.21. Solvent ta' l-iżvilupp
- Toluene* (2.5)/*Acetone* (2.2) (20:0,5, v/v)
- 2.22. Paraffin likwidu (2.7)/*n-hexane* (2.6) (1:2, v/v)

### 3. **Apparat**

Tagħmir ordinarju tal-laboratorju

- 3.1. Banju ta' l-ilma, li jista' jzomm temperatura ta' 60 °C
- 3.2. Tank ta' l-iżvilupp
- 3.3. Sors ta' dawl ultraviolet, 254 u 366 nm
- 3.4. Folji ta' saff irqiq, Kieselgel 60, minghajr indikatur florixxenti, 20 x 20 ċm, hxuna tal-folja 0,25 mm b'żona ta' koncentrazzjoni 2,5 x 20 ċm (Merck 11845, jew ekwivalenti)
- 3.5. Mikro-siringa, 10 µl
- 3.6. Mikro-siringa, 25 µl
- 3.7. Forn, kapaċi li jzomm temperaturi sa 105 °C
- 3.8. 50-ml tubi tal-ħġieġ b'tapp bil-kamin
- 3.9. Karta tal-filtru, diametru 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband No 5892, jew ekwivalenti
- 3.10. Karta ta' l-indikazzjoni universali tal-pH, pH 1-11
- 3.11. 5-ml vijali tal-ħġieġ għal kampjuni
- 3.12. Evaporatur b'pellikola rotanti (Rotavapor jew ekwivalenti)
- 3.13. *Hot plate*

### 4. **Proċedura**

- 4.1. Thejjija tal-kampjun

Iżen bejn wieħed u iehor 1 g tal-kampjun f'tubu tal-ħġieġ 50-ml b'tapp bil-kamin (3.8). Żid erba taqtiriet ta' l-aċidu idrokloriku 4 M (2.8) u 40 ml acetone (2.2). Għal prodotti bażiċi qawwija bħalma huwa sapun tal-banju, 20 qattra ta' l-aċidu idrokloriku 4 M (2.8) għandhom ikunu miżjudi. Ikkonferma li l-pH huwa kważi tnejn, uża karta indikatur (3.10). Għalaq it-tubu u harrek b'saħħa qawwija għal minuta.

Jekk ikun hemm il-ħtieġa biex tkun iffacilitata l-estrazzjoni tal-preservattivi fil-fazi ta' l-acetone, saħħan bil-mod it-tahlita għal madwar 60 °C biex tholl il-fazi likwida.

Kessaħ is-soluzzjoni għat-temperatura tal-kamra u saffiha minn karta tal-filtru (3.9) f'garafina konika.

Ittrasferixxi 20 ml tal-filtrat lejn 200-ml garafina konika, žid 20 ml ilma u ħawwad. Aġġustja il- pH tat-tahlita għal madwar 10 bil-idrossidu tal-putassa 4 M (2.9), tuża karta indikatur (3.10) biex tkejjel il- pH.

Žid 1 g klorin tal-gir (2.10) u harrek b'saħħa qawwija. Saffi minn karta tal-filtru (3.9) ġewwa 250-ml lembut ta' separazzjoni li jkun fih 75 ml *diethyl ether* (2.3) u harrek bil-qawwa għal minuta. Hallieh jissepara u iġbed il-s-saff akweju fi 250 ml garafina konika. Warrab is-saff ta' l-eteri. Uża karta indikatur (3.10), aġġustja l-pH tas-soluzzjoni akwea għal approssimament tnejn bl-aċidu idrokloriku 4 M (2.8). Žid 10 ml *diethyl ether* (2.3), aghmel tapp fil-garafina u harrek bil-qawwa għal madwar minuta. Hallieh jissepara u ttrasferixxi s-saff ta' l-eteri lejn evaporatur tal-pellikola rotanti (3.12). Warrab is-saff akweju.

Evapora il-folja ta' l-eteri kwazi għax-xott u holl mill-ġdid ir-residwu fi 1 ml of *diethyl ether* (2.3). Trasferixxi is-soluzzjoni f'vijal ta' kampjun (3.11).

#### 4.2. Kromatografija ta' saff irqieq

Għall-kull waħda mir-referenzi u l-kapjuni li għandhom ikunu ikkromatografati, applika approssimament 3  $\mu$ l ta' soluzzjoni ta' *lithium carbonate* (2.20) u b'siringa (3.5) f'distanzi ugwali fuq il-linja tal-bidu fiż-żona ta' koncentrament ta' pjanċa TLC (3.4) u nixxef f'kurrent ta' arja friska.

Ittrasferixxi il-pjanċa TLC lejn *hot plate* (3.13), saħħan għal 40 °C, sabiex it-tikek jinżammu żgħar kemm jista' jkun possibbli. B'mikrosiringa (3.5) applika 10  $\mu$ l ta' kull waħda mis-soluzzjonijiet ta' referenza (2.18) u s-soluzzjoni kampjun (4.1) fuq il-linja tal-bidu fuq il-pjanċa, fil-postijiet eżatti ta' fejn tkun għet applikata s-soluzzjoni tal-*lithium carbonate*.

Finalment applika approssimament 15  $\mu$ l reaġent tad-derivazzjoni (2.19) (soluzzjoni *2-bromo-2'-acetonephthone*), erġa fuq l-istess post eżatt fejn is-soluzzjonijiet ta' referenza/kampjun u s-soluzzjoni tal-*lithium carbonate* kienu ġew applikati.

Saħħan il-pjanċa TLC ġewwa forn (3.7) fi 80 °C għal 45 minuta. Wara li tkessah, żviluppa l-pjanċa f'tank (3.2), li jkun ekwilibrat għal 15-il minuta (mingħajr l-użu ta' l-inforra tal-karta tal-filtru), bl-użu ta' solvent ta' l-iżvilupp 2.21 (*toluene/acetone*), sa kemm il-wiċċ tas-solvent ikun laħaq distanza ta' 15 cm (dan jista' jieh approssimament 80 minuta).

Nixxef il-pjanċa f'arja friska u eżamina t-tikkek li jżviluppaw taht dawl UV (3.3). Biex titqawwa l-florixxenza tat-tikkek dghajfa, il-pjanċa TLC tista tkun għet imdahħla fil-paraffin/n-*hexane* likwidu (2.22).

### 5. Identifikazzjoni

Ikkalkula l-R<sub>f</sub> għal kull tikka.

Qabbel l-R<sub>f</sub> u l-imġieba taht radjazzjoni UV miksuba għall-kampjun ma' dak akwistat għas-soluzzjonijiet ta' referenza.

