

SJÖUNDA TILSKIPUN FRAMKVÆMDA- STJÓRNARINNAR 96/45/EB

frá 2. júlí 1996

um nauðsynlegar efnagreiningaraðferðir til eftirlits með samsetningu snyrtivara(*)

(Texti sem varðar EES)

FRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUBANDALAGANNA HEFUR,

með hliðsjón af stofnsáttmála Evrópubandalagsins,

með hliðsjón af tilskipun ráðsins 76/768/EBE frá 27. júlí 1976 um samræmingu laga aðildarríkjanna um snyrtivörur ⁽¹⁾, eins og henni var síðast breytt með tilskipun framkvæmdastjórnarinnar 95/34/EB ⁽²⁾, einkum 1. mgr. 8. gr.,

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

Í tilskipun 76/768/EBE er kveðið á um opinbert eftirlit með snyrtivörum til að tryggja að framfylgt sé skilyrðum sem mælt er fyrir um í bandalagsákvæðum um samsetningu snyrtivara.

Mæla ber fyrir um allar nauðsynlegar efnagreiningaraðferðir eins fljótt og auðið er. Nú þegar hafa margar aðferðir verið samþykktar með tilskipun framkvæmdastjórnarinnar 80/1335/EBE ⁽³⁾, eins og henni var breytt með tilskipun 87/143/EBE ⁽⁴⁾, tilskipun 82/434/EBE ⁽⁵⁾, eins og henni var breytt með tilskipun 90/207/EBE ⁽⁶⁾, og tilskipunum 83/514/EBE ⁽⁷⁾, 85/490/EBE ⁽⁸⁾, 93/73/EBE ⁽⁹⁾ og 95/32/EB ⁽¹⁰⁾.

Í sjöunda áfanga er fjallað um hvernig skuli sanngreina og ákvarða 2-fenoxýetanól, 1-fenoxýprópan-2-ól og metýl-, etýl-, própýl-, bútýl- og bensýl-4-hýdroxýbensóat í snyrtivörum.

Ráðstafanirnar sem kveðið er á um í þessari tilskipun eru í samræmi við álit nefndar um aðlögun tilskipunar 76/768/EBE að tækniframförum.

SAMÞYKKT TILSKIPUN ÞESSA:

(*) Þessi EB-gerð, sem birtist í Stjttíð. EB nr. L 213, 22. 8. 1996, bls. 8, var nefnd í ákvörðun sameiginlegu EES-nefndarinnar nr. 66/97 frá 4. október 1997 um breytingu á II. viðauka (Tæknilegar reglugerðir, staðlar, prófanir og vottun) við EES-samninginn, sjá þessa útgáfu af EES-viðbæti við Stjórnartíðindi Evrópubandalagsins.

(1) Stjttíð. EB nr. L 262, 27. 9. 1976 bls. 169.

(2) Stjttíð. EB nr. L 167, 18. 7. 1995, bls. 19.

(3) Stjttíð. EB nr. L 383, 31. 12. 1980, bls. 27.

(4) Stjttíð. EB nr. L 57, 27. 2. 1987, bls. 56.

(5) Stjttíð. EB nr. L 185, 30. 6. 1982, bls. 1.

(6) Stjttíð. EB nr. L 108, 28. 4. 1990, bls. 92.

(7) Stjttíð. EB nr. L 291, 24. 10. 1983, bls. 9.

(8) Stjttíð. EB nr. L 295, 7. 11. 1985, bls. 30.

(9) Stjttíð. EB nr. L 231, 14. 9. 1993, bls. 34.

(10) Stjttíð. EB nr. L 178, 28. 7. 1995, bls. 20.

1. gr.

Aðildarríkin skulu gera allar nauðsynlegar ráðstafanir til að tryggja að við opinberar prófanir á snyrtivörum skuli sanngreina og ákvarða 2-fenoxýetanól, 1-fenoxýprópan-2-ól og metýl-, etýl-, própýl-, bútýl- og bensýl-4-hýdroxýbensóat í samræmi við þær aðferðir sem lýst er í viðaukanum.

2. gr.

1. Aðildarríkin skulu samþykkja nauðsynleg lög og stjórnsýslufyrirmæli til að fara að tilskipun þessari eigi síðar en 30. september 1997. Þau skulu tilkynna það framkvæmdastjórninni þegar í stað.

