

31995L0032

L 178/20

EIROPAS KOPIENU OFICIĀLAIS VĒSTNESIS

28.7.1995.

KOMISIJAS SESTĀ DIREKTĪVA 95/32/EK**(1995. gada 7. jūlijs)****attiecībā uz analīzes metodēm, kas vajadzīgas, lai pārbaudītu kosmētikas līdzekļu sastāvu****(dokuments attiecas uz EEZ)**

EIROPAS KOPIENU KOMISIJA,

ņemot vērā Eiropas Kopienas dibināšanas līgumu,

ņemot vērā Padomes 1976. gada 27. jūlija Direktīvu 76/768/EEK par dalībvalstu tiesību aktu tuvināšanu attiecībā uz kosmētikas līdzekļiem ⁽¹⁾, kurā jaunākie grozījumi izdarīti ar Direktīvu 94/32/EK ⁽²⁾, un jo īpaši tās 8. panta 1. punktu,

tā kā Direktīvā 76/768/EEK ir paredzēta kosmētikas līdzekļu oficiālā testēšana, lai nodrošinātu to Kopienas noteikumos izklāstīto nosacījumu izpildi, kuri attiecas uz kosmētikas līdzekļu sastāvu;

tā kā pēc iespējas īsā laikā būtu jānosaka visas vajadzīgās analīzes metodes; tā kā dažas metodes jau ir pieņemtas Komisijas Direktīvā 80/1335/EEK ⁽³⁾, kas grozīta ar Direktīvu 87/143/EEK ⁽⁴⁾, Direktīvā 82/434/EEK ⁽⁵⁾, kura grozīta ar Direktīvu 90/207/EEK ⁽⁶⁾, Direktīvā 83/514/EEK ⁽⁷⁾, Direktīvā 85/490/EEK ⁽⁸⁾ un Direktīvā 93/73/EEK ⁽⁹⁾;

tā kā sestais posms ir benzoscābes, 4-hidroksibenzoscābes, sorbīnskābes, salicīlscābes un propionskābes kvalitatīva un kvantitatīva noteikšana kosmētikas līdzekļos un hidrohinona, hidrohinona monometilētera, hidrohinona monoetilētera un hidrohinona monobenzilētera kvalitatīva un kvantitatīva noteikšana kosmētikas līdzekļos;

tā kā šajā direktīvā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar atzinumu, ko sniegusi komiteja, kura izveidota, lai Direktīvu 76/768/EEK pielāgotu tehnikas attīstībai,

IR PIEŅĒMUSI ŠO DIREKTĪVU.

1. pants

Dalībvalstīs veic visus pasākumus, kas vajadzīgi, lai nodrošinātu to, ka, oficiāli testējot kosmētikas līdzekļus,

— kvalitatīvi un kvantitatīvi noteic benzoscābi, 4-hidroksibenzoscābi, sorbīnskābi, salicīlscābi un propionskābi,

— kvalitatīvi un kvantitatīvi noteic hidrohinonu, hidrohinona monometilēteri, hidrohinona monoetilēteri un hidrohinona monobenzilēteri

saskaņā ar pielikumā aprakstītajām metodēm.

2. pants

1. Dalībvalstīs ne vēlāk kā 1996. gada 30. septembrī stājas spēkā normatīvie un administratīvie akti, kas vajadzīgi, lai izpildītu šīs direktīvas prasības. Par to dalībvalstis tūlīt informē Komisiju.

Kad dalībvalstis pieņem minētos noteikumus, tajos ietver atsauci uz šo direktīvu, vai arī šādu atsauci pievieno to oficiālai publikācijai. Dalībvalstīs pieņem procedūru šādu atsauču izdarīšanai.

2. Dalībvalstis dara Komisijai zināmus savus tiesību aktu noteikumus, ko tās pieņem jomā, uz kuru attiecas šī direktīva.

3. pants

Šī direktīva stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc tās publicēšanas Eiropas Kopienų Oficiālajā Vēstnesī.

4. pants

Šī direktīva ir adresēta dalībvalstīm.

Briselē, 1995. gada 7. jūlijā

Komisijas vārdā —

Komisijas locekle

Emma BONINO

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

PIELIKUMS

I. BENZOSKĀBES, 4-HIDROKSIBENZOSKĀBES, SORBĪNSKĀBES, SALICILSKĀBES UN PROPIONSKĀBES KVALITATĪVA UN KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA KOSMĒTIKAS LĪDZEKĻOS

1. **Piemērošanas joma un nozare**

Ar šo metodi kvalitatīvi un kvantitatīvi noteic benzoskābi, 4-hidroksibenzoskābi, sorbīnskābi, salicilskābi un propionskābi kosmētikas līdzekļos. Atsevišķas procedūras ir aprakstītas šo konservantu kvalitatīvai noteikšanai; propionskābes kvantitatīvai noteikšanai; 4-hidroksibenzoskābes, salicilskābes, sorbīnskābes un benzoskābes kvantitatīvai noteikšanai.

2. **Noteikums**

Ar šo metodi kvantitatīvi noteiktos benzoskābes, 4-hidroksibenzoskābes, salicilskābes un propionskābes daudzumus izsaka brīvo skābju masas procentos.

A. KVALITATĪVA NOTEIKŠANA.

1. **Princips**

Pēc konservantu ekstrakcijas ar skābi/bāzi ekstraktu analizē plānslāņa hromatogrāfijā, derivatizējot uz plāksnītes. Atkarībā no rezultātiem kvantitatīvas noteikšanas rezultātu apstiprina augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfijā vai – propionskābei – gāzu hromatogrāfijā.

2. **Reaģenti**

2.1. Vispārīgi noteikumi.

Visiem reaģentiem jābūt ar analītisku kvalitāti. Jāizmanto destilēts vai vismaz līdzvērtīgas kvalitātes ūdens.

2.2. Acetons.

2.3. Dietilēteris.

2.4. Acetonitrils.

2.5. Toluols.

2.6. n-heksāns.

2.7. Šķidrums parafīns.

2.8. 4 M sālsskābe.

2.9. 4 M kālija hidroksīda šķīdums.

2.10. Kalcija hlorīds, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.2.11. Litija karbonāts, Li_2CO_3 .

2.12. 2-brom-2'-acetonaftons.

2.13. 4-hidroksibenzoskābe.

2.14. Salicilskābe.

2.15. Benzoskābe.

2.16. Sorbīnskābe.

2.17. Propionskābe.

- 2.18. Standartsšķidumi.
Sagatavo visu piecu konservantu (2.13. līdz 2.17. iedaļa) 0,1 % (m/V) šķidumus dietilēterī.
- 2.19. Derivatizācijas reaģents.
0,5 % (m/V) 2-brom-2'-acetonafona (2.12. iedaļa) šķīdums acetnitrilā (2.4. iedaļa) (50 mg/10 ml). Šis šķīdums būtu jāgatavo katru nedēļu un jāglabā ledusskapī.
- 2.20. Katalizatora šķīdums.
0,3 % (m/V) litija karbonāta (2.11. iedaļa) šķīdums ūdenī (300 mg/100 ml). Šis šķīdums būtu jāgatavo tieši pirms izmantošanas.
- 2.21. Attīstošais šķīdinātājs.
Toluols (2.5. iedaļa)/acetons (2.2. iedaļa) (20:0,5 V/V).
- 2.22. Šķīdrs parafīns (2.7. iedaļa)/n-heksāns (2.6. iedaļa) (1:2 V/V).

