

SJÖTTA TILSKIPUN FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR 95/32/EB

frá 7. júlí 1995

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 94/32/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⁾ og 93/73/EBE ⁽⁹⁾.

Í sjötta áfanga er fjallað um hvernig skuli bera kennsl á og ákvarða bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, sorbínsýru, salísýlsýru og própíónsýru í snyrtivörum og hvernig skuli bera kennsl á og ákvarða hýdrókínón, hýdrókínón-mónómetýleter, hýdrókínón-mónóbenzýleter og hýdrókínón-mónóbensýleter 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:

— bera kennsl á og ákvarða bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, sorbínsýru, salísýlsýru og própíónsýru,

— bera kennsl á og ákvarða hýdrókínón, hýdrókínón-mónómetýleter, hýdrókínón-mónóbenzýleter og hýdrókínón-mónóbensýleter,

í samræmi við þær aðferðir sem lýst er í viðaukanum.

2. gr.

1. Aðildarríkin skulu samþykkja nauðsynleg lög og stjórnáslufyrirmæli til að fara að tilskipun þessari eigi síðar en 30. september 1996. 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 málefni sem tilskipun þessi nær til.

3. gr.

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

4. gr.

Tilskipun þessari er beint til aðildarríkjanna.

Gjört í Brussel 7. júlí 1995.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Emma BONINO

framkvæmdastjóri.

⁽¹⁾ Stjttíð. EB nr. L 262, 27. 9. 1976, bls. 169.⁽²⁾ Stjttíð. EB nr. L 181, 15. 7. 1994, bls. 31.⁽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.

VIÐAUKI

I. KENNSL BORIN Á OG ÁKVÖRÐUN TEKIN UM BENSÓSÝRU, 4-HÝDROXÝBENSÓSÝRU, SORBÍNSÝRU, SALISÝLSÝRU OG PRÓPÍÓNSÝRU Í SNYRTIVÖRUM

1. **Umfang og gildissvið**

Þessa aðferð má nota til að bera kennsl á og ákvarða bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, sorbínsýru, salisýlsýru og própíónsýru í snyrtivörum. Mismunandi aðferðir eru notaðar til að bera kennsl á þessi rotvarnarefni, ákvarða própíónsýru og til að ákvarða bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, sorbínsýru og salisýlsýru.

2. **Skilgreining**

Innihald bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, salisýlsýru, sorbínsýru og própíónsýru sem er ákvarðað með þessari aðferð er gefið til kynna sem hundraðshluti miðað við massa (% m/m) óbundinnar sýru.

A. AÐ BERA KENNSL Á

1. **Meginregla**

Þegar rotvarnarefnin hafa verið dregin út með sýru/basa er útdrátturinn efnagreindur með þunnlagskiljun (TLC) með því að mynda afleiðu á plötunni. Eftir því hverjar niðurstöðurnar verða eru kennslin staðfest með hágæðavökvaskiljun (HPLC) eða, ef um própíónsýru er að ræða, með gasgreiningu (GC).

2. **Hvarfefni**2.1. **Almennt**

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

2.2. **Aseton**2.3. **Díetýleter**2.4. **Asetonítríl**2.5. **Tólúen**2.6. **n-Hexan**2.7. **Parafín, fljótandi**2.8. **Saltsýra, 4M**2.9. **Kalíumhýdroxíð, vatnslausn, 4 M**2.10. **Kalsíumklóríð, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$** 2.11. **Lítíumkarbónat, Li_2CO_3** 2.12. **2-bróm-2'-asetonafton**2.13. **4-hýdroxýbensósýra**2.14. **Salisýlsýra**2.15. **Bensósýra**2.16. **Sorbínsýra**2.17. **Própíónsýra**

- 2.18. Viðmiðunarlausnir
Búin er til 0,1% (m/v) lausn (100 mg/100 ml) úr hverju rotvarnarefnanna fimm (2.13 – 2.17) í díetýleter.
- 2.19. Hvarfefni til afleiðumyndunar
0,5% (m/v) lausn (50 mg/10 ml) 2-bróm-2'-asetonaftons (2.12) í asetonítríli (2.4). Búin er til ný lausn í hverri viku. Geymist í kælikáp.
- 2.20. Hvatalausn
0,3% (m/v) lausn litfúmkarbons (2.11) í vatni (300 mg/100 ml). Þessi lausn skal vera nýlögð.
- 2.21. Ferðafasi
Tólúen (2.5)/aseton (2.2) (20:0,5; v/v)
- 2.22. Fljótandi paraffín
(2.7)/n-hexan (2.6) (1:2; v/v)

3. **Búnaður**

Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu

- 3.1. Vatnsbað sem haldið er við 60°C
- 3.2. Þunnlagsskiljuflát
- 3.3. Útfjólublár ljósgjafi, 254 og 366 nm
- 3.4. Þunnlagssplötur, kísilgel 60, án flúrljómunarvísis, 20 × 20 cm að stærð og 0,25 mm að þykkt með 2,5 × 20 cm skriðsvæði (Merck 11845, eða sambærileg vara)
- 3.5. Smáspauta, 10 µl
- 3.6. Smáspauta, 25 µl
- 3.7. Hitaskápur sem hægt er að halda við allt að 105°C
- 3.8. 50 ml tilraunaglas með skrúftappa
- 3.9. Síupappír, 90 mm að þvermáli, Schleicher og Schull, Weissband No. 5892, eða sambærileg vara
- 3.10. Universal-litvísispappír, sýrustig 1–11
- 3.11. 5 ml sýnaglös
- 3.12. Hverfisvali (Rotavapor eða sambærileg vara)
- 3.13. Hitaplata

4. **Aðferð**

- 4.1. Undirbúningur sýnis

Um það bil 1 g af sýni er vegið í 50 ml tilraunaglas með skrúftappa (3.8). Fjórum dropum af 4 M saltsýru (2.8) og 40 ml af asetoni (2.2) er bætt út í. Ef um mjög basíska vöru er að ræða, til dæmis handsápu, er 20 dropum af 4 M saltsýru (2.8) bætt út í. Með litvísispappír (3.10) er þess gætt að sýrustig sé um það bil 2. Tilraunaglasinu er lokað og það hrist kröftuglega í eina mínútu.