2. Þegar aðildarríkin samþykkja þessi ákvæði skal vera í þeim tilvísun í þessa tilskipun eða þeim fylgja slík tilvísun þegar þau verða birt opinberlega. Aðildarríkin skulu setja nánari reglur um slíka tilvísun.

3. Aðildarríkin skulu senda framkvæmdastjórninni helstu ákvæði úr landslögum sem samþykkt verða um málefni sem tilskipun þessi nær til.

3. gr.

Tilskipun þessi öðlast gildi á tuttugusta degi eftir að hún birtist í *Stjórnartíðindum Evrópubandalaganna*.

4. gr.

Tilskipun þessari er beint til aðildarríkjanna.

Gjört í Brussel 2. júlí 1996.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Emma BONINO

framkvæmdastjóri.

VIÐAUKI

SANNGREINING OG ÁKVÖRÐUN 2-FENOXYÉTANÓLS, 1-FENOXYPRÓPAN-2-ÓLS OG METÝL-, ETÝL-, PRÓPÝL-, BÚTÝL- OG BENSÝL-4-HÝDROXYBENSÓATS Í SNYRTIVÖRUM

A. SANNGREINING

1. Umfang og gildissvið

Þessi þunnlagsskiljuaðferð er notuð ásamt ákvörðunaraðferðinni, sem er lýst í þætti B, til að sanngreina 2-fenoxýetanól, 1-fenoxýprópan-2-ól, metýl-4-hýdroxýbensóat, etýl-4-hýdroxýbensóat, própýl-4-hýdroxýbensóat, bútýl-4-hýdroxýbensóat og bensýl-4-hýdroxýbensóat í snyrtivörum.

2. Meginregla

Rotvarnarefnið er dregin út úr sýrðu sýni af snyrtivörinni með asetoni. Að lokinni sýni er asetonausn blönduð með vatni og fitusýrurnar felldar út í basískum miðli sem kalsíumsölt. Basísk asetón-/vatnsblanding er dregin út með díetýleter til að fjarlægja fitusækin efni. Eftir sýringu eru rotvarnarefnið dregin út með díetýleter. Hluti af díetýleterútdrættinum er settur á lítinn blett á þunnlagsskiljuþötu sem er þakin kísilkristöllum. Eftir skiljun er skiljuritið skoðað undir útfjólubláu ljósi og framkallað með Millon-hvarfefni.

3. Hvarfefni

3.1. Almenn

Öll hvarfefni skulu vera efnagreiningarhrein. Vatn skal vera eimað eða hreinleiki þess ekki minni en eimaðs vatns.

3.2. Aseton

3.3. Díetýleter

3.4. n-pentan

3.5. Metanól

3.6. Ísediksýra

3.7. Saltsýrulausn, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mól/l}$

3.8. Kalíumhýdroxíðlausn, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mól/l}$

3.9. Kalsíumklóríðdihýdrat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.10. Framköllunarefni: Millon-hvarfefni

Millon-hvarfefni (Hg (II) nítrat) er lausn sem fæst á almennum markaði (Fluka 69820)

3.11. 2-fenoxýetanól

3.12. 1-fenoxýprópan-2-ól

- 3.13. Metýl-4-hýdroxýbensóat (metýlparaben)
- 3.14. Etýl-4-hýdroxýbensóat (etýlparaben)
- 3.15. n-própýl-4-hýdroxýbensóat (própýlparaben)
- 3.16. n-bútýl-4-hýdroxýbensóat (bútýlparaben)
- 3.17. Bensýl-4-hýdroxýbensóat (bensýlparaben)
- 3.18. Viðmiðunarlausnir

Búin er til 0,1% (m/v) lausn í metanóli úr hverju viðmiðunarefnanna 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 og 3.17.

3.19. Ferðafasi

n-pentan (3.4) og ísediksýru (3.6) er blandað saman í hlutföllunum 88:12 (v/v).

4. **Búnaður**

Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, og:

- 4.1. Vatnsbað sem haldið er við 60°C
- 4.2. Þunnlagsskiljuflát (ekki fóðrað með síupappír)
- 4.3. Útfjólublár ljósgjafi, 254 nm
- 4.4. Þunnlagsplötur, 20 × 20 cm, þaktar 0,25 mm lagi af kísilkristöllum, 60F_{254*} með skriðsvæði (Merck nr. 11798, Darmstadt, eða sambærileg vara)
- 4.5. Hitaskápur sem hægt er að halda við allt að 105°C
- 4.6. Hárþurrka með heitum loftstraumi
- 4.7. Málningarúlla úr ull, lengd um 10 cm, ytra þvermál um 3,5 cm. Þykkt ullarlags á að vera 2 til 3 mm. Ullina skal klippa ef þörf krefur.

