31995L0032

L 178/20 *AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK HIVATALOS LAPJA* 1995.7.28.

A BIZOTTSÁG 95/32/EK HATODIK IRÁNYELVE

(1995. július 7.)

a kozmetikai termékek összetételének ellenőrzéséhez szükséges vizsgálati módszerekről

(EGT vonatkozású szöveg)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a legutóbb a 94/32/EK irányelvvel [1] módosított, a tagállamok kozmetikai termékekre vonatkozó jogszabályainak közelítéséről szóló, 1976. július 27-i 76/768/EGK tanácsi irányelvre [2] és különösen annak 8. cikke (1) bekezdésére,

mivel a 76/768/EGK irányelv rendelkezik a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálatáról azzal a céllal, hogy biztosítsa a kozmetikai termékek összetételére vonatkozó közösségi rendelkezések által előírt feltételek betartását;

mivel minden szükséges vizsgálati módszert a lehető leggyorsabban meg kell határozni; mivel bizonyos módszereket a 87/143/EGK [3] és 82/434/EGK [4] irányelvvel majd a 90/207/EGK [5], a 83/514/EGK [6], a 85/490/EGK [7] és a 93/73/EGK [8] irányelvvel módosított 80/1335/EGK [9] bizottsági irányelv révén már elfogadtak;

mivel a kozmetikai termékekben lévő benzoesav, 4-hidroxibenzoesav, szorbinsav, szalicilsav és propionsav, valamint a kozmetikai termékekben lévő hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter és hidrokinon monobenzil-éter azonosítása és mennyiségi meghatározása jelenti a hatodik lépést;

mivel az ezen irányelvben megállapított rendelkezések összhangban vannak a 76/768/EGK irányelv műszaki fejlődéshez való hozzáigazításával foglalkozó bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

1. cikk

A tagállamok megtesznek minden szükséges intézkedést annak biztosítására, hogy a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálata során:

– a benzoesav, 4-hidroxi-benzoesav, szorbinsav, szalicilsav és propionsav azonosítása és mennyiségi meghatározása,

– hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter és hidrokinon monobenzil-éter azonosítása és meghatározása,

a mellékletben meghatározott módszerek szerint történjék.

2. cikk

(1) A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ennek az irányelvnek legkésőbb 1996. szeptember 30-ig megfeleljenek. Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

Amikor a tagállamok elfogadják ezeket a rendelkezéseket, azokban hivatkozni kell erre az irányelvre, vagy azokhoz kihirdetésük alkalmával ilyen hivatkozást kell fűzni. A hivatkozás módját a tagállamok határozzák meg.

(2) A tagállamok közlik a Bizottsággal nemzeti joguknak azokat a főbb rendelkezéseit, amelyeket az ezen irányelv által szabályozott területen fogadnak el.

3. cikk

Ez az irányelv az *Európai Közösségek Hivatalos Lapjában* valót kihirdetését követő 20. napon lép hatályba.

4. cikk

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.

Kelt Brüsszelben, 1995. július 7-én.

a Bizottság részéről

Emma BONINO

a Bizottság tagja

---

(1) HL L 181., 1994.7.15., 31. o.
(2) HL L 262., 1976.9.27., 169. o.
(3) HL L 57., 1987.2.27., 56. o.
(4) HL L 185., 1982.6.30., 1. o.
(5) HL L 108., 1990.4.28., 92. o.
(6) HL L 291., 1983.10.24., 9. o.
(7) HL L 295., 1985.11.7., 30. o.
(8) HL L 231., 1993.9.14., 34. o.
(9) HL L 383., 1980.12.31., 27. o.

MELLÉKLET

I. BENZOESAV, 4-HIDROXIBENZOESAV, SZORBINSAV, SZALICILSAV ÉS PROPIONSAV AZONOSÍTÁSA ÉS MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA KOZMETIKAI TERMÉKEKBEN

1. Cél és alkalmazási terület

Ez a módszer a kozmetikai termékekben lévő benzoesav, 4-hidroxibenzoesav, szorbinsav, szalicilsav és propionsav azonosítására és mennyiségi meghatározására alkalmas. Külön eljárások írják le ezeknek a tartósítószereknek az azonosítását; a propionsav meghatározását; valamint a 4-hidroxibenzoesav, szalicilsav, szorbinsav és benzoesav meghatározását.

2. Fogalommeghatározás

Az e módszerrel meghatározott benzoesav, 4-hidroxibenzoesav, szalicilsav, szorbinsav és propionsav mennyiségét a szabad savak tömegszázalékában kifejezzük ki.