3. Iekārta

Parastais laboratorijas aprīkojums.

- 3.1. Ūdens vanna, kurā var uzturēt 60 °C temperatūru.
- 3.2. Attīstīšanas kamera.
- 3.3. Ultravioletās gaismas avots, 254 un 366 nm.
- 3.4. Plānslāņu plates, *Kieselgel 60*, bez fluorescēta indikatora, 20 × 20 cm, slāņa biezums – 0,25 mm, koncentrācijas zona – 2,5 × 20 cm (*Merck 11845* vai līdzvērtīgas).
- 3.5. Mikrošļirce, 10 µl.
- 3.6. Mikrošļirce, 25 µl.
- 3.7. Žāvēšanas skapis, kurā var uzturēt 105 °C temperatūru
- 3.8. Stikla mēģenes, 50 ml, ar skrūvējamu vāciņu.
- 3.9. Filtrpapīrs ar 90 mm diametru, *Schleicher & Schull, Weissband Nr. 5892* vai līdzvērtīgs.
- 3.10. Universālais pH indikatorpapīrs, pH 1 – 11.
- 3.11. Stikla parauga mēģenes, 5 ml.
- 3.12. Rotācijas ietvaicētājs (*Rotavapor* vai līdzvērtīgs).
- 3.13. Elektriskā plītiņa.

4. Procedūra

- 4.1. Parauga gatavošana.

Iesver aptuveni 1 g parauga 50 ml stikla mēģenē ar skrūvējamu vāciņu (3.8. iedaļa). Pievieno četrus pilienus 4 M sālskābes (2.8. iedaļa) un 40 ml acetona (2.2. iedaļa). Stipri bāziskiem kosmētikas līdzekļiem, piemēram, tualetes ziepēm, būtu jāpievieno 20 pilieni 4 M sālskābes (2.8. iedaļa). Ar indikatorpapīru (3.10. iedaļa) pārbauda, vai pH ir aptuveni divi. Noslēdz mēģeni un vienu minūti spēcīgi krata.

Ja konservantu ekstrakcija acetona fāzē jāpātrina, tad maisījumu uzmanīgi uzsilda līdz apmēram 60 °C, lai iegūtu šķidru fāzi.

Atdzesē šķīdumu līdz istabas temperatūrai un izfiltrē caur filtrpapīru (3.9. iedaļa) koniskā kolbā.

Pārnes 20 ml filtrāta uz 200 ml konisko kolbu, pievieno 20 ml ūdens un sajauc. Ar 4 M kālija hidroksīdu (2.9. iedaļa) noregulē maisījuma pH aptuveni uz 10, mērot pH ar indikatorpapīru.

Pievieno 1 g kalcija hlorīda (2.10. iedaļa) un spēcīgi sakrata. Izfiltrē caur filtrpapīru (3.9. iedaļa) 250 ml dalāmajā piltuvē, kur ir 75 ml dietilētera (2.3. iedaļa), un spēcīgi krata vienu minūti. Ļauj, lai atdalās ūdens fāze, un nosūc to 250 ml koniskajā kolbā. Izlej ētera slāni. Izmantojot indikatorpapīru (3.10. iedaļa), noregulē ūdens šķīduma pH aptuveni uz divi ar 4 M sālskābes šķīdumu (2.8. iedaļa). Pievieno 10 ml dietilētera (2.3. iedaļa), noslēdz kolbu un spēcīgi krata vienu minūti. Ļauj, lai atdalās ētera slānis, un pārnes to uz rotācijas ietvaicētāju (3.12. iedaļa). Izlej ūdens slāni.

Iztvaicē ētera slāni gandrīz sausu un atlikumu vēlreiz izšķīdina 1 ml dietilētera (2.3. iedaļa). Pārnes šķīdumu uz parauga mēģeni (3.11. iedaļa).

4.2. Plānslāņa hromatogrāfija.

Katram standartam un paraugam, kuram paredzēts uzņemt hromatogrammu, ar šļirci (3.5. iedaļa) vienādos attālumos uz plānslāņa hromatogrāfijas plātes (3.4. iedaļa) starta līnijas koncentrācijas zonā uznes 3 µl litija karbonāta šķīduma (2.20. iedaļa) un žāvē auksta gaisa plūsmā.

Pārnes plānslāņa hromatogrāfijas plati uz plītiņu (3.13. iedaļa), kas sakarsēta līdz 40 °C, lai plankumus saglabātu pēc iespējas mazus. Ar mikrošļirci (3.5. iedaļa) uznes 10 µl katra standartšķīduma (2.18. iedaļa) un parauga šķīduma (4.1. iedaļa) uz plātes starta līnijas, tieši tajos punktos, kur uzlikts litija karbonāta šķīdums.

Beidzot uznes uz plātes apmēram 15 µl derivatizācijas reaģenta (2.19. iedaļa) (2-brom-2'-acetonafona šķīduma) tieši tajos punktos, kur uzlikti standarta/parauga šķīdumi un litija karbonāta šķīdums.

Plānslāņa hromatogrāfijas plati 45 minūtes karsē žāvēšanas skapī (3.7. iedaļa) 80°C. Kad plate atdzesēta, kamerā (3.2. iedaļa), kas 15 minūtes stabilizēta (bez filtrpapīra izklājuma), to attīsta ar 2.21. iedaļā norādīto attīstīšanas šķīdinātāju (toluols/acetons), līdz šķīdinātāja fronte pavirzās par 15 cm (var būt vajadzīgas apmēram 80 minūtes).

Atdzešē plati auksta gaisa plūsmā un apskata iegūtos plankumus ultravioletā gaismā (3.3. iedaļa). Lai uzlabotu vājo plankumu fluorescenci, plānslāņa hromatogrāfijas plati var iegremdēt šķīdā parafīnā/n-heksānā (2.22. iedaļa).

5. Kvantitatīva noteikšana

Aprēķina katra plankuma R_f vērtību.

Salīdzina parauga un standarta šķīdumu R_f un izmaiņas ultravioletajos staros.

Izdara iepriekšēju secinājumu par konservantu klātbūtni un identitāti. Veic augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfiju, kā aprakstīts B iedaļā, vai – ja izrādās, ka paraugā ir propionskābe – gāzu hromatogrāfiju, kā aprakstīts C iedaļā. Salīdzina izdalīšanas laikus ar standarta šķīdumu izdalīšanas laikiem.