(Sjá athugasemd við lið 5.2).

- 4.8. 50 ml tilraunaglas með skrúftappa
- 4.9. Rafmagnshella með hitastilli. Hitastilling: um 80°C. Yfir hellunni skal vera álplata, 20 × 20 cm að stærð og um 6 mm að þykkt, til að hitinn dreifist jafnt.

5. **Aðferð**

5.1. Undirbúningur sýnis

Um það bil 1 g af sýni er vegið í 50 ml tilraunaglas með skrúftappa (4.8). Fjórum dropum af saltsýrulausn (3,7) og 40 ml af asetoni er bætt út í.

Ef um mjög basíska snyrtivöru er að ræða, til dæmis handsápu, er 20 dropum af saltsýru bætt út í. Tilraunaglasinu er lokað og blandan hituð varlega upp í um 60°C til að auðvelda útdrátt rotvarnarefnanna yfir í asetonfasann og glasið síðan hrist kröftuglega í eina mínútu.

Sýrustig lausnarinnar er mælt með litvísispappír og stillt á ϵ 3 með saltsýrulausn. Þá er aftur hrist kröftuglega í eina mínútu.

Lausnin er kæld niður í stofuhita og síuð í gegnum síupappír ofan í keilufloösku. 20 ml af síuvökvanum eru færðir yfir í 200 ml keilufloösku, 60 ml af vatni er bætt við og öllu blandað saman. Notaður er litvísispappír til að stilla sýrustig blöndunnar á um það bil 10 með kalíumhýdroxíði (3.8)

1 g af kalsíumklóríðdíhýdrati (3.9) er bætt við og hrist kröftuglega. Lausnin er síuð í gegnum síupappír ofan í 250 ml skiltrekt sem inniheldur 75 ml af díetýleter og hrist kröftuglega í eina mínútu. Þegar fasarnir hafa skilist að er vatnsfasinn færður yfir í 200 ml keilufloösku. Notaður er litvísispappír til að stilla sýrustig lausnarinnar á um það bil 2 með saltsýrulausn. Þá er 10 ml af díetýleter bætt út í og hrist kröftuglega í eina mínútu. Þegar fasarnir hafa skilist að eru um 2 ml af díetýleterfasanum færðir yfir í 5 ml sýnaglas.

5.2. Þunnlagsskiljun

Þunnlagsplata (4.4) er sett á hitaða álplötuna (4.9). 10 µl af hverri viðmiðunarlausn (3.18) og 100 µl af sýnislusninni eða sýnislusnunum (5.1) eru settir á byrjunarlínuna á skriðsvæði þunnlagsplötunnar.

Sé þess óskað má nota loftstraum til að auðvelda uppgufun leysiefnisins. Þunnlagsplatan er tekin af hellunni og látin kólna niður í stofuhita. 100 ml af ferðafasanum (3.19) eru færðir yfir í þunnlagsskiljuflát (4.2).

Þunnlagsplatan er strax sett í ómettað flátið og skiljun látin fara fram við stofuhita þar til leysijaðarinn hefur fært sig um 15 cm frá byrjunarlínunni. Platan er tekin úr þunnlagsskiljuflátinu og þurrkuð í heitum loftstraumi með háþurrku.

Platan er skoðuð undir útfjólubláu ljósi (4.3) og merkt við stöðu blettanna. Platan er hituð í 30 mínútur í ofni (4.5) við 100°C til að fjarlægja umframediksyru. Rotvarnarefni eru framkölluð á skiljunitinu með Millon-hvarfefni (3.10) á þann hátt að málningarrúllunni (4.7) er dýft í hvarfefnið og rennt yfir þunnlagsplötuna þar til hún er öll jafnrök.

Athugasemd: Einnig má framkalla blettina með því að setja dropa af Millon-hvarfefni varlega á alla blettina sem merkt var við undir útfjólubláa ljósinu.

Esterar 4-hýdroxýbensósýru mynda rauða bletti, 2-fenoxýetanól og 1-fenoxýprópan-2-ól mynda gula bletti. Þess ber þó að gæta að sjálf 4-hýdroxýbensósýran, sem kann að vera til staðar í sýnunum sem rotvarnarefni eða niðurbrotsefni parabenanna, kemur líka fram sem rauður blettur. Sjá 7.3 og 7.4.

