

SJÖUNDA TILSKIPUN FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR 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:

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 samþykka nauðsynleg lög og stjórnáskilgáttir til að fara að tilskipun þessari eigi síðar en 30. september 1997. Þau skulu tilkynna það framkvæmdastjórninni þegar í stað.

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.

2. Aðildarríkin skulu senda framkvæmdastjórninni helstu ákvæði úr landslögum sem samþykkt verða um mál-efni 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.

⁽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.

VIÐAUKI

SANNGREINING OG ÁKVÖRÐUN 2-FENOXYETANÓLS, 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**

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

3. **Hvarfefni**

3.1. Almennt

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, 60F₂₅₄, með skriðsvæði (Merck nr. 11798, Darmstadt, eða sambærileg vara)
- 4.5. Hitaskápur sem hægt er að halda við allt að 105°C
- 4.6. Hárburrka 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 ≤ 3 með saltsýrulausn. Þá er aftur hrist kröftuglega í eina mínútu.

Lausnin er kæld niður í stofuhita og síuð í gegnum síupappír ofan í keiluflošku. 20 ml af síuvökvanum eru færðir yfir í 200 ml keiluflošku, 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 keiluflošku. 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

Þunnlagsskilyta (4.4) er sett á hitaða álplötuna (4.9). 10 μ l af hverri viðmiðunarlausn (3.18) og 100 μ l af sýnislausninni eða sýnislausnunum (5.1) eru settir á byrjunarlínuna á skriðsvæði þunnlagsskilytunnar.

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

Þunnlagsskilytan er strax sett í ómettað ílátid og skilytan látin fara fram við stofuhita þar til leysijadaðarinn hefur fært sig um 15 cm frá byrjunarlínunni. Platan er tekin úr þunnlagsskiljuflátinu og þurrkuð í heitum loftstraumi með hárburrku.

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 umframedíksýru. Rotvarnarefni eru framkölluð á skilyritinu með Millon-hvarfefni (3.10) á þann hátt að málningarrúllunni (4.7) er dýft í hvarfefnið og rennt yfir þunnlagsskilytuna 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 sýnislausninni, 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 hágæðavökvaskiljunina sem lýst er í þætti B. Niðurstöður þunnlagsskiljunar og hágæðavökvaskiljunar eru bornar saman til að staðfesta íveru 2-fenoxýetanóls, 1-fenoxýprópan-2-óls og parabenanna.

7. **Athugasemdir**

7.1. Þar sem Millon-hvarfefni er eitrad 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 Kruijff, 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. **ÁKVÖRDUN**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 hundradshluti 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. **Almennt**

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. Tetrahýdrófurán
- 4.12. Metanól
- 4.13. Asetónítríl
- 4.14. Brennisteinssýrulausn $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2$ 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: tetrahýdrófurán-/vatns-/metanól-/asetónítrílblanda
Fimm hlutum tetrahýdrófurans, 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 nýlagðar.
5. **Búnaður**
Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, og:
 - 5.1. Vatnsbað sem unnt er að halda við $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$,
 - 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 tilraunaglös. 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 kælikáp 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 $1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ af sýni, með þriggja aukastafa nákvæmni, í 100 ml tilraunaglas með skruftappa.

1,0 ml af brennisteinssýrulausn og 40,0 ml af etanól-/vatnsblöndu eru fluttir með rennipípu yfir í tilraunaglassið. 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 einleit sviflausn. Hrista skal í minnst eina mínútu. Til að auðvelda útdrátt rotvarnarefna yfir í etanólfasann er tilraunaglassið sett í fimm mínútur í vatnsbað sem haldið er við $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

Tilraunaglassið 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 μl 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 μl af sýnislausn án innri staðals (6.1.1) er sprautað í vökvaskiljuna og skiljuritíð skráð.

10 μl af staðallausnum rotvarnarefnanna (4.19) er sprautað í og skiljuritíð skráð. Skiljuritin sem fást eru borin saman.

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

Ef truflandi toppur með um það bil sama rástíma og ísóprópýlparaben sést í skiljurití 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)

toppskiljun (p)

$p=f/g$

Skýringarmynd 1: Toppskiljun

Náist ekki tilskilin skiljun verður annaðhvort að nota súlu sem skilar betri árangri eða leiðréttta 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.

Ósamhverfustuðull A_s

$$A_s = b/a$$

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 hundraðshluti 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. Endurtekningarrhæfni⁽¹⁾

Sjá athugasemdir í lið 10.5.

9. Endurtakanleiki⁽¹⁾

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.

⁽¹⁾ ISO 5725.

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 samstarfstilraun nýu 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	Metýlparaben	Etýlparaben	Própýlparaben	Bútýlparaben	Bensýlparaben
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