Galīgi kvalitatīvi nosakot konservantus paraugā, ņem vērā plānslāņa hromatogrāfijas un augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijas vai gāzu hromatogrāfijas rezultātus.

B. BENZOSKĀBES, 4-HIDROKSIBENZOSKĀBES, SORBĪNSKĀBES UN SALICILSKĀBES KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA.

1. Princips

Pēc skābināšanas paraugu ekstrahē ar etanola un ūdens maisījumu. Pēc filtrēšanas konservantus kvantitatīvi noteic augstas izšķirtspējas šķīduma hromatogrāfijā.

2. Reāģenti

2.1. Visiem reāģentiem jābūt ar analītisku kvalitāti un attiecīgos gadījumos piemērotiem augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijai. Jāizmanto destilēts vai vismaz līdzvērtīgas kvalitātes ūdens.

2.2. Absolūtais spirts.

2.3. 4-hidroksibenzoskābe.

- 2.4. Salicilskābe.
- 2.5. Benzoskābe.
- 2.6. Sorbīnskābe.
- 2.7. Nātrija acetāts ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$).
- 2.8. Etiķskābe, $(\alpha)_4^{20} = 1,05$ g/ml.
- 2.9. Acetonitrils.
- 2.10. 2 M sērskābe.
- 2.11. 0,2 M kālija hidroksīda šķīdums.
- 2.12. 2-metoksibenzoskābe.
- 2.13. Etanola/ūdens maisījums.
- Sajauc deviņas tilpuma vienības etanola (2.2. iedaļa) un vienu tilpuma vienību ūdens (2:1).
- 2.14. Iekšējā standarta šķīdums.
- Sagatavo šķīdumu, kas satur apmēram 1 g 2-metoksibenzoskābes (2.12. iedaļa) 500 mililitros etanola/ūdens maisījuma (2.13. iedaļa).
- 2.15. Kustīgā fāze augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogāfijai.
- 2.15.1. Acetāta buferšķīdums: 1 l ūdens pievieno 6,35 g nātrija acetāta (2.7. iedaļa) un 20,0 ml etiķskābes (2.8. iedaļa) un sajauc.
- 2.15.2. Sagatavo kustīgo fāzi, sajaucot deviņas tilpuma vienības acetāta buferšķīduma (2.15.1. iedaļa) un vienu tilpuma vienību acetonitrila (2.9. iedaļa).
- 2.16. Konservanta standartšķīdums.
- Precīzi iesver aptuveni 0,05 g 4-hidroksibenzoskābes (2.3. iedaļa), 0,2 g salicilskābes (2.4. iedaļa), 0,2 g benzoskābes (2.5. iedaļa) un 0,05 g sorbīnskābes (2.6. iedaļa) 50 ml mērkolbā un uzpilda līdz zīmei ar etanola/ūdens maisījumu (2.13. iedaļa). Šo šķīdumu glabā ledusskapī. Šķīdums ir stabils vienu nedēļu.
- 2.17. Konservantu standartšķīdumi.
- Attiecīgi 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 un 0,50 ml standartšķīduma (2.16. iedaļa) pārnes uz 20 ml mērkolbām. Katrā kolbā pievieno 10,00 ml iekšējā standarta šķīduma (2.14. iedaļa) un 0,5 ml 2 M sērskābes (2.10. iedaļa). Uzpilda līdz zīmei ar etanola/ūdens maisījumu (2.13. iedaļa). Šie šķīdumi jāgatavo tieši pirms izmantošanas.
3. **Iekārta**
- Parastais laboratorijas aprīkojums un
- 3.1. ūdens vanna, kurā temperatūra noregulēta uz 60 °C;
- 3.2. augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfs ar maināma viļņu garuma ultravioleto staru detektoru un 10 µl ievadišanas cilpu;
- 3.3. hromatogāfijas kolonna –
- nerūsējoša tērauda, 12,5 līdz 25 cm gara, ar 4,6 mm iekšējo diametru un *Nucleosil 5C18* vai līdzvērtīgu pildījumu;
- 3.4. filtrpapīrs ar 90 mm diametru, *Schleicher & Schull, Weissband Nr. 5892* vai līdzvērtīgs;
- 3.5. stikla mēģenes, 50 ml, ar skrūvējamu vāciņu;

- 3.6. stikla parauga mēģenes, 5 ml;
- 3.7. vārķermeņi, 2 līdz 4 mm, karborunda vai līdzvērtīgi.

4. Procedūra

4.1. Parauga gatavošana.

4.1.1. Parauga gatavošana, nepievienojot iekšējo standartu.

Iesver 1 g parauga 50 ml stikla mēģenē ar skrūvējamu vāciņu (3.5. iedaļa). Ar pipeti mēģenē iepilina 1,00 ml 2 M sērskābes (2.10. iedaļa) un 40,0 ml etanola/ūdens maisījuma (2.13. iedaļa). Pievieno aptuveni 1 g vārķermeņu (3.7. iedaļa), noslēdz mēģeni un spēcīgi krata vismaz vienu minūti, līdz rodas vienmērīga suspensija. Lai paātrinātu konservantu ekstrakciju etanola fāzē, liek mēģeni tieši uz piecām minūtēm ūdens vannā (3.1. iedaļa), kur uztur 60 °C.

Tūlīt atdzesē mēģeni auksta ūdens strūklā un vienu stundu tur ekstraktu 5 °C.

Izfiltrē ekstraktu caur filtrpapīru (3.4. iedaļa). Pārnes aptuveni 2 ml ekstrakta uz parauga mēģeni (3.6. iedaļa). Tur ekstraktu 5 °C, un 24 stundās veic kvantitatīvu noteikšanu augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijā.

4.1.2. Parauga gatavošana, pievienojot iekšējo standartu.

Ar precizitāti līdz trešajai zīmei aiz komata iesver $1 \pm 0,1$ g (a gramu) parauga 50 ml stikla mēģenē ar skrūvējamu vāciņu (3.5. iedaļa). Ar pipeti mēģenē iepilina 1,00 ml 2 M sērskābes (2.10. iedaļa) un 30,0 ml etanola/ūdens maisījuma (2.13. iedaļa). Pievieno aptuveni 1 g vārķermeņu (3.7. iedaļa) un 10,00 ml iekšējā standarta šķīduma (2.14. iedaļa). Noslēdz mēģeni un spēcīgi krata vismaz vienu minūti, līdz rodas vienmērīga suspensija. Lai paātrinātu konservantu ekstrakciju etanola fāzē, liek mēģeni tieši uz piecām minūtēm ūdens vannā (3.1. iedaļa), kur uztur 60 °C.

Tūlīt atdzesē mēģeni auksta ūdens strūklā, un vienu stundu tur ekstraktu 5 °C.

Izfiltrē ekstraktu caur filtrpapīru (3.4. iedaļa). Pārnes aptuveni 2 ml filtrāta uz parauga mēģeni (3.6. iedaļa). Tur filtrātu 5 °C, un 24 stundās veic kvantitatīvu noteikšanu augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijā.