6. Sanngreining

Reiknað er R_f -gildi hvers bletts. Blettirnir, sem fást úr sýnislusninni, eru bornir saman við blettina úr viðmiðunarlausninni með tilliti til R_f -gilda, útlits undir útfjólubláu ljósi og litar eftir framköllun. Dregin er frumályktun um hvaða rotvarnarefni séu til staðar.

Bendi niðurstöður til þess að paraben séu til staðar skal framkvæma hágæðavöskviljunina sem lýst er í þætti B. Niðurstöður þunnlagsskiljunar og hágæðavöskviljunar eru bornar saman til að staðfesta íveru 2-fenoxýetanóls, 1-fenoxýprópan-2-óls og parabenanna.

7. Athugasemdir

- 7.1. Þar sem Millon-hvarfefni er eitrað er best að bera það á með annarri aðferðinni sem lýst var. Ekki er mælt með úðun.

7.2. Önnur efnasambönd, sem innihalda hýdroxýlhópa, geta einnig sýnt litaviðbrögð við Millon-hvarfefni. Tafla yfir liti og R_f -gildi nokkurra rotvarnarefna, sem fást með þessari þunnlagsskiljuaðferð, er að finna í N. de Kruijf, M.A.H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi og A. Schouten (1987): Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products (*J. Chromatography* 410, 395-411).

7.3. R_f -gildin í eftirfarandi töflu gefa vísbendingu um R_f -gildin sem vænta má:

Efnasamband	hR_f	Litur
4-hýdroxýbensósýra	11	rauður
metýlparaben	12	rauður
etýlparaben	17	rauður
própýlparaben	21	rauður
bútýlparaben	26	rauður
bensýlparaben	16	rauður
2-fenoxýetanól	29	gulur
1-fenoxýprópan-2-ól	50	gulur

7.4. Ekki er hægt að skilja 4-hýdroxýbensósýru frá metýlparabeni með þessari aðferð né bensýlparaben frá etýlparabeni. Staðfesta má sanngreiningu þessara efnasambanda með hágæðavökvaskiljuninni sem lýst er í þætti B og bera rástímana, sem fást fyrir sýnið, saman við rástíma staðla.

B. ÁKVÖRÐUN

1. Umfang og gildissvið

Þessi aðferð er notuð til að ákvarða magn 2-fenoxýetanóls, 1-fenoxýprópan-2-óls, metýl-4-hýdroxýbensóats, etýl-4-hýdroxýbensóats, própýl-4-hýdroxýbensóat, bútýl-4-hýdróbensóats og bensýl-4-hýdroxýbensóats í snyrtivörum.

2. Skilgreining

Magn rotvarnarefna, sem er ákvarðað með þessari aðferð, er gefið upp sem hundraðshluti massa.

3. Meginregla

Sýnið er sýrt með brennisteinssýru og gert að sviflausn í blöndu etanóls og vatns. Blandan er hituð varlega til að bræða fitufasann og draga út sem mest magn og síðan er blandan síuð.

Magn rotvarnarefna í síuvökvanum er ákvarðað með hágæðavökvaskiljun með andstæðum fasa og ísóprópýl-4-hýdroxýbensóat notað sem innri staðall.

4. Hvarfefni

4.1. Almenn

Öll hvarfefni skulu vera efnagreiningarhrein og henta til hágæðavökvaskiljunar þar sem það á við. Vatn skal vera eimað eða hreinleiki þess ekki minni en eimaðs vatns.

4.2. Etanól, óblandað

4.3. 2-fenoxýetanól

- 4.4. 1-fenoxýprópan-2-ól
- 4.5. Metýl-4-hýdroxýbensóat (metýlparaben)
- 4.6. Etýl-4-hýdroxýbensóat (etýlparaben)
- 4.7. n-Própýl-4-hýdroxýbensóat (própýlparaben)
- 4.8. Ísóprópýl-4-hýdroxýbensóat (ísóprópýlparaben)
- 4.9. n-bútýl-4-hýdroxýbensóat (bútýlparaben)
- 4.10. Bensýl-4-hýdroxýbensóat (bensýlparaben)
- 4.11. Tetrahýdrófúran
- 4.12. Metanól
- 4.13. Asetónítríl
- 4.14. Brennisteinssýrulausn $c(\text{H}_2\text{SO}_4)= 2 \text{ mól/l}$
- 4.15. Etanól-/vatnsblanda

Etanóli (4.2) er blandað saman við vatn í hlutföllunum 9:1

- 4.16. Innri staðallausn

Um það bil 0,25 g af ísóprópýlparabeni (4.8) eru vegin með nákvæmni, sett í 500 ml mæliflösku og leyst upp í etanól-/vatnsblöndu (4.15) sem flaskan er fyllt með að markinu.