Hejji konklużjoni preliminari rigward il-presenza u l-identità tal-preservattivi preżenti. Wettaq il-HPLC deskritt fit-Taqsima B, jew, meta jidher li l-aċidu propjoniku jkun preżenti, il-GC deskritt fit-Taqsima Ċ. Qabbel iż-żmien ta' retenzjoni hekk akwistat ma daww tas-soluzzjonijiet ta' referenza.

Għaqqad ir-riżultati mill-TLC u HPLC jew GC u ibbaża l-identifikazzjoni finali tal-preservattivi preżenti fil-kampjun fuq ir-riżultati kombinati.

#### B. DETERMINAZZJONI TA' L-AĊIDU BENZOJKU, L-AĊIDU 4-IDROKSIBENZOJKU, L-AĊIDU SORBIKU U L-AĊIDU SALICILIKU

##### 1. Prinċipju

Wara l-aċidifikazzjoni, il-kampjun ikun estratt minn tahlita ta' etanol u ilma. Wara l-filtrazzjoni l-preservattivi huma iddeterminati bi kromatografija likwida ta' prestazzjoni għolja (HPLC).

##### 2. Reaġenti

2.1. Ir-reaġenti kollha għandhom ikunu ta' kwalità analitika, u tajbin għal HPLC fejn xieraq. L-ilma użat għandu jkun ilma iddistillat, jew ilma ta' mill-anqas purità ekwivalenti

2.2. Etanol, assolut

2.3. 4-aċidu idroksibenzojku

- 2.4. Aċidu saliciku
- 2.5. Aċidu benzojku
- 2.6. Aċidu sorbiku
- 2.7. Aċetat tas-sodju, (CH<sub>3</sub>COONa.3H<sub>2</sub>O)
- 2.8. Aċidu aċetiku, (α)<sub>4</sub><sup>20</sup> = 1,05 g/ml
- 2.9. Aċetonitril
- 2.10. Aċidu sulfuriku, 2 M
- 2.11. Idrossidu tal-putassa, akweju, 0.2 M
- 2.12. 2-aċidu Metoksibenzojku
- 2.13. Tahlita Etanol/ilma
- Hallat disa' volumi ta' etanol (2.2) u volum wiehed ta' ilma (2.1)
- 2.14. Soluzzjoni ta' standard intern
- Hejji soluzzjoni li jkun fiha approssimament 1 g 2-aċidu metoksibenzojku (2.12) fi 500 ml tahlita etanol/ilma (2.13)
- 2.15. Fazi mobbli għal HPLC
- 2.15.1. *Buffer* ta' l-aċetat: ma' 1 l ta' ilma žid 6,35 g aċetat tas-sodju (2.7) u 20,0 ml aċidu aċetiku (2.8) u ħallat
- 2.15.2. Hejji l-fazi mobbli bit-tahlit ta' disa' volumi tal-*buffer* aċetiku (2.15.1) u volum wiehed ta' *acetonitrile* (2.9)
- 2.16. Soluzzjoni preservattiva ta' ħażna
- B'eżatezza iżen approssimament 0,05 g 4-aċidu idroksibenzojku (2.3), 0,2 g aċidu saliciku (2.4), 0,2 g aċidu benzojku (2.5) u 0,05 g aċidu sorbiku (2.6) fi 50-ml f'garafina volumetrika u wassal għal volum b'tahlita ta' etanol/ilma (2.13). Aħżen din is-soluzzjoni f'refriġeratur. Din is-soluzzjoni hija stabbli għal ġimgħa waħda
- 2.17. Soluzzjonijiet standard ta' preservattiv
- Trasferixxi rispettivament 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 u 0,50 ml tas-soluzzjoni tal-ħażna (2.16) f'serje ta' garafini volumetriċi ta' 20-ml. F'kull garafina, žid 10,00 ml soluzzjoni ta' standard intern (2.14) u 0,5 ml aċidu sulfuriku 2 M (2.10). Wassal għal volum b'tahlita ta' etanol/ilma (2.13). Dawn is-soluzzjonijiet għandhom ikunu ippreparati friski
3. **Apparat**
- Tagħmir normali tal-laboratorju mhux mod iehor speċifikat, u:
- 3.1. Banju ta' ilma, f'temperatura ta' 60 °C
- 3.2. Kromatografu likwidu ta' prestazzjoni għolja b'*detector* ta' *wavelength* UV varjabbli u sistema ta' injezzjoni ta' 10- $\mu$ l.
- 3.3. Kolonna analitika
- Azzar inossidabbli, tul 12,5 sa 25 cm, dijametru intern 4,6 mm, ippakkjat bi Nucleosil 5C18, jew ekwivalenti
- 3.4. Karta ta' filtru, dijametru: 90 mm, Schleicher u Schull, Weissband No 5892, jew ekwivalenti
- 3.5. 50-ml tubi tal-ħġieġ b'tapp bil-kamin

- 3.6. 5-ml vijali tal-ħġieġ għal kampjuni
- 3.7. Frak tat-tgħolija, *carborundum*, daqs 2 to 4 mm, jew ekwivalenti

#### 4. Proċedura

- 4.1. Thejġija tal-kampjun
- 4.1.1. Thejġija tal-kampjun mingħajr iż-żieda ta' standard intern

Iżen 1 g tal-kampjun f'tubu tal-ħġieġ 50-ml b'tapp bil-kamin (3.5). Pipetta 1,00 ml aċidu sulfuriku 2 M (2.10) u 40,0 ml etanol/ilma (tahlita) (2.13) f'tubu. Żid approssimament 1 g ta' frak tat-tgħolija (3.7), għalaq it-tubu u harrek bil-qawwi mill-anqas għal minuta sa kemm sospenzjoni omoġenizzata tkun miksuba. Biex tiffacilita l-estrazzjoni tal-preservattivi fil-fażi ta' l-etanol, qiegħed it-tubu għal eżattament ħames minuti f'banju ta' ilma (3.1) u żomm f'60 °C.

Kessah it-tubu immedjatament taht tnixxija ta' ilma kiesah u ahzen l-estratt fi 5 °C għal siegħa.

Saffi l-estratt minn karta filtru (3.4). Trasferixxi approssimament 2 ml ta' l-estratt f'vijali ta' kampjun (3.6). Ahzen l-estratt fi 5 °C u wettaq id-determinazzjoni HPLC fi żmien 24 siegħa tat-thejġija.