4.2. Augstas izšķirtspējas šķīduma hromatogrāfija.

Kustīgā fāze: acetonitrila/acetāta buferšķīdums (2.15. iedaļa).

Noregulē kustīgās fāzes plūsmas ātrumu cauri kolonnai uz $2,0 \pm 0,5$ ml/minūtē. Detektora viļņu garumu noregulē uz 240 nm.

4.2.1. Kalibrēšana.

Ievada katra konservanta standartšķīduma (2.17. iedaļa) 10 µl devu šķīduma hromatogrāfā (3.2. iedaļa). Pēc iegūtajām hromatogrammām noteic konservantu standartšķīdumu piķu augstumu attiecības pret iekšējā standarta piķa augstumu. Konstruē katra konservanta līkni, attiecinoši šīs attiecības pret standartšķīdumu koncentrācijām.

Noteic, vai kalibrējot ar standartšķīdumiem, iegūst lineāru sakarību.

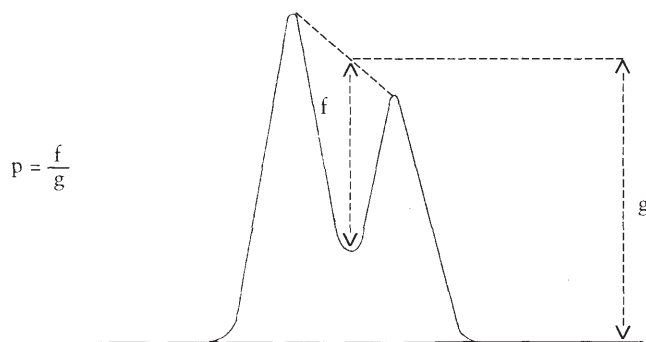
4.2.2. Kvantitatīva noteikšana.

Ievada 10 µl parauga ekstrakta (4.1.1. iedaļa) šķīduma hromatogrāfā (3.2. iedaļa) un uzņem hromatogrammu. Ievada 10 µl viena konservanta standartšķīduma (2.17. iedaļa) un uzņem hromatogrammu. Salīdzina iegūtās hromatogrammas. Ja parauga ekstrakta (4.1.1. iedaļa) hromatogrammā nav neviena piķa ar aptuveni tādu pašu izdalīšanas laiku, kāds ir 2-metoksibenzoskābei (ieteicams iekšējais standarts), tad šķīduma hromatogrāfā ievada 10 µl parauga ekstrakta, kam pievienots iekšējais standarts (4.1.2. iedaļa), un uzņem hromatogrammu.

Ja parauga ekstrakta (4.1.1. iedaļa) hromatogrammā ir traucējošas vielas piķis, kura izdalīšanas laiks ir aptuveni vienāds ar 2-metoksibenzoskābes piķa izdalīšanas laiku, tad būtu jāizvēlas cits iekšējais standarts. (Ja kāda analizējamā konservanta nav parauga hromatogrammā, tad šo konservantu var izmantot kā alternatīvu iekšējo standartu.)

Noteic, vai iegūtās standartšķīduma un parauga šķīduma hromatogrammas atbilst šādām prasībām:

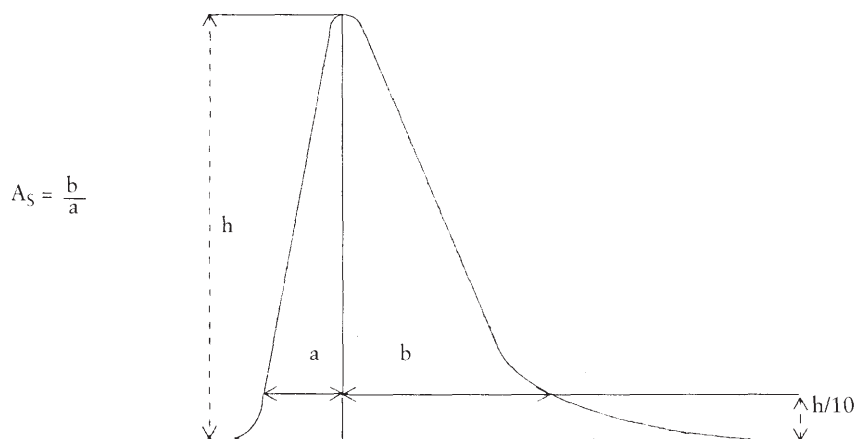
— minimālais divu piķu atdalījums ir vismaz 0,90. (Skatīt 1. attēlu, kā definēts piķu atdalījums.)



1. attēls. Piķu atdalījums

Ja nav panākts vajadzīgais atdalījums, būtu vai nu jāizmanto efektīvāka kolonna, vai būtu jāregulē kustīgās fāzes sastāvs, līdz panāk atbilstību prasībām;

- visu iegūto piķu asimetrijas faktors A_s ir no 0,9 līdz 1,5. (Skatīt 2. attēlu, kā definēts piķu asimetrijas faktors.) Lai uzņemtu hromatogrammu asimetrijas faktora noteikšanai, ieteicamais pašrakstītāja ātrums ir vismaz 2 cm minūtē.



2. attēls. Piķu asimetrijas faktors

- Iegūst stabilu bāzes līniju.

5. Aprēķins.

Skābo konservantu koncentrāciju parauga šķīdumā aprēķina pēc konservantu piķu augstumu attiecības pret 2-metoksibenzoskābes (iekšējā standarta) piķa augstumu un kalibrēšanas līknes. Aprēķina benzoskābes, 4-hidroksibenzoskābes, sorbīnskābes vai salicilskābes saturu paraugā masas procentos (x_i) pēc formulas:

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

kur

a = analizējamā daudzuma (4.1.2. iedaļa) masa gramos,

b = konservanta koncentrācija ($\mu\text{g/ml}$) parauga ekstraktā (4.1.2. iedaļa), ko nolasa no kalibrēšanas līknes.

6. Atkārtojamība ⁽¹⁾

No viena parauga ar 0,40 % 4-hidroksibenzoskābes saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,035 % vērtību.

No viena parauga ar aptuveni 0,50 % benzoskābes saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,050 % vērtību.

No viena parauga ar aptuveni 0,50 % salicilskābes saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,045 % vērtību.

No viena parauga ar aptuveni 0,60 % sorbīnskābes saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,035 % vērtību.

7. Piezīmes

7.1. Metodes rupjas pārbaudes rezultāti liecina, ka sērskābes daudzums, ko pievieno, lai ekstrahētu skābes no parauga, ir kritisks, un parauga daudzuma robežas būtu jāsaģlabā atbilstīgi priekšrakstiem.

7.2. Ja ir vēlams, var izmantot piemērotu aizsargkolonnu.

C. PROPIONSKĀBES KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA.**1. Piemērošanas joma un nozare**

Šī metode ir piemērota propionskābes kvantitatīvai noteikšanai kosmētikas līdzekļos, ja tās koncentrācija nepārsniedz 2 %.