- 4.17. Ferðafasi: tetrahýdrófúran-/vatns-/metanól-/asetónítrílblanda

Fimm hlutum tetrahýdrófúrans, 60 hlutum vatns, 10 hlutum metanóls og 25 hlutum asetónítríls er blandað saman.

- 4.18. Stofnlausn rotvarnarefna

Um það bil 0,2 g af 2-fenoxýetanóli, 0,2 g af 1-fenoxýprópan-2-óli, 0,05 g af metýlparabeni, 0,05 g af etýlparabeni, 0,05 g af própýlparabeni, 0,05 g af bútýlparabeni og 0,025 g af bensýlparabeni eru vegin með nákvæmni í 100 ml mæliflösku og leyst upp í etanól-/vatnsblöndu sem flaskan er fyllt með að markinu.

Lausnin helst stöðug í eina viku ef hún er geymd í kælikáp.

- 4.19. Staðallausnir rotvarnarefna

Settir eru 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml og 1,00 ml af stofnlausn (4.18) í jafnmargar 50 ml mæliflöskur. Í hverja flösku er bætt 10,00 ml af innri staðallausn (4.16) og 1,0 ml af brennisteinssýrulausn (4.14) og flaskan fyllt að markinu með etanól-/vatnsblöndu. Þessar lausnir eiga að vera nýlagaðar.

5. Búnaður

Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, og:

- 5.1. Vatnsbað sem unnt er að halda við $60 \pm 1^\circ\text{C}$,
- 5.2. Hágæðavökvaskilja með nema fyrir útfjólublátt ljós, bylgjulengd 280 nm,
- 5.3. Efnagreiningarsúla:
Úr ryðfríu stáli, 25 cm \times 4,6 mm að innra þvermáli (eða 12,5 cm \times 4,6 mm að innra þvermáli), fyllt með Nucleosil 5C18, eða jafngildi þess (sjá 10.1)
- 5.4. 100 ml tilraunaglös með skrúftappa
- 5.5. Suðusteinar, kísilkol, kornastærð 2 til 4 mm, eða jafngildi þeirra

6. Aðferð

- 6.1. Undirbúningur sýnis
- 6.1.1. Sýni undirbúið án þess að innri staðli sé bætt við

Um það bil 1,0 g af sýni er vegið með nákvæmni í 100 ml tilraunaglas með skrúftappa. 1,0 ml af brennisteinssýrulausn (4.14) og 50,0 ml af etanól-/vatnsblöndu (4.15) eru fluttir með rennipípu yfir í tilraunaglösin. Um það bil 1 g af suðusteinum (5.5) er bætt við, tilraunaglasinu lokað og það hrist kröftuglega þar til fengin er einsleit sviflausn. Hrista skal í minnst eina mínútu. Til að auðvelda útdrátt rotvarnarefna yfir í etanólfasann er tilraunaglasíð sett í vatnsbað (5.1) við $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ í fimm mínútur.

Tilraunaglasíð er kælt þegar í stað undir kaldri vatnsbunu og útdrátturinn geymdur í kælskáp í eina klukkustund. Útdrátturinn er síaður í gegnum síupappír. Um 2 ml af síuvökvanum eru fluttir yfir í 5 ml sýnaglas. Útdrættirnir eru geymdir í kæli og skal ákvörðun með hágæðavökvaskilju fara fram innan tuttugu og fjögurra klukkustunda.

- 6.1.2. Sýni undirbúið og innri staðli bætt við

Vegið er 1,0 g \pm 0,1 g af sýni, með þriggja aukastafa nákvæmni, í 100 ml tilraunaglas með skrúftappa.