- 4.1.2. Thejġija ta' kampjun mingħajr iż-żieda ta' standard intern

Iżen sa tliet postijiet decimali  $1 \pm 0,1$  g (a gramma) tal-kampjun f'tubu tal-ħġieġ 50-ml b'tapp bil-kamin (3.5). Żid b'pipetta 1,00 ml aċidu sulfuriku 2 M (2.10) u taħlita ta' 30,0 ml etanol/ilma (2.13). Żid approssimament 1 g ta' frak tat-tgħolija (3.7) u 10,000 ml soluzzjoni ta' standard intern (2.14). Għalaq it-tubu u harrek bil-qawwi għal mill-anqas minuta sa kemm sospenzjoni omoġenizzata tkun miksuba. Biex tiffacilita l-estrazzjoni tal-preservattivi fil-fażi ta' l-etanol, qiegħed it-tubu għal eżattament ħames minuti f'banju ta' l-ilma (3.1) u żomm f'60 °C.

Kessah it-tubu immedjatament taht tnixxija ta' ilma kiesah u ahzen l-estratt fi 5 °C għal siegħa.

Saffi l-estratt minn karta filtru (3.4). Trasferixxi approssimament 2 ml tal-filtrat f'vijali ta' kampjun (3.6). Ahzen il-filtrat fi 5 °C u wettaq id-determinazzjoni HPLC fi żmien 24 siegħa tat-thejġija.

- 4.2. Kromatografija likwida ta' prestazzjoni għolja

Fazi mobbli: *buffer* ta' *acetonitrile*/aċetat (2.15).

Aġġusta ir-rata ta' ċirkolazzjoni tal-fażi mobbli mil-kolonna ta'  $2,0 \pm 0,5$  ml/minuta. Qiegħed id-*detector* tal-*wavelength* għal 240 nm.

- 4.2.1. Kalibrazzjoni

Injetta 10  $\mu$ l porzjonijiet ta' kull soluzzjoni standard ta' preservattiv (2.17) fi kromatografija likwida (3.2). Għal kull soluzzjoni iddetermina ir-relattività tal-qċaċet l-aktar għolja tal-preservattivi investigati lejn l-għoli tal-quċċata ta' l-istandard intern miksuba mill-kromatogrammi. Pingi grafika ta' kull preservattiv b'relazzjoni għar-relattività ta' l-għoli tal-quċċata tal-konċentrament ta' kull soluzzjoni standard.

Aċċerta li r-ralizzazzjoni lineari tkun miksuba għas-soluzzjonijiet standard fil-proċedura tal-kalibrazzjoni.

- 4.2.2. Determinazzjoni

Injetta 10  $\mu$ l tal-kampjun estratt (4.1.1) fil-kromatografija likwida (3.2) u żomm nota tal-kromatogramma. Injetta 10  $\mu$ l tas-soluzzjoni standard tal-preservattiv (2.17) u żomm nota tal-kromatogramma. Ikkumpara il-kromatogrammi mhejġija. Jekk il-kromatografija ta' l-estratt tal-kampjun (4.1.1) l-ebda quċċata ma tidher li tkun preżenti li jkollha approssimament l-istess żmien ta' retenzjoni bħal 2-aċidu metoksibenzojku (standard intern rakkomandat), injetta 10  $\mu$ l tal-kampjun estratt b'żieda ta' standard intern (4.1.2) fil-kromatografija likwida u innota il-kromatografija.

Jekk quċċata li tfixkel tkun osservata fil-kromatogramma tal-kampjun estratt (4.1.1) li jkollha l-istess żmien ta' retenzjoni bħall-aċidu 2-metoksibenzojku, standard intern ieħor xieraq għandha tkun magħżula. (Jekk waħda mill-preservattivi investigata tkun nieqsa mill-kromatogramma, dan il-preservattiv jista' jintuża bhala standard intern.)

Aċċerta jekk il-kromatogrammi miksuba għal soluzzjoni standard u s-soluzzjoni kampjun jilhqax dawn il-htigijiet li ġejjin:

- il-quċċata tas-separazzjoni ta' l-aġħar par separat għandha tkun mill-anqas 0,90. (Għal definizzjoni tal-quċċata tas-separazzjoni, ara l-figura 1).

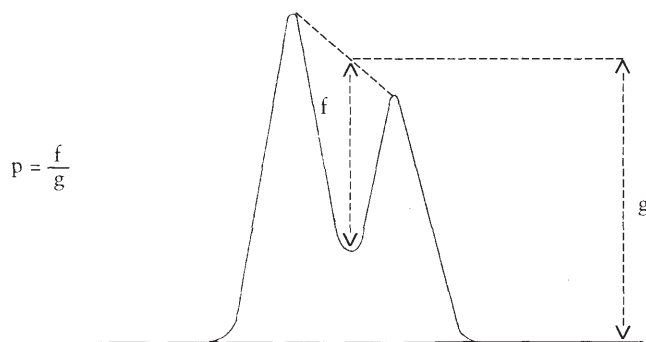


Figura 1: Quċċata tas-separazzjoni

Jekk is-separazzjoni meħtieġa ma tkunx miksuba, jew għandha tkun użata kolonna aktar effiċjenti, jew il-faži mobbli tal-kompożizzjoni għandha tkun aġġustata sakemm il-ħtieġa tkun intlaħqet.

- Il-fattur ta' l-assimetrija, mill-qċaċet kollha miksuba għandha tkun fil-medda ta' bejn 0,9 sa 1,5. (Għal definizzjoni tal-fattur tal-quċċata tas-separazzjoni, ara l-figura 2). Biex tinżamm nota tal-kromatogramma għad-determinar tal-fattur ta' l-assimetrija, mappa tal-veloċità ta' mill-anqas 2 ċm/minuta hija rakommandata.

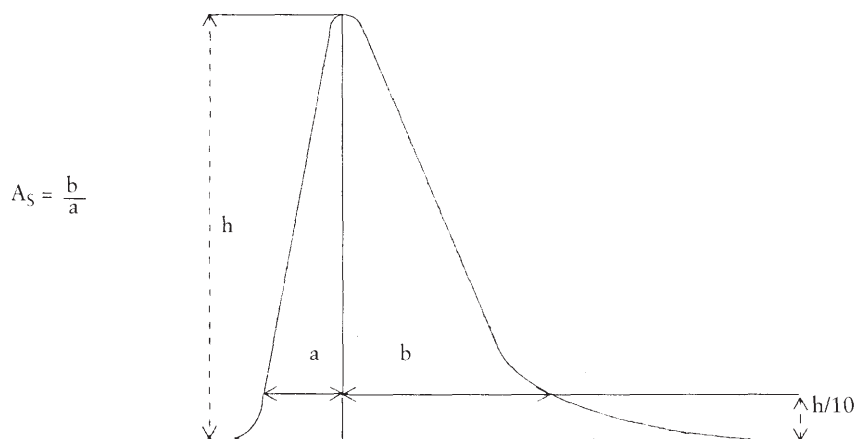


Figura 2: Fattur tal-quċċata ta' l-assimetrija

- Linja bażika stabbli għandha tkun miksuba.