2. Noteikums

Ar šo metodi noteikto propionskābes koncentrāciju izsaka kosmētikas līdzekļa masas procentos (% m/m).

3. Princips

Kad propionskābe ir ekstrahēta no kosmētikas līdzekļa, to kvantitatīvi noteic gāzu hromatogrāfijā, kā iekšējo standartu izmantojot 2-metilpropionskābi.

4. Reāģenti

Visiem reāģentiem jābūt ar analītisku tīrību; jāizmanto destilēts vai līdzvērtīgas kvalitātes ūdens.

4.1. Etanols, 96 % (V/V).

4.2. Propionskābe.

4.3. 2 -metilpropionskābe.

4.4. Ortofosforskābe, 10 % (m/V).

4.5. Propionskābes šķīdums.

Precīzi iesver aptuveni 1,00 g (p grami) propionskābes 50 ml mērkolbā un uzpilda līdz zīmei ar etanolu (4.1. iedaļa).

4.6. Iekšējā standarta šķīdums.

Precīzi iesver aptuveni 1,00 g (e grami) 2-metilpropionskābes 50 ml mērkolbā un uzpilda līdz zīmei ar etanolu (4.1. iedaļa).

⁽¹⁾ ISO 5725

5. **Iekārta**

- 5.1. Parastais laboratoriju aprīkojums un
- 5.2. gāzu hromatogrāfs ar liesmas jonizācijas detektoru;
- 5.3. stikla mēģene (20 × 150 mm) ar skrūvējamu vāciņu;
- 5.4. ūdens vanna, kas noregulēta uz 60 °C;
- 5.5. 10 ml stikla šļirce ar membrānfiltru (poru diametrs 0,45 μm).

6. **Procedūra**

- 6.1. Parauga gatavošana.
- 6.1.1. Parauga gatavošana bez iekšējā standarta.

Stikla mēģenē (5.3. iedaļa) iesver aptuveni 1 g parauga. Pievieno 0,5 ml fosforskābes (4.4. iedaļa) un 9,5 ml etanola (4.1. iedaļa).

Noslēdz mēģeni un spēcīgi sakrata. Ja vajadzīgs, lai pilnīgi izšķīstu lipīdu fāze, liek mēģeni uz piecām minūtēm ūdens vannā, kur ir 60 °C (5.4. iedaļa). Ātri atdzesē tekošā ūdenī. Izfiltrē daļu šķīduma ar membrānfiltru (5.5. iedaļa). Filtrātam veic hromatogrāfiju tajā pašā dienā.

- 6.1.2. Parauga gatavošana, pievienojot iekšējo standartu.

Ar precizitāti līdz trešajai zīmei aiz komata stikla mēģenē (5.3. iedaļa) iesver $1 \pm 0,1$ g (a grami) parauga. Pievieno 0,5 ml fosforskābes (4.6. iedaļa) un 0,50 ml iekšējā standarta šķīduma (4.6. iedaļa) un 9 ml etanola (4.1. iedaļa).

Noslēdz mēģeni un spēcīgi sakrata. Ja vajadzīgs, lai pilnīgi izšķīstu lipīdu fāze, liek mēģeni uz piecām minūtēm ūdens vannā, kur sasildīta līdz 60 °C (5.4. iedaļa). Ātri atdzesē tekošā ūdenī. Izfiltrē daļu šķīduma ar membrānfiltru (5.5. iedaļa). Filtrāta hromatogrāfiju veic tajā pašā dienā.

- 6.2. Apstākļi, veicot gāzu hromatogrāfiju.

Ieteicami ir šādi darba apstākļi:

kolonna

nerūsējošs	tērauds,
garums	2 m,
diametrs	1/8 ",
pildījums	10 % SP ^m 1000 (vai līdzvērtīgs) + 1 % H ₃ PO ₄ uz Chromosorb WAW ar daļiņu izmēru no 100 līdz 120,

temperatūra

inžektors	200 °C,
kolonna	120 °C,
detektors	200 °C,
nesējgāze	slāpekļis,
plūsma	25 ml/min.

- 6.3. Hromatogrāfija.

- 6.3.1. Kalibrēšana.

Uz kalibrētām 20 ml kolbām ar pipeti attiecīgi pārnes 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 un 4,00 ml propionskābes šķīduma (4.5. iedaļa). Ar pipeti uz katru mērkolbu pārnes 1,00 ml iekšējā standarta šķīduma (4.6. iedaļa); uzpilda līdz zīmei ar etanolu (4.1. iedaļa) un sajauc. Tā sagatavotajos šķīdumos ir e mg/ml 2-metilpropionskābes, kas ir iekšējais standarts (tas ir, 1 mg/ml, ja e = 1000) un p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml propionskābes (tas ir, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 mg/ml, ja p = 1000).

Ievada 1 μl katra šā šķīduma un, atzīmējot propionskābes/2-metilpropionskābes masas attiecību uz x ass un attiecīgo pīķu laukumu attiecību uz y ass, iegūst kalibrēšanas līkni.

Katru šķīdumu ievada trīs reizes un aprēķina vidējo pīķu laukumu attiecību.

6.3.2. Kvantitatīva noteikšana.

Ievada 1 µl parauga filtrāta (6.1.1. iedaļa). Salīdzina hromatogrammu ar viena standarta šķīduma hromatogrammu (6.3.1. iedaļa). Ja kāda pīķa izdalīšanas laiks ir aptuveni vienāds ar 2-metilpropionskābei atbilstīgo izdalīšanas laiku, tad nomaina iekšējo standartu. Ja nav nekādu traucējošu faktoru, tad ievada 1 µl parauga filtrāta (6.1.2. iedaļa) un izmēra propionskābes pīķa un iekšējā standarta pīķa laukumu.

Katru šķīdumu ievada trīs reizes un aprēķina vidējo pīķu laukumu attiecību.

7. **Aprēķini**

7.1. No kalibrēšanas līknes, ko iegūst saskaņā ar 6.3.1. iedaļu, nolasa masas (K) attiecību, kura atbilst pīķu laukumu attiecībai, ko aprēķina saskaņā ar 6.3.2. iedaļu.

7.2. No tā iegūtās masas attiecības aprēķina propionskābes saturu paraugā (X) masas procentos pēc formulas:

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

kur

K = attiecība, ko aprēķina saskaņā ar 7.1. iedaļu,

e = saskaņā ar 4.6. iedaļu svērtā iekšējā standarta masa gramos,

a = saskaņā ar 6.1.2. iedaļu svērtā parauga masa gramos.

Rezultātu noapaļo līdz vienai zīmei aiz komata.

8. **Atkārtojamība** ⁽¹⁾

No viena parauga ar 2 % (m/m) propionskābes saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt 0,12 %.