1,0 ml af brennisteinssýrulausn og 40,0 ml af etanól-/vatnsblöndu eru fluttir með rennipípu yfir í tilraunaglasíð. Um það bil 1 g af suðusteinum (5.5) er bætt við og nákvæmlega 10,00 ml af innri staðallausn. Tilraunaglasinu er lokað og það hrist kröftuglega þar til fengin er einsleit sviflausn. Hrista skal í minnst eina mínútu. Til að auðvelda útdrátt rotvarnarefna yfir í etanólfasann er tilraunaglasíð sett í fimm mínútur í vatnsbað sem haldið er við $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Tilraunaglasíð er kælt þegar í stað undir kaldri vatnsbunu og útdrátturinn er geymdur í kælskáp í eina klukkustund. Útdrátturinn er síaður í gegnum síupappír.

Um 2 ml af síuvökvanum eru fluttir yfir í 5 ml sýnaglas (próflausn). Útdrátturinn er geymdur í kæli og skal ákvörðun með hágæðavökvaskilju fara fram innan tuttugu og fjögurra klukkustunda.

- 6.2. Hágæðavökvaskiljun
- 6.2.1. Skilyrði fyrir hágæðavökvaskiljun:

- Ferðafasi: tetrahýdrófurán-/vatns-/metanól-/asetónítrílblanda (4.17)
- Flæði: 1,5 ml/mín.
- Bylgjulengd nema: 280 nm

6.2.2. Kvörðun

10 μ l skammti af staðallausn hvers rotvarnarefnis (4.19) er sprautað í vökvaskiljuna. Hlutfallið milli hæðartoppa staðallausna rotvarnarefnanna og hæðartopps innri staðalsins er ákvarðað af skiljuritunum sem fást. Teiknað er graf fyrir hvert rotvarnarefni sem sýnir tengsl þessara hlutfalla við styrk staðallausnanna.

6.2.3. Ákvörðun

10 μ l af sýnislausn án innri staðals (6.1.1) er sprautað í vökvaskiljuna og skiljuritið skráð.

10 μ l af staðallausnum rotvarnarefnanna (4.19) er sprautað í og skiljuritið skráð. Skiljuritin sem fást eru borin saman.

Ef enginn toppur með um það bil sama rástíma og ísóprópýlparabenið (ráðlagður innri staðall) er í skiljuriti sýnisútdráttarins (6.1.1) er haldið áfram með því að sprauta 10 μ l af sýnislausn með innri staðli (6.1.2) í vökvaskiljuna. Skiljuritið er skráð og hæðartopparnir mældir.

Ef truflandi toppur með um það bil sama rástíma og ísóprópýlparaben sést í skiljuriti sýnislausnarinnar er rétt að velja annan innri staðal.

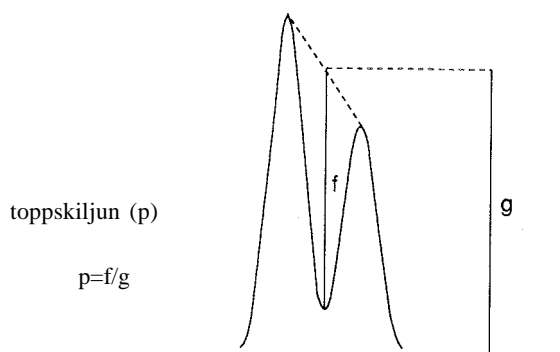
Ef eitt rotvarnarefnanna, sem verið er að rannsaka, vantar í skiljurit sýnisins má nota það rotvarnarefni sem annan mögulegan innri staðal.

Reiknað er hlutfallið milli hæðartoppa rotvarnarefnanna, sem verið er að rannsaka, og hæðartopps innri staðalsins.

Gengið er úr skugga um að línuleg svörun fáiast fyrir staðallausnirnar sem notaðar eru til kvörðunar.

Gengið er úr skugga um að skiljuritin, sem fást með staðallausn og sýnislausn, standist eftirfarandi kröfur:

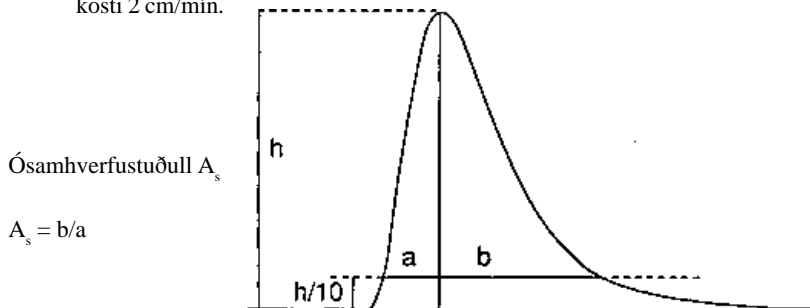
- skiljun toppanna, sem liggja næst hvor öðrum, skal að minnsta kosti vera 0,90. (Sjá skilgreiningu á toppskiljun á skýringarmynd 1)



Skýringarmynd 1: Toppskiljun

Náist ekki tilskilin skiljun verður annaðhvort að nota súlu sem skilar betri árangri eða leiðréttu samsetningu ferðafasans þar til þessi krafa hefur verið uppfyllt.