Ef auðvelda þarf útdrátt rotvarnarefnanna yfir í asetonfasann er blandan hituð varlega upp í um það bil 60°C til að bræða vökvafasann.

Lausnin er kæld niður í stofuhita og síuð í gegnum síupappír (3.9) ofan í keiluflösku.

20 ml af síuvökvanum eru færðir yfir í 200 ml keilufloösku, 20 ml af vatni er bætt við og þessu er blandað saman. Sýrustig blöndunnar er stillt á um það bil 10 með 4 M kalíumhýdroxíði (2.9). Notaður er litvísispappír til að mæla sýrustig (3.10).

1 g af kalsíumklóríði (2.10) er bætt við og hrist kröftuglega. Þá er síað gegnum síupappír (3.9) ofan í 250 ml skiltrekt sem inniheldur 75 ml díetýleter (2.3) og hrist kröftuglega í eina mínútu. Fasarnir eru láttnir skiljast og vatnsfasinn er tappaður af yfir í 250 ml keilufloösku. Eterfasanum er hent. Notaður er litvísispappír (3.10) til að stilla sýrustig vatnslausnarinnar á um það bil 2 með 4 M saltsýru (2.8). 10 ml af díetýleter (2.3) er bætt við, tappi settur í floöskuna og hún hrist kröftuglega í eina mínútu. Þegar fasarnir hafa skilist að er eterfasinn færður yfir í hverfisvala (3.12). Vatnsfasanum er hent.

Eterfasinn er látinn gufa upp þar til hann er næstum þurr og leifarnar eru enduruppleystar í 1 ml af díetýleter (2.3). Lausnin er færð yfir í sýnaglas (3.11).

4.2. Þunnlagsskiljun

Fyrir hverja viðmiðunar- og sýnislausn sem skilja á er um það bil 3 μ l af litíumkarbónatlausn (2.20) settir með sprautu (3.5) með jöfnu millibili á byrjunarlínuna á skriðsvæði þunnlagsplötu (3.4) og hún þurrkuð í köldum loftstraumi.

Þunnlagsplatan er sett á hitaplötu (3.13) sem hefur verið hituð upp í 40°C til að blettirnir haldist eins litlir og unnt er. Með smásprautu (3.5) eru 10 μ l af hverri viðmiðunarlausn (2.18) og sýnislausninni (4.1) settir á byrjunarlínu plötunnar, ofan í nákvæmlega sömu bletti og litíumkarbónatlausnin var sett.

Loks skal bæta við um það bil 15 μ l af hvarfefni til afleiðmyndunar (2.19) (2-brómó-2'-asetonaftonlausn), aftur á nákvæmlega sömu bletti og viðmiðunar/sýnislausnirnar og litíumkarbónatlausnin.

Þunnlagsplatan er hituð í hitaskáp (3.7) upp í 80°C í 45 mínútur. Þegar hún hefur kólnað er hún framkölluð í þunnlagsskiljufláti (3.2.) (ekki klætt með síupappír), sem hefur verið jafnvægisstillt í 15 mínútur með ferðafasa (2.21 (tólúen/aseton), þar til leysijaðarinn hefur fært sig um 15 cm (sem getur tekið um það bil 80 mínútur).

Platan er þurrkuð í köldum loftstraumi og blettirnir skoðaðir undir útfjólubláu ljósi (3.3) Til að auka flúrljómun daufu blettanna má dýfa þunnlagsplötunni í fljótandi parafín/n-hexan (2.22).

5. Að bera kennsl á

Rf-gildi hvers bletts er reiknað.

Rf-gildi sýnisins og útlit í útfjólubláu ljósi er borið saman við sömu atriði fyrir viðmiðunarlausnirnar.

Dregin er frumályktun með tilliti til auðkenna rotvarnarefnanna sem eru til staðar. Framkvæma skal hágæðavökvaskiljun (HPLC) sem lýst er í B-hluta eða, ef svo virðist sem própíónsýra sé til staðar, gasgreiningu (GC) sem lýst er í C-hluta. Rástímarnir eru bornir saman við rástíma viðmiðunarlausnanna.

Niðurstöður úr þunnlagsskiljun og hágæðavökvaskiljun eða gasgreiningu eru sameinaðar og kennsl endanlega borin á rotvarnarefni í lausninni með sameinuðum niðurstöðum úr þunnlagsskiljun og hágæðavökvaskiljun eða gasgreiningu.

B. ÁKVÖRÐUN BENSÓSÝRU, 4-HÝDROXYBENSÓSÝRU, SORBÍNSÝRU OG SALISÝLSÝRU

1. Meginregla

Þegar sýnið hefur verið gert súrt er það dregið út með blöndu af etanóli og vatni. Að síun lokinni eru rotvarnarefni ákvörðuð með hágæðavökvaskiljun.