A. AZONOSÍTÁS

1. Alapelv

A tartósítószerek sav/bázis kivonását követően a kivonatot vékonyréteg-kromatográfiával (TLC) elemezzük, a derivatizációt a mérés napján végezzük el. Az eredményektől függően az azonosítást nagynyomásúfolyadék-kromatográfiával (HPLC) erősítjük meg, vagy propionsav esetében gázkromatográfiával (GC).

2. Reagensek

2.1. Általános rész

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie. A felhasznált víznek desztillált víznek vagy legalább azzal egyenértékű tisztaságú víznek kell lennie.

2.2. Aceton

2.3. Dietil-éter

2.4. Acetonitril

2.5. Toluol

2.6. n-Hexán

2.7. Folyékony paraffin

2.8. 4 M-os sósav

2.9. Kálium-hidroxid 4 M-os vizes oldata

2.10. Kalcium-klorid, $CaCl_2$ $2H_2O$

2.11. Lítium-karbonát, Li_2CO_3

2.12. 2-bróm-2'-acetonafton

2.13. 4-hidroxibenzoesav

2.14. Szalicilsav

2.15. Benzoesav

2.16. Szorbinsav

2.17. Propionsav

2.18. Referenciaoldatok

Készítsünk 0,1 %-os (m/v) (100 mg/100 ml) oldatokat mind az öt tartósítószerből (2.13.–2.17.) dietil-éterrel.

2.19. Derivatizáló reagens

2-bróm-2'-acetonafton (2.12.) 0,5 %-os (m/v) acetonitriles oldata (2.4.) (50 mg/10 ml). Ezt az oldatot hetente kell készíteni, és hűtőszekrényben kell tárolni.

2.20. Katalizátor oldat

Lítium-karbonát (2.11) 0,3 %-os vizes oldata (300 mg/100ml). Ezt az oldatot frissen kell készíteni.

2.21. Előhívó szer

Toluol (2.5.)/aceton (2.2.) (20:0,5 v/v)

2.22. Folyékony paraffin (2.7.)/n-hexán (2.6.) (1:2 v/v)

3. **Eszközök**

Szokásos laboratóriumi felszerelés

3.1. 60 °C hőmérséklet tartására alkalmas vízfürdő

3.2. Előhívó kád

3.3. Ultraibolya fényforrás, 254 és 366 nm

3.4. Vékonyréteg-lemezek, Kieselgel 60, fluorescens indikátor nélkül, 20 x 20 cm, rétegvastagság 0,25 mm, 2,5 x 20 cm-es koncentráló zónával (Merck 11845 vagy ezzel egyenértékű)

3.5. 10 µl-es mikrofecskendő

3.6. 25 µl-es mikrofecskendő

3.7. Maximum 105 °C hőmérséklet tartására alkalmas szárítószekrény

3.8. 50 ml-es üvegcsövek csavaros kupakkal

3.9. Szűrőpapír 90 mm átmérővel, Schleicher és Schull, 5892 Weissband vagy ezzel egyenértékű

3.10. Univerzális pH indikátorpapír, pH 1-11

3.11. 5 ml-es üveg mintatartó ampullák

3.12. Rotációs bepárló (Rotavapor vagy ezzel egyenértékű)

3.13. Főzőlap

4. **Eljárás**

4.1. Mintaelőkészítés

Mérjünk be hozzávetőlegesen 1 g mintát egy 50 ml-es csavaros kupakú üvegcsőbe (3.8.). Adjunk hozzá négy csepp 4 M-os sósavat (2.8.) és 40 ml acetont (2.2.). Erősen lúgos termékeknél, mint amilyen a mosdószappan, 20 csepp 4 M-os sósavat (2.8.) kell adagolni. Indikátorpapírral (3.10.) ellenőrizzük, hogy a pH 2 körüli értékű legyen. Zárjuk le a csövet és rázzuk erősen egy percig.

Ha szükség van a tartósítószerek acetonos fázisba történő egyszerűbb kivonásának elősegítésére, lágyan melegítsük a keveréket körülbelül 60 °C-ra, hogy a folyadékfázist beolvasszuk.

Hűtsük le az oldatot szobahőmérsékletre és szűrjük át egy szűrőpapíron (3.9.) egy Erlenmeyer lombikba.

Töltsünk 20 ml szűrletet egy 200 ml-es Erlenmeyer lombikba, adjunk hozzá 20 ml vizet és keverjük össze. 4 M-os kálium-hidroxiddal (2.9.) állítsuk be a keverék pH-ját körülbelül 10-es értékre úgy, hogy a pH mérésére indikátorpapírt (3.10.) használunk.