## 5. Kalkolu

Uża r-relativitajiet ta' l-gholjiet tal-quċċata tal-preservattivi investigati sa l-gholi tal-quċċata ta' l-aċidu 2-metoksibenżojku (standard intern) u tal-grafika tal-kalibrazzjoni biex ikun ikkalkolat il-konċentrament ta' preservattivi aċidużi fis-soluzzjoni kampjun. Ikkalkola l-aċidu benżojku, l-aċidu 4-idroksibenżojku, l-aċidu sorbiku jew aċidu salkiliku tal-kontenut fil-kampjun, bhala persentaġġ bil-massa ( $x_i$ ), bl-uża tal-formula:

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

li fiha:

a = il-massa (g) tal-porzjon tal-prova (4.1.2),

b = il-konċentrazzjoni ( $\mu\text{g/ml}$ ) tal-preservattiv fil-kampjun ta' l-estratt (4.1.2) miksub mill-grafika tal-kalibrazzjoni.

## 6. Ripetibilità<sup>(1)</sup>

Għal kontenut ta' l-aċidu 4-idroksibenzojku ta' 0,40 %, id-differenza bejn ir-riżultati ta' żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandhiex teċċedi valur assolut ta' 0,035 %.

Għal kontenut ta' aċidu benzojku ta' 0,50 %, id-differenza bejn ir-riżultati ta' żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandhiex teċċedi valur assolut ta' 0,050 %.

Għal kontenut ta' l-aċidu salikliku ta' 0,50 %, id-differenza bejn ir-riżultati ta' żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandhiex teċċedi valur assolut ta' 0,045 %.

Għal kontenut ta' l-aċidu sorbiku ta' 0,60 %, id-differenza bejn ir-riżultati ta' żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandhiex teċċedi valur assolut ta' 0,035 %.

## 7. Rimarki

7.1. Ir-riżultati ta' *ruggedness test* mwettqa fuq dan il-metodu indikaw li l-ammont ta' l-aċidu sulfuriku mizjud biex ikunu estratti l-aċidi mil-kampjun huma kritiku, u l-limiti mill-ammont tal-kampjun maħdum għandhom jinżammu fil-limiti stipulati.

7.2. Jekk mixtieq, kolonna xierqa ta' harsien għandha tintuża.

## Ċ. DETERMINAZZJONI TA' L-AĊIDU PROPJONIKU

### 1. Skop u qasam ta' l-applikazzjoni

Dan il-metodu huwa addttat għad-determinazzjoni ta' l-aċidu propjoniku, konċentrazzjoni massima 2 % (m/m) fi prodotti kosmetiċi.

### 2. Definizzjoni

Il-konċentrazzjoni ta' l-aċidu propjoniku imkelja b'dan il-metodu hija espressa bhala persentaġġ bil-massa (% m/m) tal-prodott.

### 3. Prinċipju

Wara l-estrazzjoni ta' l-aċidu propjoniku mill-prodott, id-determinazzjoni hija mwettqa permezz ta' kromatografija tal-gass bl-użu ta' l-aċidu 2-metilpropjoniku bhala standard intern.

### 4. Reaġenti

Ir-reaġenti kollha wżati għandhom ikunu ta' kwalità analitika; ilma iddistillat jew ilma ta' kwalità ekwivalenti għandu jintuża.

4.1. Etanol 96 % (v/v)

4.2. Aċidu propjoniku

4.3. 2-aċidu Metilpropjoniku

4.4. Aċidu ortofosforiku, 10 % (m/v)

4.5. Soluzzjoni ta' aċidu propjoniku

Iżen approssimament 1,00 g (p grammi) ta' l-aċidu propjoniku f'garafina volumetrika ta' 50-ml u wassal għal volum permezz ta' l-etanol (4.1)

4.6. Soluzzjoni ta' standard intern

Iżen approssimament 1,00 g (e grammi) ta' aċidu 2-metilpropjoniku f'garafina volumetrika ta' 50-ml u wassal għal volum permezz ta' l-etanol (4.1)

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



5. **Apparat**

- 5.1. Tagħmir normali tal-laboratorju; u:
- 5.2. Gass kromatografiku b'*detector* ta' jonizzazzjoni ta' fjamma
- 5.3. Tubu tal-ħġieġ (20 x 150 mm) b'tapp bil-kamin
- 5.4. Banju ta' ilma, f'temperatura ta' 60 °C
- 5.5. 10 ml siringi tal-ħġieġ b'membrana filtru (diametru tat-toqba: 0,45 µm)

6. **Proċedura**

## 6.1. Thejġija tal-kampjun

## 6.1.1. Thejġija tal-kampjun mingħajr l-istandard intern

F'tubu tal-ħġieġ (5.3), iżen approssimament 1 g tal-kampjun. Żid 0,5 ml ta' l-aċidu fosforiku (4.4) u 9,5 ml ta' l-etanol (4.1).

Għalaq it-tubu u harrek bil-qawwa. Jekk meħtieġ, poġġi t-tubu f'banju bl-ilma msahħan għal 60 °C (5.4) għal hames minuti sabiex tinhall kompletament il-fażi lipida. Kessah malajr taht l-ilma ġieri. Iffiltra l-parti tas-soluzzjoni minn filtru membrana (5.5). Kromotografika l-filtru fl-istess jum.

## 6.1.2. Thejġija tal-kampjun bl-istandard intern

Iżen sa tliet postijiet decimali  $1 \pm 0,1$  g (a grammi) tal-kampjun f'tubu tal-ħġieġ (5.3). Żid 0,5 ml ta' l-aċidu fosforiku (4.4), 0,50 ml ta' soluzzjoni ta' l-istandard intern (4.6) u 9 ml ta' l-etanol (4.1).