2. Hvarfefni

- 2.1. Öll hvarfefni skulu vera efnagreiningarhrein og henta til hágæðavökvaskiljunar þegar það á við. Vatnið sem er notað skal vera eimað eða að minnsta kosti jafnhreint og eimað vatn.
- 2.2. Etanól, óblandað
- 2.3. 4-hýdroxybensósýra

- 2.4. Salísýlsýra
 - 2.5. Bensósýra
 - 2.6. Sorbínsýra
 - 2.7. Natríumasetat, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
 - 2.8. Ediksýra, $(\alpha)_4^{20} = 1,05 \text{ g/ml}$
 - 2.9. Asetonítríl
 - 2.10. Brennisteinssýra, 2 M
 - 2.11. Kalíumhýdroxíð, vatnslausn, 0,2 M
 - 2.12. 2-metoxýbensósýra
 - 2.13. Etanól/vatnsblanda
Nú rúmmálshlutar etanóls (2.2) eru blandaðir með einum rúmmálshluta vatns (2.1).
 - 2.14. Innri staðallausn:
Um það bil 1 g af 2-metoxýbensósýru (2.12) er leyst upp í 500 ml af etanól/vatnsblöndu (2.13).
 - 2.15. Ferðafasi fyrir hágæðavöskviljun
 - 2.15.1. Asetatjafnalausn: 6,35 g af natríumasetati (2.7) og 20 ml af ediksýru (2.8) er bætt í 1 lítra af vatni og þessu blandað saman.
 - 2.15.2. Ferðafasinn er búinn til með því að blanda níu rúmmálshlutum af asetatjafnalausn (2.15.1) og einum rúmmálshluta af asetonítríli (2.9).
 - 2.16. Stofnlausn rotvarnarefna
Um það bil 0,05 g 4-hýdroxýbensósýru (2.3), 0,2 g salísýlsýru (2.4), 0,2 g bensósýru (2.5) og 0,05 g sorbínsýru (2.6) eru vegin með nákvæmni í 50 ml mæliflösku og fyllt upp að marki með etanól/vatnsblöndu (2.13). Þessi lausn er geymd í kæli. Lausnin er stöðug í eina viku.
 - 2.17. Staðallausnir rotvarnarefna:
Settir eru 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 og 0,50 ml af stofnlausn (2.16) í jafnmargar 20-ml mæliflöskur. Í hverja flösku er bætt við 10,00 ml innri staðallausnar (2.14) og 0,5 ml af 2 M brennisteinssýru (2.10). Fyllt upp að marki með etanól/vatnsblöndu (2.13). Þessar lausnir verða að vera nýlagðar.
3. **Búnaður**
- Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, ekki nánar tiltekinn, og:
- 3.1. Vatnsbað, við 60°C.
 - 3.2. Hágæðavöskviljunarbúnaður með 10 μl innsprautunarlykkju og nema fyrir útfjólublátt ljós með breytilegri bylgjulengd
 - 3.3. Efnagreiningarsúla
Úr ryðfríu stáli, 12,5 – 25 cm á lengd, innra þvermál 4,6 mm, fyllt með Nucleosil 5C18 eða jafngildi þess.
 - 3.4. Síupappír, 90 mm að þvermáli, Schleicher og Schull, Weissband nr. 5892, eða jafngildi þess.
 - 3.5. 50 ml tilraunaglös með skráftappa

- 3.6. 5 ml sýnaglös
- 3.7. Suðusteinir, kísilkol, kornastærð 2 – 4 mm, eða jafngildi þess.

4. Vinnuaðferð

4.1. Undirbúningur sýnis

4.1.1. Sýni undirbúið án þess að innri staðli sé bætt við

1 g af sýni er vegið í 50 ml tilraunaglas með skrúftappa (3.5). 1,0 ml af 2 M brennisteinssýru (2.10) og 40,0 ml af etanól/vatnsblöndu (2.13) eru fluttir með rennipípu yfir í tilraunaglas. Um það bil 1 g af suðusteinum (3.7) er bætt við, tilraunaglasinu lokað og það hrist kröftuglega í að minnsta kosti eina mínútu þar til fengin er einsleit sviflausn. Til að auðvelda útdrátt rotvarnarefna yfir í etanólfasann er tilraunaglas sett í vatnsbað (3.1) við 60°C í nákvæmlega fimm mínútur.

Tilraunaglas er kælt þegar í stað í kaldri vatnsbunu og útdrátturinn er geymdur við 5°C í eina klukkustund.

Útdrátturinn er síaður í gegnum síupappír (3.4). Um það bil 2 ml af útdrættinum eru færðir yfir í sýnaglas (3.6). Útdrátturinn er geymdur við 5°C og hágæðavökvaskiljun framkvæmd innan sólarhrings frá undirbúningi sýnisins.

4.1.2. Sýni undirbúið og innri staðli bætt við

Vegin eru $1 \pm 0,1$ g (a grömm) sýnis, með þriggja aukastafa nákvæmni, í 50 ml tilraunaglas með skrúftappa (3.5). 1,0 ml af 2 M brennisteinssýru (2.10) og 30,0 ml etanól/vatnsblöndu (2.13) er bætt við með rennipípu. Um það bil 1 g af suðusteinum (3.7) og 10,0 ml af innri staðallausn er bætt við (2.14). Tilraunaglasinu er lokað og það hrist kröftuglega í að minnsta kosti mínútu þar til fengin er einsleit sviflausn. Til að auðvelda útdrátt rotvarnarefna yfir í etanólfasann er tilraunaglas sett í vatnsbað (3.1) við 60°C í nákvæmlega fimm mínútur.