Adjunk hozzá 1 g kalcium-kloridot (2.10.) és rázzuk fel erősen. Szűrőpapíron (3.9.) szűrjük át egy 250 ml-es Erlenmeyer lombikba, ami 75 ml dietil-étert (2.3.) tartalmaz és rázzuk erősen egy percig. Hagyjuk szétválni, és a vizes réteget vigyük át egy 250 ml-es Erlenmeyer lombikba. Öntsük el az éteres réteget. Indikátorpapír (3.10.) segítségével a vizes oldat pH-ját 4 M-os sósavval (2.8.) állítsuk be körülbelül kettőre. Adjunk hozzá 10 ml dietil-étert (2.3.), dugjuk be a lombikot és rázzuk erősen egy percig. Hagyjuk szétválni, és az éteres réteget töltsük át egy rotációs bepárlóba (3.12.). Öntsük ki a vizes réteget.

Párologtassuk az éteres réteget csaknem szárazra, és a maradékot újra oldjuk fel 1 ml dietil-éterben (2.3.). Töltsük az oldatot a mintatartó ampullába (3.11.).

4.2. Vékonyréteg kromatográfia

Minden kromatografálásra kerülő referencia- és mintaoldat esetében (3.5.) egy fecskendővel vigyünk fel hozzávetőlegesen 3 µl lítium-karbonát oldatot (2.20.) a TLC-lemez (3.4.) koncentrációs zónájának alapvonalára, egyenlő távolságokban és szárítsuk hideg levegőáramban.

Hogy a foltokat annyira kis területen tartsuk, amennyire csak lehet, tegyük át a TLC-lemezt egy 40 °C-ra melegített főzőlapra (3.13.). Egy mikrofecskendővel (3.5.) vigyünk fel 10 µl-t minden egyes referenciaoldatból (2.18.) és mintaoldatból (4.1.) a lemez alapvonalára, pontosan azokra a foltokra, ahova a lítium-karbonát oldatot vittük fel.

Végül vigyünk fel körülbelül 15 µl derivatizáló reagenst (2.19) (2-bromo-2-acetonafton oldat) megint pontosan azokra a foltokra, ahová a referencia- és mintaoldatokat és a lítium-karbonát oldatot vittük fel.

Hevítsük a TLC-lemezt egy kemencében (3.7.) 80 °C-on 45 percig. Lehűlés után a 2.21. előhívó szerrel (toluol/aceton) – szűrőpapír bevonat használata nélkül – hívjuk elő a lemezt egy olyan kádban (3.2.), amelyet előtte 15 percig hagyunk kiegyenlítődni, amíg az oldószerfront 15 cm-es távolságig ér el – (ez körülbelül 80 percet vesz igénybe).

Szárítsuk meg a lemezt hideg levegőáramban és vizsgáljuk meg a kapott foltokat UV fényben (3.3.). A gyenge foltok fluoreszkálásának növelése érdekében a TLC-lemezt be lehet mártani folyékony paraffin/n-hexán keverékbe (2.22.).

5. **Azonosítás**

Számítsuk ki az R_f értéket minden egyes foltra.

Hasonlítsuk össze a mintára kapott R_f értéket és a minta UV sugárzás alatti viselkedését a referenciaoldatokra kapott paraméterekkel.

Vonjunk le előzetes következtetést a tartósítószerek jelenlétére és azonosságára vonatkozóan. Hajtsuk végre a B. fejezetben leírt HPLC-vizsgálatot, vagy ha propionsav jelenlétét tapasztaljuk, akkor a C. fejezetben leírt GC-vizsgálatot. Hasonlítsuk össze a kapott retenciós időket a referenciaoldatok retenciós idővel.

Vessük össze a TLC-vel, HPLC-vel vagy GC-vel kapott eredményeket és az összesített eredmények alapján véglegesen azonosítsuk a mintában jelen lévő tartósítószereket.

B. BENZOESAV, 4-HIDROXIBENZOESAV, SZORBINSAV ÉS SZALICILSAV MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA

1. **Alapelv**

Savanyítást követően a mintát etil-alkohol és víz elegyével kivonjuk. Szűrés után a tartósítószereket nagynyomásúfolyadék-kromatográfiával (HPLC) határozzuk meg.

2. **Reagensek**

2.1. Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie és megfelelőnek HPLC-re ott, ahol ez szükséges. A felhasznált víznek desztillált víznek vagy legalább ezzel egyenértékű tisztaságú víznek kell lennie.