Għalaq it-tubu u harrek bil-qawwa. Jekk meħtieġ, poġġi t-tubu f'banju bl-ilma msahħan għal 60 °C (5.4) għal hames minuti sabiex tinhall kompletament il-fażi lipida. Kessah malajr taht ilma ġieri. Saffi parti mis-soluzzjoni minn filtru membrana (5.5). Kromotografika l-filtru fl-istess jum.

## 6.2. Kondizzjonijiet għall-kromatografija tal-gass

Dawn il-kondizzjonijiet ta' l-operat huma rrakomandati:

*Kolonna*

Tip	Azzar inossidabbli
Tul	2 m
Dijametru	1/8 "
Packing	10 % SP <sup>TM</sup> 1000 (jew ekwivalenti + 1 % H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> fuq Chromosorb WAW 100 to 120 mesh

*Temperatura*

Injettur	200 °C
Kolonna	120 °C
<i>Detector</i>	200 °C
Gass portatur	nitroġenu
Rata ta' ċirkolazzjoni	25 ml/min

## 6.3. Kromatografija

## 6.3.1. Kalibrazzjoni

F'serje ta' garafini volumetriċi 20-ml, trasferixxi b'pipetta 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 u 4,00 ml rispettivament tas-soluzzjoni ta' l-aċidu propjoniku (4.5). Ma' kull garafina volumetrika trasferixxi b'pipetta 1,00 ml ta' soluzzjoni ta' standard intern (4.6); tella l-volum bl-etanol (4.1) u hawwad. Is-soluzzjonijiet imħejġija b'dan il-mod ikun fihom e mg/ml ta' l-aċidu 2-metilpropjoniku bhala standard intern (jigifieri, 1 mg/ml jekk e = 1 000) u p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml acidu projoniku (jigifieri, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 mg/ml jekk p = 1 000).

Injetta 1 µl ta' kull waħda minn dawn is-soluzzjonijiet u ikseb il-kurva tal-kalibrazzjoni billi tpingi r-relattività tal-massa ta' l-aċidu propjoniku/aċidu 2-metilpropjoniku fuq il-perm-x u r-relattività tal-quċcata korrespondenti b'bażi ta' perm-y.

Aghmel tliet injezzjonijiet għal kull soluzzjoni u kkalkola l-medja tar-relattività tal-baži tal-quċċata.

#### 6.3.2. Determinazzjoni

Injetta 1  $\mu$ l tal-kampjun filtrat 6.1.1. Qabbel il-kromatogramma ma dik ta' wahda mis-soluzzjonijiet standard (6.3.1). Jekk il-quċċata tkun approssimament ta' l-istess retenzjoni ta' żmien bhall-aċidu 2-metilpropjoniku, ibdel l-istandard intern. Jekk l-ebda interferenza ma tkun osservata, injetta 1  $\mu$ l tal-kampjun filtrat 6.1.2 u kejjel il-baži tal-quċċata ta' l-aċidu propjoniku u l-quċċata ta' l-istandard intern.

Aghmel tliet injezzjonijiet għal kull soluzzjoni u kkalkola l-medja tar-relattività tal-baži tal-quċċata.

### 7. Kalkoli

7.1. Mill-kurva tal-kalibrazzjoni miksuba fi 6.3.1, akwista l-medja tal-massa (K) korrespondenti għar-relattività tal-quċċata kkalkolata fi 6.3.2.

7.2. Mir-relattività tal-massa hekk miksuba kkalkula l-kontenut ta' l-aċidu propjoniku tal-kampjun (X) bhala persentaġġ b'massa bl-użu tal-formula:

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

li fiha:

K = ir-relattività ikkalkolata fi 7.1,

e = massa fi grammi ta' l-istandard intern miżunha fi 4.6,

a = massa fi grammi tal-kampjun miżun fi 6.1.2.

Ressaq ir-rizultati lejn punt wiehed decimali.

### 8. Ripetibilità <sup>(1)</sup>

Għal kontenut ta' l-aċidu propjoniku ta' 2 % (m/m) id-differenza bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandiex teċċedi 0,12 %.

## II. IDENTIFIKAZZJONI U DETERMINAZZJONI TA' HYDROQUINONE, HYDROQUINONE MONOMETHYLETHER, HYDROQUINONE MONOETHYLETHER U HYDROQUINONE MONOBENZYLETHER FI PRODOTTI KOSMETIĊI

### A. IDENTIFIKAZZJONI

#### 1. Skop u qasam ta' l-applikazzjoni

Il-metodu jiddeskrivi is-sejba u l-identifikazzjoni ta' *hydroquinone*, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* u *hydroquinone monobenzylether (monobenzone)* fi prodotti kosmetiċi għal biex tkun iċċarata l-ġilda.

#### 2. Prinċipju

*Hydroquinone* u l-eteri tiegħu huma identifikabbli bi kromatografija ta' saff irqiq (TLC).

#### 3. Reaġenti

Ir-reaġenti kollha għandhom ikunu ta' kwalità analitika.

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

- 3.1. Etanol, 96 % (v/v)
- 3.2. Kloroform
- 3.3. *Diethyl ether*
- 3.4. Solvent ta' żvilupp:  
Kloroform/*Diethyl ether*, 66:33 (v/v)
- 3.5. Ammonia,
- 3.6. Aċidu askorbiku
- 3.7. *Hydroquinone*
- 3.8. *Hydroquinone monomethylether*
- 3.9. *Hydroquinone monoethylether*
- 3.10. *Hydroquinone monobenzylether (monobenzene)*
- 3.11. Soluzzjonijiet ta' Referenza  
Dawn is-soluzzjonijiet ta' referenza għandhom ikunu ippreparati friski, u huma stabbli għal jum wiehed.
  - 3.11.1. Iżen 0,05 g *hydroquinone* (3.7) ftubu-tat-test iggradwat fi 10-ml. Żid 0,250 g ta' l-aċidu askorbiku (3.6) u 5 ml ta' l-etanol (3.1). Żid l-ammonia (3.5) sa kemm il-pH ikun 10 u wassal il-volum għal 10 ml bl-etanol (3.1).
  - 3.11.2. Iżen 0,05 g *hydroquinone monomethylether* (3.8) ftubu-tat-test iggradwat fi 10-ml. Żid 0,250 g ta' l-aċidu askorbiku (3.6) u 5 ml ta' l-etanol (3.1). Żid l-ammonia (3.5) sa kemm il-pH ikun 10 u wassal il-volum għal 10 ml bl-etanol (3.1).
  - 3.11.3. Iżen 0,05 g *hydroquinone monoethylether* (3.9) ftubu-tat-test iggradwat fi 10-ml. Żid 0,250 g ta' l-aċidu askorbiku (3.6) u 5 ml ta' l-etanol (3.1). Żid l-ammonia (3.5) sa kemm il-pH ikun 10 u wassal il-volum għal 10 ml bl-etanol (3.1).
  - 3.11.4. Iżen 0,05 g *hydroquinone monobenzylether* (3.10) ftubu-tat-test iggradwat fi 10-ml. Żid 0,250 g ta' l-aċidu askorbiku (3.6) u 5 ml ta' l-etanol (3.1). Żid l-ammonia (3.5) sa kemm il-pH ikun 10 u wassal il-volum għal 10 ml bl-etanol (3.1).
- 3.12. Nitrat tal-fidda
- 3.13. 12-aċidu *Molybdophosphoric*
- 3.14. *Potassium ferricyanide hexahydrate*
- 3.15. *Ferric chloride, hexahydrate*
- 3.16. Reagenti ta' l-isprej
  - 3.16.1. Ma 5 % (m/v) soluzzjoni akwea tan-nitrat tal-fidda (3.12), iżid l-ammonia (3.5) sa kemm il-precipitat li jiffirma jinhall.  
Twissija:  
is-soluzzjoni ssir instabbli b'riskju ta' splużjoni jekk tithalla toqgħod u għandha tintrema malli tkun użata.
  - 3.16.2. 10 % (m/v) soluzzjoni ta' 12-aċidu *Molybdophosphoric* (3.13) fl-etanol (3.1).