Tilraunaglas er kælt þegar í stað í kaldri vatnsbunu og útdrátturinn er geymdur við 5°C í eina klukkustund.

Útdrátturinn er síaður í gegnum síupappír (3.4). Um það bil 2 ml af útdrættinum eru fluttir yfir í sýnaglas (3.6). Útdrátturinn er geymdur við 5°C og hágæðavökvaskiljun framkvæmd innan sólarhrings frá undirbúningi sýnisins.

4.2. Hágæðavökvaskiljun

Ferðafasi: asetónítrí/asetatjafnalausn (2.15).

Rennsli ferðafasans í gegnum súluna er stillt á $2,0 \pm 0,5$ ml/mín. Bylgjulengd nemans er stillt á 240 nm.

4.2.1. Kvörðun

10 μ l skammti af staðallausn hvers rotvarnarefnis (2.17) er sprautað í vökvaskiljuna (3.2). Hlutfallið milli hæðartopps hvers rotvarnarefnis sem verið er að rannsaka og hæðartopps innri staðalsins er ákvarðað með skiljuritunum sem fást. Teiknað er graf fyrir hvert rotvarnarefni sem sýnir tengsl hæðartoppshlutfallsins við styrk hvers staðallausnar.

Þess skal gætt að línuleg svörun fái fyrir staðallausnirnar sem notaðar eru til kvörðunar.

4.2.2. Ákvörðun

10 μ l af sýnisútdrættinum (4.1.1) er sprautað í vökvaskiljuna (3.2) og skiljuritið skráð. 10 μ l af staðallausn rotvarnarefnisins (2.17) er sprautað í og skiljuritið skráð. Skiljuritin sem fást eru borin saman. Ef enginn toppur með um það bil sama rástíma og 2-metoxýbensósýra (ráðlagður innri staðall) virðist í skiljuriti sýnisútdráttarins (4.1.1) er 10 μ l sýnisútdráttar með innri staðli (4.1.2) sprautað í vökvaskiljuna og skiljuritið skráð.

Ef truflandi toppur með sama rástíma og 2-metoxýbensósýra sést í skiljuriti sýnisútdráttarins (4.1.1) er rétt að velja annan hentugan innri staðal. (Ef eitt rotvarnarefnanna sem verið er að rannsaka vantar í skiljuritið má nota það rotvarnarefni sem innri staðal.)

Gengið skal 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.

5. Útreikningur

Hlutfallið milli hæðartopps rotvarnarefnanna sem verið er að rannsaka og hæðartopps 2-metoxýbensósýru (innri staðall) er notað ásamt kvörðunargrafinu til að reikna styrk súru rotvarnarefnanna í sýnislausninni. Innihald bensósýru, 4-hýdroxýbensósýru, sorbínsýru eða salísýlsýru í sýninu er reiknað sem hundraðshluti miðað við massa (x_i) með jöfnunni:

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

þar sem:

a = massi sýnis (4.1.2) í grömmum,

b = styrkur rotvarnarefnisins í sýnisútdrættinum (4.1.2), í míkrogrömmum í hverjum millílíttra, samkvæmt kvörðunargrafinu.

6. Endurtekningarhæfni⁽¹⁾

Ef 4-hýdroxýbensósýruinnihald er af stærðargráðunni 0,40% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,035%.

Ef bensósýruinnihald er af stærðargráðunni 0,50% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,050%.

Ef salísýlsýruinnihald er af stærðargráðunni 0,50% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,045%.

Ef sorbínsýruinnihald er af stærðargráðunni 0,60% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi 0,035%.

7. Athugasemdir

7.1. Niðurstöður prófana á því hversu traust aðferðin er sýndu að miklu máli skiptir hversu mikilli brennisteinssýru er bætt við til að draga sýruna út úr sýninu og að magni undirbúins sýnis skuli haldið innan tilskilinna marka.

7.2. Ef þess er óskað má nota viðeigandi forsúlu.

C. ÁKVÖRÐUN PRÓPÍÓNSÝRU**1. Umfang og gildissvið**

Þessa aðferð má nota til að ákvarða própíónsýru að hámarksstyrkleika 2% (m/m) í snyrtivörum.

2. Skilgreining

Styrkur própíónsýru sem er mældur með þessari aðferð er gefinn til kynna sem hundradshluti miðað við massa (% m/m) vörunnar.

3. Meginregla

Þegar própíónsýra hefur verið dregin út úr vörunni er ákvörðun framkvæmd með gasgreiningu þar sem 2-metýlprópíónsýra er notuð sem innri staðall.

4. Hvarfefni

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

4.1. Etanól, 96% (v/v)

4.2. Própíónsýra

4.3. 2-metýlprópíónsýra

4.4. Ortófosfórsýra, 10% (m/v)

4.5. Própíónsýrulausn

Um það bil 1,00 g (p grömm) própíónsýru er vegið með nákvæmni í 50 ml mæliflösku og fyllt upp að marki með etanóli (4.1).

4.6. Innri staðallausn

Um það bil 1,00 g (e grömm) 2-metýlprópíónsýru er vegið með nákvæmni í 50 ml mæliflösku og fyllt upp að marki með etanóli (4.1).

⁽¹⁾ ISO 5725.