- Ósamhverfustuðullinn A_s fyrir alla toppa sem fást skal vera 0,9 - 1,5. (Sjá skilgreiningu á ósamhverfustuðli á skýringarmynd 2.) Til að skrá skiljurit til ákvörðunar ósamhverfustuðuls er mælt með pappírshraða sem er að minnsta kosti 2 cm/mín.



Skýringarmynd 2: Ósamhverfustuðull

- Grunnlínan skal vera stöðug.

7. **Útreikningur**

Kvörðunargrafið (6.2.2) ásamt hlutfallinu milli hæðartoppa rotvarnarefnanna, sem verið er að rannsaka, og hæðartoppis innri staðalsins er notað til að reikna styrk rotvarnarefnanna í sýnislausninni. Innihald, w_i , 2-fenoxýetanóls, 1-fenoxýprópan-2-óls, metýl-4-hýdroxýbensóats, etýl-4-hýdroxýbensóats, própýl-4-hýdroxýbensóats, bútýl-4-hýdroxýbensóats og bensýl-4-hýdroxýbensóats er reiknað sem hundradshluti miðað við þyngd (% m/m) með jöfnunni:

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

þar sem:

b_i = styrkur ($\mu\text{g/ml}$) rotvarnarefnisins i í próflausninni samkvæmt kvörðunargrafinu; og

a = massi sýnis í grömmum.

8. **Endurtekningarfærni⁽¹⁾**

Sjá athugasemdir í lið 10.5.

9. **Endurtakanleiki⁽¹⁾**

(1) ISO 5725.

Sjá athugasemdir í lið 10.5.

10. Athugasemdir

10.1. Stöðufasi

Ráseiginleikar uppleystu efnanna í ákvörðunum með hágæðavökvaskilju eru mjög háðir tegund, merki og forsögu stöðufasans. Út frá niðurstöðunum, sem fást með staðallausnunum, má álykta hvort unnt sé að nota súlu til aðgreiningar rotvarnarefnanna sem verið er að athuga (sjá athugasemdir í lið 6.2.3). Auk súlufylliefnisins, sem mælt er með, reyndust Hypersil ODS og Zorbax ODS einnig hentug.

Einnig er hægt að bæta samsetningu ferðafasans, sem mælt var með, til að fá fram nauðsynlega aðskiljun.

10.2. Bylgjulengd nema

Prófun á traustleika aðferðarinnar, sem lýst er, hefur sýnt að smávægileg breyting á bylgjulengd nemans getur haft veruleg áhrif á niðurstöður ákvörðunar.

Því verður að fylgjast vel með þessari færribreytu meðan efnagreining fer fram.

10.3. Truflanir

Við þau skilyrði, sem lýst hefur verið, fara mörg önnur efnasambönd, svo sem rotvarnarefni og aukefni í snyrtivörum, út um leið. Rástímar mikils fjölda rotvarnarefna, sem nefnd eru í VI. viðauka við tilskipun ráðsins um snyrtivörur, eru skráðir í N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi og A. Schouten, (1989). Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (*J. Chromatography* 469, 317-398).

10.4. Nota má viðeigandi forsúlu til að verja efnagreiningarsúluna.

10.5. Aðferðin hefur verið könnuð í samstarfstillraun níu rannsóknarstofa. Þrjú sýni voru efnagreind. Í töflunni hér á eftir er gefið upp meðaltal í % m/m (m), endurtekningarhæfni (r) og endurtakanleiki (R) fyrir rotvarnarefnin í hverju hinna þriggja sýna:

Sýni		2-fenoxý- etanól	1-fenoxý- própan-2-ól	Metýl paraben	Etýl paraben	Própýl paraben	Bútýl paraben	Bensýl paraben
Vítamínkrem	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	
Dagkrem	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Nuddkrem	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