- 3.16.3. Hejji 1 % (m/v) soluzzjoni akwea ta' *potassium ferricyanide* (3.14) u 2 % (m/v) soluzzjoni akwea ta' *ferric chloride* (3.15). Hawwad partijiet ugwali taż-żewġ soluzzjonijiet eżatt qabel l-użu.

#### 4. **Apparat**

Tagħmir normali tal-laboratorju; u:

- 4.1. Tagħmir TLC tas-soltu
- 4.2. Pjanċi TLC, lesti għall-użu: silica gel GHR/UV<sub>254</sub>; 20 × 20 cm (Machery, Nagel, jew ekwivalenti). Hxuna tas-saff 0,25 mm
- 4.3. Banju ultrasoniku
- 4.4. Magna taċ-ċentrifugazzjoni
- 4.5. Lampa UV, 254 nm

#### 5. **Proċedura**

- 5.1. Thejjija tal-kampjun

Iżen 3,0 g tal-kampjun f'tubu ggradwat fi 10-ml. Żid 0,250 g ta' l-aċidu askorbiku (3.6) u 5 ml ta' l-etanol (3.1). Aġġustja il-pH tas-soluzzjoni għal 10, billi tuża l-ammonja (3.5). Wassal il-volum għal 10 ml bl-etanol (3.1). Sodd it-tubu b'tapp u imoġenizza f'banju ultrasiniku għal 10 minuti. Iffiltra minn karta tal-filtru jew ċentrifuga fi 3 000 rpm.

- 5.2. TLC

- 5.2.1. Imla it-tank kromatografiku b'solvent ta' l-iżvilupp (3.4).

- 5.2.2. Qiegħed fuq pjanċa 2 µl tas-soluzzjonijiet ta' referenza (3.11) u 2 µl tas-soluzzjoni kampjun (5.1). Żviluppa fid-dlam f'temperatura ambjentali sa kemm is-solvent ikun emigra 15 ċm mill-bidu.

- 5.2.3. Nehhi mil-pjanċa u halliha tinxf f'temperatura tal-kamra.

- 5.3. Sejbien

- 5.3.1. Osserva l-pjanċa taħt dawl UV fi 254 nm, u mmarka il-pożizzjoni tat-tikek.

- 5.3.2. Sprejja l-pjanċa bi:

— reagent tan-nitrat tal-fidda (3.16.1), jew

— reagent 12-aċidu *Molybdophosphoric* (3.16.2); saħhan għal madwar 120 °C, jew

— soluzzjoni ta' *potassium ferricyanide* u soluzzjoni ta' *ferric chloride* (3.16.3).

#### 6. **Identifikazzjoni**

Ikkalkula l-valur tal-Rf għal kull tikka.

Qabbel it-tikek miksuba għas-soluzzjoni kampjun ma daww tas-soluzzjonijiet ta' referenza fir-rigward ta' il-valuri Rf tagħhom; il-kulur tat-tikek taħt radjazzjoni UV; u l-kuluri tat-tikek wara viżwalazzjoni ma reagenti tal-isprej.

Wettaq il-HPLC deskritta f'din is-sezzjoni li ġejja (B), u qabbel iż-żminijiet tar-retenzjoni miksuba għal quċcata (qċaċet) tal-kampjun ma daww tas-soluzzjonijiet ta' referenza.

Ikkombina r-rizultati minn TLC u HPLC biex tidentifika il-preżenza ta' *hydroquinone* u/jew ta' l-eteri tiegħu.

#### 7. **Rimarki**

Bil-kondizzjonijiet deskritti, il-valuri Rf li ġejjin kienu osservati:

<i>hydroquinone</i> :	0,32
<i>hydroquinone monomethylether</i> :	0,53
<i>hydroquinone monoethylether</i> :	0,55
<i>hydroquinone monobenzylether</i> :	0,58

## B. DETERMINAZZJONI

### 1. Skop u qasam ta' l-applikazzjoni

Dan il-metodu jispjefika proċedura għad-determinazzjoni ta' *hydroquinone*, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* u *hydroquinone monobenzylether* fi prodotti kosmetiċi għal biex tkun iċċarata l-ġilda.

### 2. Prinċipju

Il-kampjun huwa estratt b'tahlita ta' ilma/metanol permezz ta' shana bil-mod biex jinħall xi materjal lipidu. Determinazzjoni ta' l-analiti fis-soluzzjoni riżultanti hija mwettqa bi kromatografija likwida f' fażi maqluba kkombinata ma' *detection UV*.