5. **Búnaður**

- 5.1. Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, og:
- 5.2. Gasgreinir með logajónunarnema
- 5.3. Tilraunaglas (20 × 150 mm) með skróftappa
- 5.4. Vatnsbað, 60°C
- 5.5. 10 ml glersprauta með himnusú (holustærð: 0,45 µm)

6. **Vinnuaðferð**

6.1. Undirbúningur sýnis

6.1.1. Sýni undirbúið án þess að innri staðli sé bætt við

Um það bil 1 g af sýni er vegið í tilraunaglas (5.3). 0,5 ml af fosfórsýru (4.4) og 9,5 ml af etanóli (4.1) er bætt við.

Tilraunaglasinu er lokað og það hrist kröftuglega. Ef þörf krefur er tilraunaglasíð sett í vatnsbað við 60°C (5.4) í fimm mínútur til leysa fitufasann alveg upp. Kælt hratt undir rennandi vatni. Hluti lausnarinnar er síður í gegnum himnusú (5.5). Síuvökvinn er greindur samdægurs með gasgreini.

6.1.2. Sýni undirbúið og innri staðli bætt við

Vegin eru $1 \pm 0,1$ g (a grömm) sýnis, með þriggja aukastafa nákvæmni, í tilraunaglas (5.3). 0,5 ml af fosfórsýru (4.4) 0,50 ml af innri staðallausn (4.6) og 9 ml af etanóli (4.1) er bætt við.

Tilraunaglasinu er lokað og það hrist kröftuglega. Ef þörf krefur er tilraunaglasíð sett í vatnsbað við 60°C (5.4) í fimm mínútur til leysa fitufasann alveg upp. Kælt hratt undir rennandi vatni. Hluti lausnarinnar er síður í gegnum himnusú (5.5). Síuvökvinn er gasgreindur samdægurs.

6.2. Skilyrði fyrir gasgreiningu

Mælt er með eftirfarandi skilyrðum:

Súla

Tegund	Ryðfrítt stál
Lengd	2 m
Þvermál	1/8 "
Umbúðir	10% SP TM 1000 (eða jafngildi þess) + 1% H ₃ PO ₄ á Chromosorb WAW 100 til 120 mesh

Hitastig

Sprauta	200°C
Súla	120°C
Nemi	200°C
Burðargas	nítrógen
Rennsli	25 ml/mín.

6.3. Gasgreining

6.3.1. Kvörðun

0,25, 0,50, 1,00, 2,00 og 4,00 ml af própíónsýrulausn (4.5) eru fluttir með rennipípu yfir í jafnmargar 20 ml mæliflöskur. 1,00 ml af innri staðallausn eru settir með rennipípu í hverja mæliflösku (4.6). Fyllt er að marki í hverri flösku með etanóli (4.1) og blandað. Lausnir sem eru búnar til á þennan hátt innihalda e mg/ml af 2-metýlprópíónsýru sem innri staðal (það er að segja, 1 mg/ml ef e = 1 000) og p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml própíónsýru (það er að segja, 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 mg/ml ef p = 1 000).

1 µl af hverri þessara lausna er sprautað inn og kvörðunarkúrfu fengin með því að teikna massahlutfallið á milli própíónsýru og 2-metýlprópíónsýru á x-ásinn og hlutfall samsvarandi toppflatarmáls á y-ásinn.

Hverri lausn er sprautað þrisvar inn og meðalhlotfall toppflatarmáls er reiknað.

6.3.2. Ákvörðun

1 μ l af síuvökva sýnisins (6.1.1) er sprautað inn. Skiljuritið er borið saman við skiljurit staðallausnar (6.3.1). Hafi toppur um það bil sama rástíma og 2-metýlprópiónsýra skal breyta innri staðlinum. Ef engar truflunar verður vart skal sprauta inn 1 μ l af síuvökva sýnisins (6.1.2) og mæla flatarmál própiónsýrutoppins og innri staðaltoppins.

Hverri lausn er sprautað þrisvar inn og meðalhlotfall toppflatarmáls er reiknað.

7. Útreikningar

7.1. Massahlutfallið (K), sem svarar til toppflatarmálshlutfallsins sem reiknað er í lið 6.3.2., er lesið af kvörðunarkúrfunni sem fengin er samkvæmt lið 6.3.1.

7.2. Á grundvelli massahlutfallsins sem fengið er með þessum hætti er reiknað própiónsýruinnihald sýnisins (X) sem hundraðshluti miðað við massa með jöfnunni:

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

þar sem:

K = hlutfallið sem reiknað er samkvæmt 7.1,

e = massi innri staðalsins, sem veginn er í lið 4.6, í grömmum,

a = massi sýnisins, sem vegið er í lið 6.1.2, í grömmum.

Gefa skal niðurstöðurnar upp með eins aukastafs nákvæmni.

8. Endurtekningarfærni⁽¹⁾

Ef própiónsýruinnihald er 2% (m/m) skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki vera meiri en 0,12%.

II. KENNSL BORIN Á OG ÁKVÖRÐUN TEKIN UM HÝDRÓKÍNÓN, HÝDRÓKÍNÓN-MÓNÓMETÝLETER, HÝDRÓKÍNÓN-MÓNÓETÝLETER OG HÝDRÓKÍNÓN-MÓNÓBENSÝLETER Í SNYRTIVÖRUM

A. AÐ BERA KENNSL Á

1. Umfang og gildissvið

Þessi aðferð lýsir hvernig unnt er að finna og bera kennsl á hýdrókínón, hýdrókínón-mónómetýleter, hýdrókínón-mónóetýleter og hýdrókínón-mónóbensýleter (mónóbensón) í snyrtivörum til að lýsa hörund.