II. HIDROHINONA, HIDROHINONA MONOMETILĒTERA, HIDROHINONA MONOETILĒTERA UN HIDROHINONA MONOBENZILĒTERA KVALITATĪVA UN KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA KOSMĒTIKAS LĪDZEKĻOS

A. KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA.

1. **Piemērošanas joma un nozare**

Ar šo metodi noteic un kvalitatīvi noteic hidrohinonu, hidrohinona monometilēteri, hidrohinona monoetilēteri un hidrohinona monobenzilēteri (monobenzonu) kosmētikas līdzekļos, kas paredzēti ādas balināšanai.

2. **Princips**

Hidrohinonu un tā ēterus kvalitatīvi noteic plānslāņa hromatogrāfijā.

3. **Reaģenti**

Visiem reaģentiem jābūt ar analītisku kvalitāti.

⁽¹⁾ ISO 5725

- 3.1. Etanols, 96 % (V/V).
- 3.2. Hloroforms.
- 3.3. Dietilēteris.
- 3.4. Attīstīstošais šķīdinātājs.
Hloroforms/dietilēteris, 66:33 (V/V).
- 3.5. Amonjaks, 25 % (m/m) ($d_4^{20} = 0,91$ g/ml).
- 3.6. Askorbīnskābe.
- 3.7. Hidrohinons.
- 3.8. Hidrohinona monometilēteris.
- 3.9. Hidrohinona monoetilēteris.
- 3.10. Hidrohinona monobenzilēteris (monobenzons).
- 3.11. Standartsķīdumi.
Standartsķīdumi būtu jāgatavo tieši pirms izmantošanas, un tie ir stabili vienu dienu.
 - 3.11.1. Iesver 0,05 g hidrohinona (3.7. iedaļa) 10 ml mēģenē ar iedaļām. Pievieno 0,250 g askorbīnskābes (3.6. iedaļa) un 5 ml etanola (3.1. iedaļa). Pievieno amonjaku (3.5. iedaļa), līdz pH ir 10, un uzpilda līdz 10 ml tilpumam ar etanolu (3.1. iedaļa).
 - 3.11.2. Iesver 0,05 g hidrohinona monometilētera (3.8. iedaļa) 10 ml mēģenē ar iedaļām. Pievieno 0,250 g askorbīnskābes (3.6. iedaļa) un 5 ml etanola (3.1. iedaļa). Pievieno amonjaku (3.5. iedaļa), līdz pH ir 10, un uzpilda līdz 10 ml tilpumam ar etanolu (3.1. iedaļa).
 - 3.11.3. Iesver 0,05 g hidrohinona monoetilētera (3.9. iedaļa) 10 ml mēģenē ar iedaļām. Pievieno 0,250 g askorbīnskābes (3.6. iedaļa) un 5 ml etanola (3.1. iedaļa). Pievieno amonjaku (3.5. iedaļa), līdz pH ir 10, un uzpilda līdz 10 ml tilpumam ar etanolu (3.1. iedaļa).
 - 3.11.4. Iesver 0,05 g hidrohinona monobenzilētera (3.10. iedaļa) 10 ml mēģenē ar iedaļām. Pievieno 0,250 g askorbīnskābes (3.6. iedaļa) un 5 ml etanola (3.1. iedaļa). Pievieno amonjaku (3.5. iedaļa), līdz pH ir 10, un uzpilda līdz 10 ml tilpumam ar etanolu (3.1. iedaļa).
- 3.12. Sudraba nitrāts.
- 3.13. 12-molibdofosforskābe.
- 3.14. Kālija fericianīda heksahidrāts.
- 3.15. Dzelzs(III) hlorīda heksahidrāts.
- 3.16. Aerosola reaģenti.
 - 3.16.1. Pievieno 5 % (m/V) sudraba nitrāta ūdens šķīdumam (3.12. iedaļa) amonjaku (3.5. iedaļa), līdz izšķīst nogulsnes, kas veidojas.
Brīdinājums:
stāvēt šķīdums kļūst sprādzienbīstams, un pēc izmantošanas tas būtu jāizlej.
 - 3.16.2. 10 % (m/V) 12-molibdofosforskābes (3.13. iedaļa) šķīdums etanolā (3.1. iedaļa).

- 3.16.3. Sagatavo 1 % (m/V) kālija fericianīda (3.14. iedaļa) ūdens šķīdumu un 2 % (m/V) dzelzs(III) hlorīda (3.15. iedaļa) ūdens šķīdumu. Tieši pirms izmantošanas sajauc abus šķīdumus vienādās daļās.

4. Iekārta

Parastais laboratorijas aprīkojums un:

- 4.1. Parastais plānslāņa hromatogrāfijas aprīkojums.
- 4.2. izmantošanai gatavas 20 × 20 cm silikaģela GHR/UV₂₅₄ (*Machery, Nagel*, vai līdzvērtīgas) plānslāņa hromatogrāfijas plates. Slāņa biezums – 0,25 mm.
- 4.3. Ultraskaņas vanna.
- 4.4. Centrifūga.
- 4.5. Ultravioleto staru lampa, 254 nm.

5. Procedūra

- 5.1. Parauga gatavošana.

Iesver 3,0 g parauga 10 ml mēģenē ar iedaļām. Pievieno 0,250 g askorbīnskābes (3.6. iedaļa) un 5 ml etanola (3.1. iedaļa). Noregulē šķīduma pH uz 10 ar amonjaku (3.5. iedaļa). Uzpilda līdz 10 ml tilpumam ar etanolu (3.1. iedaļa). Noslēdz mēģeni ar aizbāzni un homogenizē ultraskaņas vannā 10 minūtes. Izfiltrē caur filtrpapīru vai centrifugē ar ātrumu 3 000 apgriezienu minūtē.

- 5.2. Plānslāņa hromatogrāfija.

- 5.2.1. Piesātina hromatogrāfijas kameru ar attīstīšanas šķīdinātāju (3.4. iedaļa).

- 5.2.2. Nogulsnē uz plates 2 µl standartšķīduma (3.11. iedaļa) un 2 µl parauga šķīduma (5.1. iedaļa). Attīsta tumšā apkārtējā temperatūrā, līdz šķīdinātāja fronte pavirzās par 15 cm no starta līnijas.

- 5.2.3. Izņem plati no kameras un ļauj žūt istabas temperatūrā.

- 5.3. Noteikšana.

- 5.3.1. Apskata plati 254 nm ultravioletā gaismā un atzīmē plankumus.

- 5.3.2. Apsmidzina plati ar

— sudraba nitrāta reāģentu (3.16.1. iedaļa) vai

— 12-molibdofosforskābes reāģentu (3.16.2. iedaļa); karsē aptuveni līdz 120 °C vai

— kālija fericianīda šķīdumu un dzelzs(III) hlorīda šķīdumu (3.16.3. iedaļa).

6. Kvalitatīva noteikšana

Aprēķina katra plankuma R_f vērtību.