### 3. Reaġenti

- 3.1. Ir-riagenti kollha għandhom ikunu ta' kwalità analitika. L-ilma użat għandu jkun ilma iddistillat, jew ilma ta' mill-anqas purità ekwivalenti
- 3.2. Metanol
- 3.3. *Hydroquinone*
- 3.4. *Hydroquinone monomethylether*
- 3.5. *Hydroquinone monethylether*
- 3.6. *Hydroquinone monobenzylether (monobenzone)*
- 3.7. *Tetrahydrofuran*, grad HPLC
- 3.8. Tahlita ilma/metanol 1:1 (v/v). Hallat volum wieħed ta' l-ilma ma volum wieħed ta' metanol (3.2)
- 3.9. Fażi mobbli: Tahlita ilma/tetrahydrofuran 45:55 (v/v). Hallat 45 volumi ta' tetrahydrofuran (3.7) u 55 volumi ta' l-ilma
- 3.10. Soluzzjoni ta' Referenza

Iżen 0,06 g ta' *hydroquinone* (3.3), 0,08 g *hydroquinone monomethylether* (3.4), 0,10 g *hydroquinone monoethylether* (3.5) u 0,12 g *hydroquinone monobenzylether* (3.6) f'garafina volumetrika ta' 50-ml. Holl u wassal il-volum b'metanol (3.2). Ipprepara s-soluzzjoni ta' referenza billi tholl 10,00 ml ta' din is-soluzzjoni ma' 50,00 ml b'tahlita ta' ilma/metanol (3.8). Dawn is-soluzzjonijiet għandhom ikunu ippreparati friski.

### 4. Apparat

Tagħmir normali tal-laboratorju; u:

- 4.1. Banju ta' l-ilma, li jista' jżomm temperatura ta' 60 °C
- 4.2. Kromatografu likwidu ta' prestazzjoni għolja b'*detector* ta' *wavelength UV* varjabli u sistema ta' injezzjoni ta' 10- $\mu$ l.
- 4.3. Kolonna analitika:

Kolonna kromatografika ta' l-azzar inossidabbli, tul 250 mm, dijametru intern 4,6 mm, ippakjata bi Zorbax *phenyl (phenethylsilane)* kemikament marbut fuq Zorbax SIL, *end-capped* bi *trimethylchlorosilane*, daqs tal-partikoli 6  $\mu$ m, jew ekwivalenti. Tgħamilx użu minn kolonna ta' harsien, hlief harsien *phenyl*, jew ekwivalenti

4.4. Karta tal-filtru, diametru 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband No 5892, jew ekwivalenti

## 5. Proċedura

5.1. Thejġija tal-kampjun

Iżen lejn tliet postijiet deċimali  $1 \pm 0,1$  g (gramma) tal-kampjun f'garafina volumetrika 50-ml. Xerred il-kampjun fi 25 ml ta' tahlita ta' ilma/metanol (3.8). Sodd il-garafina u harrek bil-qawwi sa kemm suspensjoni omoġenizzata tkun miksuba. Harrek mill-anqas għal minuta. Qiegħed il-garafina f'banju ta' l-ilma (4.1) miżmum fi 60 °C biex isahħah l-estrazzjoni. Kessaħ il-garafina, wassal il-volum b'ilma/metanol (3.8). Saffi l-estratt bl-użu ta' karta filtru (4.4). Wettaq id-determinazzjoni HPLC fi żmien 24 siegħa tat-thejġija ta' l-estratt.

5.2. Kromatografija likwida ta' prestazzjoni għolja.

5.2.1. Aġġustja r-rata ta' ċirkolazzjoni tal-fażi mobbli (3.9) lejn 1,0 ml/min u qiegħed id-detector tal-wavelength għal 295 nm.

5.2.2. Injetta 10 µl tas-soluzzjoni kampjun miksuba kif deskritta fit-Taqsima 5.1, u żomm nota tal-kromatogramma. Kejjel l-oqasma tal-quċċata. Wettaq kalibrizzjoni kif deskritta taħt 5.2.3. Qabbel il-kromatogrammi miksuba għall-kampjun u s-soluzzjonijiet standard. Uża l-oqasma tal-quċċata u l-fatturi ta' respons (RF) ikkalkolati skond 5.2.3. biex tkun ikkalkolata l-konċentrazzjoni ta' l-analiti fis-soluzzjoni kampjun.

5.2.3. Kalibrizzjoni

Injetta 10 µl tas-soluzzjoni ta' referenza (3.10) u żomm nota tal-kromatogramma. Injetta diversi drabi sa kemm qasam ta' quċċati konsistenti jkun akwistat.

Iddetermina l-fattur tar-reazzjoni RF<sub>i</sub>:

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

li fiha:

$P_i$  = qasam tal-quċċata għal *hydroquinone*, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* jew *hydroquinone monobenzylether*, u

$c_i$  = konċentrazzjoni (g/50 ml) fis-soluzzjoni ta' referenza (3.10) ta' *hydroquinone*, *hydroquinone monomethylether*, *hydroquinone monoethylether* jew *hydroquinone monobenzylether*.

Accerta jekk il-kromatogrammi miksuba għal soluzzjoni standard u s-soluzzjoni kampjun jilhqax dawn il-htigiet li ġejjin:

— il-quċċata tas-separazzjoni ta' l-għar par separat għandha tkun mill-anqas 0,90. (Għal definizzjoni tal-quċċata tas-separazzjoni, ara l-Figura 1).

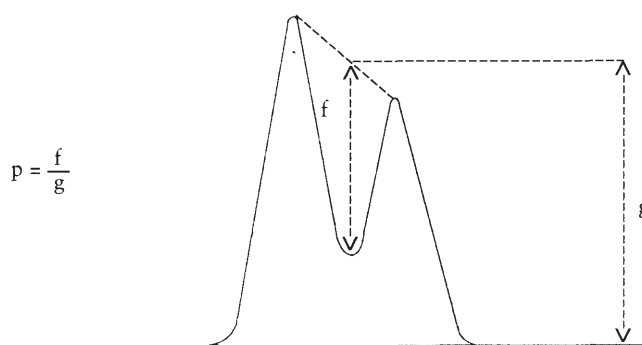


Figura 1: Quċċata tas-separazzjoni

Jekk is-separazzjoni mehtieġa ma tkunx miksuba, jew kolonna aktar effiċjenti għandha tkun użata, jew il-kompożizzjoni tal-faзи mobbli għandha tkun aġġustata sa kemm il-htieġa tkun intlahqet.

- Il-fattur ta' l-assimetrija  $A_s$ , għal l-qċaċet kollha miksuba għandha tkun fil-medda ta' bejn 0,9 sa 1,5. (Għal definizzjoni tal-fattur ta' l-assimetrija tal-quċċata, ara l-Figura 2). Biex tinżamm nota tal-kromatogramma għat-determinar tal-fattur ta' l-assimetrija, veloċità ta' mill-anqas 2 ċm/min hija rakkomandata.