2. Meginregla

Borin eru kennsl á hýdrókínón og etera þess með þunnlagsskiljun (TLC).

3. Hvarfefni

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um efnagreiningarhreinleika.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 3.1. Etanól, 96% (v/v)
- 3.2. Klóróform
- 3.3. Díetýleter
- 3.4. Ferðafasi:
Klóróform/díetýleter, 66:33 (v/v)
- 3.5. Ammóníak, 25% (m/m) ($d_4^{20} = 0,91$ g/ml)
- 3.6. Askorbínsýra
- 3.7. Hýdrókínón
- 3.8. Hýdrókínón-mónómetýleter
- 3.9. Hýdrókínón-mónóetýleter
- 3.10. Hýdrókínón-mónóbensýleter (mónóbensón)
- 3.11. Viðmiðunarlausnir
Eftirfarandi viðmiðunarlausnir skulu vera nýlagðar og eru stöðugar í einn dag.
 - 3.11.1. Um það bil 0,05 g hýdrókínóns (3.7) eru vegin í kvarðað 10-ml tilraunaglas. 0,250 g af askorbínsýru (3.6) og 5 ml af etanóli (3.1) er bætt við. Þá er ammóníaki (3.5) bætt við þar til sýrustigið er 10 og fyllt upp að 10 ml markinu með etanóli (3.1).
 - 3.11.2. Um það bil 0,05 g hýdrókínón-mónómetýleters (3.8) eru vegin í kvarðað 10-ml tilraunaglas. 0,250 g af askorbínsýru (3.6) og 5 ml af etanóli (3.1) er bætt við. Þá er ammóníaki (3.5) bætt við þar til sýrustigið er 10 og fyllt upp að 10 ml markinu með etanóli (3.1).
 - 3.11.3. Um það bil 0,05 g hýdrókínón-mónóetýleters (3.9) eru vegin í kvarðað 10-ml tilraunaglas. 0,250 g af askorbínsýru (3.6) og 5 ml af etanóli (3.1) er bætt við. Þá er ammóníaki (3.5) bætt við þar til sýrustigið er 10 og fyllt upp að 10 ml markinu með etanóli (3.1).
 - 3.11.4. Um það bil 0,05 g hýdrókínón-mónóbensýleters (3.10) eru vegin í kvarðað 10-ml tilraunaglas. 0,250 g af askorbínsýru (3.6) og 5 ml af etanóli (3.1) er bætt við. Þá er ammóníaki (3.5) bætt við þar til sýrustigið er 10 og fyllt upp að 10 ml markinu með etanóli (3.1).
- 3.12. Silfurnítrat
- 3.13. 12-fosfórmólýbdensýra
- 3.14. Kalíumjármsýaníð hexahýdrat
- 3.15. Járnklóríð-hexahýdrat
- 3.16. Úðahvarfefni
 - 3.16.1. Bætið ammóníaki (3.5) við 5% (m/v) lausn silfurnítrats (3.12) þar til botnfallið sem myndast leysist upp.
Viðvörðun:
Henda skal lausninni eftir notkun þar eð hún verður óstöðug svo að hætta er á sprengingu ef hún er látin standa.
 - 3.16.2. Búin er til 10% (m/v) lausn 12-fosfórmólýbdensýru (3.13) í etanóli (3.1).

- 3.16.3. Búin er til 1% (m/v) vatnslausn kalíumjárnstíðs (3.14) og 2% (m/v) vatnslausn járnklóríðs (3.15). Jöfnum hlutum beggja lausna er blandað saman rétt fyrir notkun.

4. **Búnaður**

Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu, og:

- 4.1. Venjulegur þunnlagsskiljubúnaður
- 4.2. Þunnlagspötur, tilbúnað til notkunar: kísilgel GHR/UV₂₅₄; 20 × 20 cm (Machery, Nagel eða jafngildi þess). Lagþykkt 0,25mm.
- 4.3. Úthljóðsbað
- 4.4. Skilvinda
- 4.5. Lampi með útfjólubláu ljósi, 254 nm

5. **Vinnuaðferð**

- 5.1. Undirbúningur sýnis.

3,0 g sýnis eru vegin í 10-ml mæliglas. 0,250 g af askorbínsýru (3.6) og 5 ml af etanóli (3.1) er bætt við. Sýrustig lausnarinnar er stillt á 10 með ammóníaki (3.5). Þá er fyllt upp að 10 ml markinu með etanóli (3.1). Glasinu er lokað með tappa og gert einsleitt í úthljóðsbaði í 10 mínútur. Síðað í gegnum síupappír eða skilið í skilvindu á 3 000 snúningum á mínútu.

- 5.2. Þunnlagsskiljun

- 5.2.1. Ílát fyrir þunnlagsskiljun er mettað með ferðafasa (3.4).
- 5.2.2. 2 µl viðmiðunarlausnar (3.11) og 2 µl sýnislausnar (5.1) eru settir á plötu. Framkallað í myrkri við stofuhita þar til leysijaðarinn hefur fært sig um 15 cm frá byrjunarstað.

- 5.2.3. Platan er fjarlægð og látin þorna við stofuhita.

- 5.3. Greining

- 5.3.1. Platan er skoðuð undir útfjólubláu ljósi við 254 nm og merkt við stöðu blettanna.