Salīdzina parauga šķīduma plankumus ar standartšķīdumu plankumiem, ņemot vērā to R_f vērtības; plankumu krāsu ultravioletajos staros un plankumu krāsu, kad tie padarīti redzami ar aerosola reāģentu.

Veic augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfiju, kā aprakstīts nākamajā (B) iedaļā, un salīdzina parauga pīķa(-u) izdalīšanas laikus ar standartšķīdumu pīķu izdalīšanas laikiem.

Pēc plānslāņa hromatogrāfijas un augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijas rezultātiem kvalitatīvi noteic hidrohinonu un/vai tā ēterus.

7. Piezīmes

Aprakstītajos apstākļos ir novērotas šādas R_f vērtības:

hidrohinons	0,32,
hidrohinona monometilēteris	0,53,
hidrohinona monoetilēteris	0,55,
hidrohinona monoetilēteris	0,58.

B. KVANTITATĪVA NOTEIKŠANA.

1. Piemērošanas joma un nozare

Ar šo metodi kvantitatīvi noteic hidrohinonu, hidrohinona monometilēteri, hidrohinona monoetilēteri un hidrohinona monobenzilēteri kosmētikas līdzekļos, kas paredzēti ādas balināšanai.

2. Princips

Paraugu ekstrahē ar ūdens/metanola maisījumu, viegli karsējot, lai izkūst visas lipīdu vielas. Analizējamās vielas iegūtajā šķīdumā kvantitatīvi noteic apgrieztas fāzes šķīduma hromatogrāfijā ar ultravioleto staru detektoru.

3. Reaģenti

- 3.1. Visiem reaģentiem jābūt ar analītisku kvalitāti. Jāizmanto destilēts vai vismaz līdzvērtīgas kvalitātes ūdens.
- 3.2. Metanols.
- 3.3. Hidrohinons.
- 3.4. Hidrohinona monometilēteris.
- 3.5. Hidrohinona monoetilēteris.
- 3.6. Hidrohinona monobenzilēteris (monobenzons).
- 3.7. Tetrahidrofurāns augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijai.
- 3.8. Ūdens/metanola maisījums 1:1 (V/V). Sajauc vienu tilpuma vienību ūdens un vienu tilpuma vienību metanola (3.2. iedaļa).
- 3.9. Kustīgā fāze: tetrahidrofurāna/ūdens maisījums 45:55 (V/V). Sajauc 45 tilpuma vienības tetrahidrofurāna (3.7. iedaļa) un 55 tilpuma vienības ūdens.
- 3.10. Standartsķīdums.

Iesver 0,06 g hidrohinona (3.3. iedaļa), 0,08 g hidrohinona monometilētera (3.4. iedaļa), 0,10 g hidrohinona monoetilētera (3.5. iedaļa) un 0,12 g hidrohinona monobenzilētera (3.6. iedaļa) 50 ml mērkolbā. Izšķīdina un uzpilda līdz zīmei ar metanolu (3.2. iedaļa). Sagatavo standartsķīdumu, atšķaidot 10,00 ml šā šķīduma līdz 50,00 ml ar ūdens/metanola maisījumu (3.8. iedaļa). Šie šķīdumi jāgatavo tieši pirms izmantošanas.

4. Iekārta

Parastais laboratorijas aprīkojums un

- 4.1. ūdens vanna, kurā var uzturēt 60 °C temperatūru;
- 4.2. augstas izšķirtspējas šķīduma hromatogrāfs ar maināma viļņu garuma ultravioleto staru detektoru un 10 µl ievadišanas cilpu;
- 4.3. hromatogrāfijas kolonna;

nerūsējoša tērauda hromatogrāfijas kolonna, kuras garums ir 250 mm, iekšējais diametrs 4,6 mm, pildījums *Zorbax* fenils (ķīmiski saistīts fenetilsilāns uz *Zorbax SIL*, kam atlikušas ar trimetilhlorsilānu inaktivētas silolgrupas), kā daļiņu izmērs ir 6 µm, vai līdzvērtīgs. Neizmanto aizsargkolonnu, izņemot fenila vai līdzvērtīgu;

4.4. filtrpapīrs ar 90 mm diametru, *Schleicher & Schull, Weissband Nr. 5892* vai līdzvērtīgs.

5. Procedūra

5.1. Parauga gatavošana.

Ar precizitāti līdz trešajai zīmei aiz komata 50 ml mērkolbā iesver $1 \pm 0,1$ g (a grami) parauga. Disperģē paraugu 25 mililitros ūdens/metanola maisījuma (3.8. iedaļa). Noslēdz kolbu un spēcīgi krata, līdz rodas vienmērīga suspensija. Krata vismaz vienu minūti. Liek kolbu ūdens vannā (4.1. iedaļa), kurā uztur 60°C , lai paātrinātu ekstrakciju. Atdzesē kolbu un uzpilda līdz zīmei ar ūdeni/metanolu (3.8. iedaļa). Izfiltrē ekstraktu caur filtrpapīru (4.4. iedaļa). Pēc ekstrakta sagatavošanas 24 stundās veic kvantitatīvu noteikšanu augstas izšķirtspējas plānslāņa hromatogrāfijā.

5.2. Augstas izšķirtspējas šķidrums hromatogrāfija.

5.2.1. Kustīgās fāzes (3.9. iedaļa) plūsmas ātrumu noregulē uz 1,0 ml/min. un detektora viļņu garumu uz 295 nm.

5.2.2. Ievada 10 μl parauga šķīduma, ko iegūst, kā aprakstīts 5.1. iedaļā, un uzņem hromatogrammu. Izmēra pīķu laukumus. Kalibrē, kā aprakstīts 5.2.3. iedaļā. Salīdzina parauga un standartšķīdumu hromatogrammas. Pēc pīķu laukumiem un relatīvās signāla attiecības pret masas vienību (R_f), ko aprēķina saskaņā ar 5.2.3. iedaļu, aprēķina analizējamo vielu koncentrāciju parauga šķīdumā.

5.2.3. Kalibrēšana.

Ievada 10 μl standartšķīduma (3.10. iedaļa) un uzņem hromatogrammu. Ievada vairākas reizes, līdz iegūst nemainīgu pīķu laukumu.

Noteic relatīvo signāla attiecību pret masas vienību R_f :

$$R_{f_i} = \frac{P_i}{c_i}$$

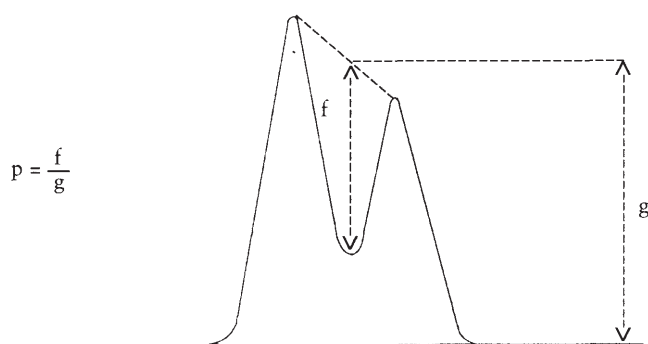
kur

P_i = hidrohinona, hidrohinona monometilētera, hidrohinona monoetilētera vai hidrohinona monobenzilētera pīķu laukums un

c_i = hidrohinona, hidrohinona monometilētera, hidrohinona monoetilētera vai hidrohinona monobenzilētera koncentrācija (g/50 ml) standartšķīdumā (3.10. iedaļa).