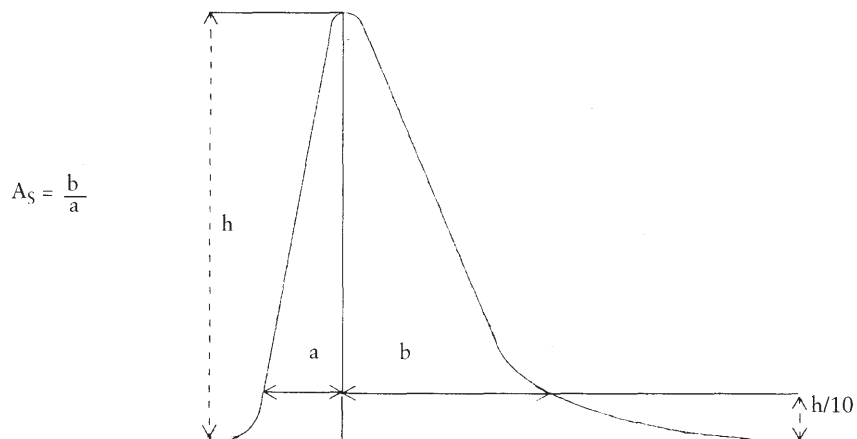


Figura 2: Fattur ta' quċċata ta' l-assimetrija

- bazika stabbli għandha tkun miksuba.

## 6. Kalkolu

Uża l-qasam tal-quċċata analita biex tikkalkula il-koncentrazzjoni(jiet) ta' l-analita(i) fil-kampjun. Ikkalkola l-koncentrazzjoni ta' l-analita fil-kampjun bhala persentaġġ skond il-massa, ( $x_i$ ) billi tuża l-formula:

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

li fiha:

$a$  = massa tal-kampjun fi grammi, u

$b_i$  = qasam tal-quċċata ta' l-analita  $i$  fil-kampjun.

## 7. Ripetibbiltà<sup>(1)</sup>

- 7.1. Għal kontenut ta' *hydroquinone* ta' 2,0 %, id-differenza bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandix teċċedi valur assolut ta' 0,13 %.
- 7.2. Għal kontenut ta' *hydroquinone monomethylether* ta' 1,0 %, id-differenza bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandix teċċedi valur assolut ta' 0,1 %.
- 7.3. Għal kontenut ta' *hydroquinone monoethylether* ta' 1,0 %, id-differenza bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandix teċċedi valur assolut ta' 0,11 %.
- 7.4. Għal kontenut ta' *hydroquinone monobenzylether* ta' 1,0 %, id-differenza bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet parallelli mwettqa fuq l-istess kampjun m'għandix teċċedi valur assolut ta' 0,11 %.

## 8. Riproduċibbiltà<sup>(1)</sup>

- 8.1. Għal kontenut ta' *hydroquinone* ta' 2,0 % id-differenzi bejn ir-rizultati taż-żewġ determinazzjonijiet imwettqa fuq l-istess kampjun f'kondizzjonijiet differenti (laboratorji differenti, operaturi differenti, tghamir differenti u/jew żmien differenti) m'għandux jeċċedi l-valur assolut ta' 0,37 %.

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

- 8.2. Għal kontenut ta' *hydroquinone monomethylether* ta' 1,0 % id-differenzi bejn ir-riżultati taż-żewġ determinazzjonijiet imwettqa fuq l-istess kampjun f'kondizzjonijiet differenti (laboratorji differenti, operaturi differenti, tghamir differenti u/jew żmien differenti) m'għandux jeċċedi l-valur assolut ta' 0,21 %.
- 8.3. Għal kontenut ta' *hydroquinone monomethylether* ta' 1,0 % id-differenzi bejn ir-riżultati taż-żewġ determinazzjonijiet imwettqa fuq l-istess kampjun f'kondizzjonijiet differenti (laboratorji differenti, operaturi differenti, tghamir differenti u/jew żmien differenti) m'għandux jeċċedi l-valur assolut ta' 0,19 %.
- 8.4. Għal kontenut ta' *hydroquinone monobenzylether* ta' 1,0 % id-differenzi bejn ir-riżultati taż-żewġ determinazzjonijiet imwettqa fuq l-istess kampjun f'kondizzjonijiet differenti (laboratorji differenti, operaturi differenti, tghamir differenti u/jew żmien differenti) m'għandux jeċċedi l-valur assolut ta' 0,11 %.

## 9. Rimarki

- 9.1. Meta l-kontenut *hydroquinone* li jkun konsiderevolment għola minn 2 % jinstab u stima b'akkuratezza tal-kontenut tkun meħtieġa, il-kampjun estratt (5.1) għandhu jkun dilwit għal koncentrazzjoni simili li kienet tkun miksuba minn kampjun li jkun fiha 2 % *hydroquinone*, u d-determinazzjoni tkun irrepertuta.

(F'uħud mill-istrumenti l-assorbazzjoni tista tkun 'il barra mill-medda lineari tad-*detector* għal koncentrazzjoni għolja ta' *hydroquinone*.)

- 9.2. Interferenzi

Il-metodu deskritt hawn fuq jippermetti d-determinazzjoni ta' *hydroquinone* u l-eteri tiegħu fi prova waħda isokratika. L-użu tal-kolonna phenyl tassicura retenzjoni suffiċjenti għal *hydroquinone*, li ma tistax tkun iggarantita meta l-kolonna C18 tkun użata mal-fażi mobbli deskritta.

B'dana kollu, dan il-metodu huwa sugġett għall-interferenzi minn numru ta' parabeni. F'każi bħal dawn id-determinazzjoni għandha tkun irrepertuta billi tintuża sistema ta' fażijiet mobbli u stazzjonarja differenti. Metodi xierqa jistgħu jinstabu fir-referenzi 1 u 2, jiġifieri:

Kolonna: Zorbax ODS, 4,6 mm × 25 mm, jew ekwivalenti:

temperatura: 36 °C

ċirkolazzjoni: 1,5 ml/min

fażi mobbli:

għal *hydroquinone*: metanol/ilma 5/95 (V/V)

għal *hydroquinone monomethylether*: metanol/ilma 30/70 (V/V)

għal *hydroquinone monobenzylether*: metanol/ilma 80/20 (V/V) <sup>(1)</sup>

Kolonna: Spherisorb S5-ODS, jew ekwivalenti:

fażi mobbli: ilma/metanol 90/10 (V/V)

ċirkolazzjoni: 1,5 ml/min.

Dawn il-kondizzjonijiet huma addatti għal *hydroquinone* <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> M. Herpol-Borremans u 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 u I. Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, p. 129.