- 5.3.2. Platan er úðuð með:

- silfurnítrathvarfefni (3.16.1), eða
- 12-fosfórmólybden-sýru-hvarfefni (3.16.2); og hitað að um það bil 120°C, eða
- kalíumjárnstíðlausn og járnklóríðlausn (3.16.3).

6. **Að bera kennsl á**

Reiknað er Rf-gildi hvers bletts.

Blettirnir sem fást úr sýnislausninni eru bornir saman við blettina úr viðmiðunarlausninni með tilliti til: Rf-gilda, litar blettanna undir útfjólubláu ljósi og litar blettanna eftir framköllun með úðahvarfefni.

Framkvæmd er hágæðavökvaskiljun eins og lýst er í B-hlutanum hér á eftir og rástímarnir sem fást fyrir topp(a) sýnisins eru bornir saman við rástíma toppa viðmiðunarlausnanna.

Niðurstöður þunnlagsskiljunar og hágæðavökvaskiljunar eru sameinaðar til að staðfesta nærveru hýdrókínóns og/eða etera þess.

7. **Athugasemdir**

Við aðstæðurnar sem lýst var voru Rf-gildin sem hér segir:

hýdrókínón:	0,32
hýdrókínón-mónómetýleter:	0,53
hýdrókínón-mónóetýleter:	0,55
hýdrókínón-mónóbensýleter:	0,58

B. ÁKVÖRÐUN

1. Umfang og gildissvið

Í þessari aðferð er lýst vinnuáferð til að ákvarða hýdrókínón, hýdrókínón-mónómetýleter, hýdrókínón-mónóetýleter og hýdrókínón-mónóbensýleter í snyrtivörum til að lýsa hörund.

2. Meginregla

Sýnið er dregið út með vatns-/metanólblöndu við væga upphitun til að bræða fituefni sem kunna að vera til staðar. Ákvörðun greiniefnanna í útdregnu lausninni er gerð með vökvaskiljun með andstæðum fasa og greiningu með útfjólubláu ljósi.

3. Hvarfefni

3.1. Öll hvarfefni verða að standast kröfur um efnagreiningarhreinleika. Vatn skal vera eimað eða hreinleiki þess ekki minni en eimaðs vatns.

3.2. Metanól

3.3. Hýdrókínón

3.4. Hýdrókínón-mónómetýleter

3.5. Hýdrókínón-mónóetýleter

3.6. Hýdrókínón-mónóbensýleter (mónóbensón)

3.7. Tetrahýdrófurán, hreinleiki efnisins skal vera nægjanlegur fyrir hágæðavökvaskiljun

3.8. Vatns-/metanólblanda, 1:1 (v/v)

Einum rúmmálshluta vatns og einum rúmmálshluta metanóls (3.2) er blandað saman.

3.9. Ferðafasi: tetrahýdrófurán-/vatnsblanda (45:55) (v/v)

45 rúmmálshlutum tetrahýdrófurans (3.7) og 55 rúmmálshlutum vatns er blandað saman.

3.10. Viðmiðunarlausn

Vegin eru 0,06 g hýdrókínóns (3.3), 0,08 g hýdrókínón-mónómetýleters (3.4), 0,10 g hýdrókínón-mónóetýleters (3.5) og 0,12 g hýdrókínón-mónóbensýleters (3.6) í 50 ml mæliflösku. Leyst upp og fyllt upp að marki með metanóli (3.2). Viðmiðunarlausnin er búin til með því að þynna 10,00 ml af þessari lausn í 50,00 ml með vatns-/metanólblöndu (3.8). Þessar lausnir skulu vera nýlagðar.

4. Búnaður

Venjulegur tækjabúnaður rannsóknarstofu og:

4.1. Vatnsbað sem má halda við 60°C

4.2. Hágæðavökvaskiljunarbúnaður með nema með útfjólubláu ljósi af mismunandi bylgjulengd og 10 µl innsprautunarlykkju.

4.3. Efnagreiningarsúla:

Skiljunarsúla úr ryðfrýju stáli, 250 mm á lengd, innra þvermál 4,6 mm, fyllt með Zorbax-fenýl (efnatengt fenetýlsílan á Zorbax SIL, lokameðhöndlað með trímetylklórósílan), kornastærð 6 µm eða jafngildi þess. Ekki skal nota forsúlu, nema fenýl-forsúlu eða jafngildi hennar.

4.4. Síupappír, 90 mm að þvermáli, Schleicher og Schull, Weissband nr. 5892 eða jafngildi þess.

5. **Vinnuaðferð**

5.1. Undirbúningur sýnis

Vegin eru $1 \pm 0,1$ g (a grömm) sýnis, með þriggja aukastafa nákvæmni, í 50 ml mæliflösku. Sýninu er dreift í 25 ml vatns-/metanólblöndu (3.8). Flöskunni er lokað og hún hrist kröftuglega þar til fengin er einsleit sviflausn. Hrista skal í minnst eina mínútu. Flaskan er sett í vatnsbað (4.1) sem haldið er við 60°C til að auka útdráttinn. Þá er flaskan kæld og fyllt upp að marki með vatni/metanóli (3.8). Útdrátturinn er síaður með síupappír (4.4). Ákvörðun með hágæðavökvaskilju er framkvæmd innan sólarhrings frá því að útdrátturinn var búinn til.