Noteic, vai iegūtās standartšķīduma un parauga šķīduma hromatogrammas atbilst šādām prasībām:

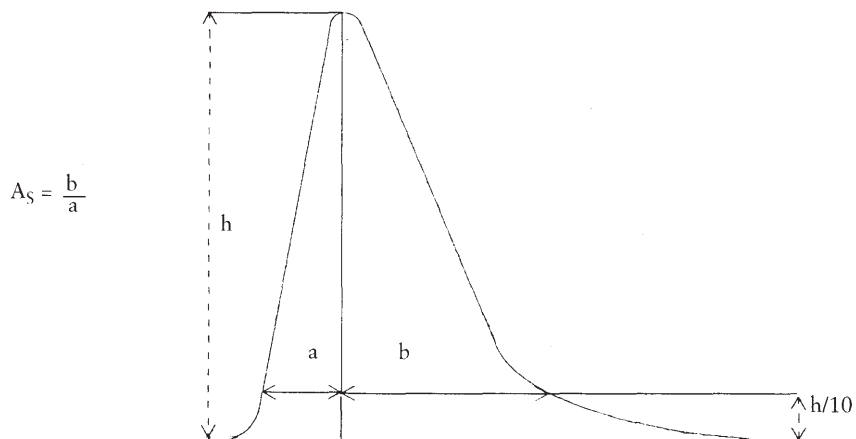
— minimālais divu pīķu atdalījums ir vismaz 0,90. (Skatīt 1. attēlu, kā definēts pīķu atdalījums.)



1. attēls. Pīķu atdalījums

Ja nav panākts vajadzīgais atdalījums, būtu vai nu jāizmanto efektīvāka kolonna, vai būtu jāregulē kustīgās fāzes sastāvs, līdz panāk atbilstību prasībām.

- Visu iegūto pīķu asimetrijas faktors A_s ir no 0,9 līdz 1,5. (Skatīt 2. attēlu, kā definēts pīķu asimetrijas faktors.) Lai uzņemtu hromatogrammu asimetrijas faktora noteikšanai, ieteicamais pašrakstītāja ātrums ir vismaz 2 cm minūtē.



2. attēls. Pīķu asimetrijas faktors

- Iegūst stabilu bāzes līniju.

6. Aprēķins

Pēc analizējamo vielu pīķu laukumiem aprēķina analizējamās vielas (analizējamo vielu) koncentrāciju paraugā. Aprēķina analizējamās vielas koncentrāciju paraugā masas procentos (x_i) pēc formulas:

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

kur

a = parauga masa gramos un

b_i = paraugā esošās analizējamās vielas i pīķa laukums.

7. Atkārtojamība ⁽¹⁾.

- 7.1. No viena parauga ar aptuveni 2,0 % hidrohinona saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,13 % vērtību.
- 7.2. No viena parauga ar aptuveni 1,0 % hidrohinona monometilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,1 % vērtību.
- 7.3. No viena parauga ar aptuveni 1,0 % hidrohinona monoetilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,11 % vērtību.
- 7.4. No viena parauga ar aptuveni 1,0 % hidrohinona monobenzilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,11 % vērtību.

8. Atkārtojamība ⁽¹⁾.

- 8.1. No viena parauga ar 2,0 % hidrohinona saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās atšķirīgos apstākļos (citas laboratorijas, citi laboranti, citas iekārtas un/vai cits laiks) iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,37 % vērtību.

⁽¹⁾ ISO 5725

- 8.2. No viena parauga ar 1,0 % hidrohinona monometilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās atšķirīgos apstākļos (citas laboratorijas, citi laboranti, citas iekārtas un/vai cits laiks) iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,21 % vērtību.
- 8.3. No viena parauga ar 1,0 % hidrohinona monoetilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās atšķirīgos apstākļos (citas laboratorijas, citi laboranti, citas iekārtas un/vai cits laiks) iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,19 % vērtību.
- 8.4. No viena parauga ar 1,0 % hidrohinona monobenzilētera saturu divās paralēlās kvantitatīvās noteikšanās atšķirīgos apstākļos (citas laboratorijas, citi laboranti, citas iekārtas un/vai cits laiks) iegūto rezultātu starpībai nevajadzētu pārsniegt absolūtu 0,11 % vērtību.

9. Piezīmes.

- 9.1. Ja hidrohinona saturs izrādās ievērojami augstāks nekā 2 % un tā saturs jāprognozē precīzi, tad parauga ekstrakts (5.1. iedaļa) būtu jāatšķaida līdz tādai koncentrācijai, kas ir līdzīga koncentrācijai, kuru iegūtu no parauga, kas satur 2 % hidrohinona, un kvantitatīvā noteikšana būtu jāatkārto.

(Dažās iekārtās absorbcija var būt ārpus detektora lineārā diapazona, ja hidrohinona koncentrācija ir augsta.)

- 9.2. Traucējumi.

Ar iepriekš aprakstīto metodi var kvantitatīvi noteikt hidrohinonu un tā ēterus vienā izokrātiskā analizē. Fenila kolonna nodrošina pietiekamu hidrohinona izdalīšanu, ko nevar garantēt, izmantojot C18 kolonnu ar iepriekš aprakstīto kustīgo fāzi.

Tomēr šī metode nenovērš traucējumus, ko izraisa vairāki parabeni. Tādos gadījumos kvantitatīva noteikšana būtu jāatkārto ar citu kustīgās fāzes/nekustīgās fāzes sistēmu. Piemērotas metodes var būt tādas, kā norādīts 1. un 2. avotā, proti:

kolonna – *Zorbax ODS*, 4,6 mm × 25 mm, vai līdzvērtīga:

temperatūra– 36 °C,

plūsma – 1,5 ml/min.,

kustīgā fāze –

hidrohinonam – metanols/ūdens 5/95 (V/V),

hidrohinona monometilēterim – metanols/ūdens 30/70 (V/V),

hidrohinona monobenzilēterim – metanols/ūdens 80/20 (V/V)⁽¹⁾;

kolonna – *Spherisorb S5-ODS* vai līdzvērtīga

kustīgā fāze – ūdens/metanols: 90/10 (V/V),

plūsma – 1,5 ml/min.

Šie apstākļi ir piemēroti hidrohinonam⁽²⁾.

⁽¹⁾ 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).

⁽²⁾ J. Firth and I. Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, 129. lpp.