5.2. Hágæðavökvaskiljun

5.2.1. Rennsli ferðafasans (3.9) er stillt á 1,0 ml/mín. og bylgjulengd nemans á 295 nm.

5.2.2. 10 μl af sýnislausninni, sem var undirbúin á þann hátt sem lýst er í lið 5.1, er sprautað inn og skiljuritið skráð. Toppflatarmálið er mælt. Kvarðað er á þann hátt sem lýst er í 5.2.3. Skiljurit sýnisins og staðallausnarinnar eru borin saman. Toppflatarmálin og svörunarstuðlana (RF) sem reiknaðir eru í lið 5.2.3 skal nota til að reikna styrk greiniefnanna í sýnislausninni.

5.2.3. Kvörðun

10 μl af viðmiðunarlausninni (3.10) er sprautað inn og skiljuritið skráð. Sprautað er mörgum sinnum þar til stöðugt toppflatarmál er fengið.

Svörunarstuðullinn RF_i er reiknaður:

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

þar sem:

p_i = toppflatarmál hýdrókínóns, hýdrókínón-mónómetýleters, hýdrókínón-mónóetýleters og hýdrókínón-mónóbensýleters, og

c_i = styrkur (g/50 ml) hýdrókínóns, hýdrókínón-mónómetýleters, hýdrókínón-mónóetýleters og hýdrókínón-mónóbensýleters í viðmiðunarlausninni (3.10).

Gengið er úr skugga um að skiljurit staðalupplausnar og sýnislausnarinnar standist eftirfarandi kröfur:

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

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 milli 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.

6. Útreikningur

Toppflatarmál greiniefnisins eru notuð til að reikna styrk greiniefnis (greiniefna) í sýninu. Styrkur greiniefnis í sýninu er reiknaður sem hundraðshluti miðað við massa (x_i) með jöfnunni:

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

þar sem:

a = massi sýnis í grömmum, og

b_i = toppflatarmál greiniefnisins i í sýninu.

7. Endurtekningarhæfni⁽¹⁾

- 7.1. Ef hýdrókínóninnihald er af stærðargráðunni 2,0% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,13%.
- 7.2. Ef hýdrókínón-mónómetýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,1%.
- 7.3. Ef hýdrókínón-mónóetýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi en 0,11%.
- 7.4. Ef hýdrókínón-mónóbensýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja samhliða ákvarðana á sama sýninu ekki hafa hærra algildi 0,11%.

8. Endurtakanleiki⁽¹⁾

- 8.1. Ef hýdrókínóninnihald er af stærðargráðunni 2,0% skal munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana á sama sýninu við mismunandi skilyrði (aðrar rannsóknarstofur, aðrir starfsmenn, annar tækjabúnaður og/eða annar tími) ekki hafa hærra algildi en 0,37%.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 8.2. Ef hýdrókínón-mónómetýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana á sama sýninu við mismunandi skilyrði (aðrar rannsóknarstofur, aðrir starfsmenn, annar tækjabúnaður og/eða annar tími) ekki hafa hærra algildi en 0,21%.
- 8.3. Ef hýdrókínón-mónóetýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana á sama sýninu við mismunandi skilyrði (aðrar rannsóknarstofur, aðrir starfsmenn, annar tækjabúnaður og/eða annar tími) ekki hafa hærra algildi en 0,19%.
- 8.4. Ef hýdrókínón-mónóbensýleterinnihald er af stærðargráðunni 1,0% skal munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana á sama sýninu við mismunandi skilyrði (aðrar rannsóknarstofur, aðrir starfsmenn, annar tækjabúnaður og/eða annar tími) ekki hafa hærra algildi en 0,11%.

9. Athugasemdir

- 9.1. Ef hýdrókínóninnihald er þó nokkuð hærra en 2% og krafist er nákvæms mats á innihaldi skal þynna sýnisútdráttinn (5.1) í svipaðan styrk og fengist úr sýni sem innihéldi 2% hýdrókínóns og endurtaka ákvörðunina.

(Í sumum tækjum getur gleypni fyrir háan hýdrókínónstyrk verið fyrir utan línulegt svið nemans.)

9.2. Truflanir

Samkvæmt framangreindri aðferð er hýdrókínón og eterar þess ákvarðað í einni keyrslu með fastri samsetningu á ferðafasa. Fenýlsúla er notuð til að tryggja næga töf hýdrókínóns en hana er ekki hægt að tryggja þegar C18-súla er notuð með ferðafasanum sem lýst er.

Ef hágæðavökvaskiljunaraðferðin sem hér er lýst er notuð er þó hætt við truflunum af völdum ýmissa parabenefna. Ef svo er skal ákvörðunin endurtekin með öðrum ferðafasa/stöðufasakerfi. Finna má hentugar aðferðir í 1. og 2. neðanmálsgrein hér á eftir:

Súla: Zorbax ODS, 4,6 mm x 25 mm, eða jafngildi þess:

hitastig: 36°C

flæði: 1,5 ml/mín.

ferðafasi:

fyrir hýdrókínón: metanól/vatn 5/95 (v/v)

fyrir hýdrókínón-mónómetýleter: metanól/vatn 30/70 (v/v)

fyrir hýdrókínón-mónóbensýleter: metanól/vatn 80/20 (v/v)⁽¹⁾.

Súla: Spherisorb S5-ODS, eða jafngildi þess:

Ferðafasi: vatn/metanól 90/10 (v/v)

flæði 1,5 mm/mín.

Þessi skilyrði henta til efnagreiningar hýdrókínóns⁽²⁾.

⁽¹⁾ 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, bls. 129.