2.2. Abszolút etil-alkohol

2.3. 4-hidroxibenzoesav

2.4. Szalicilsav

2.5. Benzoesav

2.6. Szorbinsav

2.7. Nátrium-acetát ($CH_3COONa.3H_2O$)

2.8. Ecetsav $(\alpha)_4^{20}$ = 1,05 g/ml

2.9. Acetonitril

2.10. 2 M-os kénsav

2.11. Kálium-hidroxid 0,2 M-os vizes oldata

2.12. 2-metoxibenzoesav

2.13. Etil-alkohol/víz keverék

Keverjünk össze kilenc térfogatrész etil-alkoholt (2.2.) és egy térfogatrész vizet (2.1.)

2.14. Belső standard oldat

Készítsünk egy olyan oldatot, ami hozzávetőlegesen 1 g 2-metoxibenzoesavat (2.12.) tartalmaz 500 ml etil-alkohol/víz elegyben (2.13.)

2.15. Mozgó fázis a HPLC-hez

2.15.1. Acetát puffer: 1 liter vízhez adjunk 6,35 g nátrium-acetátot (2.7.) és 20,0 ml ecetsavat, majd keverjük meg.

2.15.2. A mozgó fázist úgy készítsük el, hogy keverjünk össze kilenc térfogatrész acetátpuffert (2.15.1.) egy térfogatrész acetonitrillel (2.9.).

2.16. Tartósítószer-törzsoldat

Nagy pontossággal mérjünk be körülbelül 0,05 g 4-hidroxibenzoesavat (2.3.), 0,2 g szalicilsavat (2.4.), 0,2 g benzoesavat (2.5.) és 0,05 g szorbinsavat (2.6.) egy 50 ml-es mérőlombikba és töltsük fel jelig etil-alkohol/víz eleggyel (2.13.). Tároljuk ezt az oldatot hűtőszekrényben. Az oldat egy hétig megfelelő.

2.17. Tartósítószerek standard oldata

Töltsünk 8,00; 4,00; 2,00; 1,00 és 0,50 ml törzsoldatot (2.16.) egy sorozat 20 ml-es mérőlombikba. Minden lombikba adjunk 10,00 ml belső standard oldatot (2.14.) és 0,5 ml 2 M-os kénsavat. Töltsük fel a jelig etil-alkohol/víz eleggyel (2.13.). Ezeket az oldatokat frissen kell készíteni.

3. **Eszközök**

Szokásos laboratóriumi felszerelés, ha nincs külön meghatározva, valamint:

3.1. Vízfürdő 60 °C-ra beállítva

3.2. Nagynyomásúfolyadék-kromatográf változtatható hullámhosszú UV-detektorral és 10 µl-es befecskendező hurokkal

3.3. Analitikai oszlop

Rozsdamentes acél, 12,5-25 cm, belső átmérő 4,6 mm, Nucleosil 5C18-cal vagy ezzel egyenértékű töltetű

3.4. 90 mm átmérőjű szűrőpapír, Schleicher és Schull, 5892 Weissband vagy ezzel egyenértékű

3.5. 50 ml-es üvegcsövek csavaros kupakkal

3.6. 5 ml-es üveg mintatartó ampullák

3.7. Karborundum kazánkő, 2-4 mm méretű vagy ezzel egyenértékű

4. **Eljárás**

4.1. Mintaelőkészítés

4.1.1. A minta előkészítése belső standard hozzáadása nélkül

Mérjünk be 1 g-nyi mintát egy 50 ml-es csavaros fedelű üvegcsőbe (3.5.). Pipettával csepegtessünk 1,00 ml 2 M-os kénsavat (2.10.) és 40,0 ml etil-alkohol/víz elegyet (2.13.) a csőbe. Adjunk hozzá körülbelül 1 g kazánkövet (3.7.), zárjuk le a csövet és rázzuk erősen legalább egy percig, míg homogén szuszpenziót nem kapunk. Ahhoz, hogy a tartósítószerek kivonását az etanolos fázisba elősegítsük, tegyük a csövet pontosan öt percre 60 °C-os vízfürdőbe (3.1.).

Azonnal hűtsük le a csövet hideg vízáramban és tartsuk a kivonatot 5 °C-on egy órán keresztül.

Szűrjük le a kivonatot egy szűrőpapíron (3.4.) keresztül. Töltsünk át körülbelül 2 ml kivonatot egy mintatartó ampullába (3.6.). Tartsuk a kivonatot 5 °C-on, és 24 órán belül végezzük el a HPLC-s meghatározást.

4.1.2. A minta előkészítése belső standard hozzáadásával

Mérjünk be három tizedes pontossággal 1 ± 0,1 g (a gramm) mintát egy 50 ml-es csavaros fedelű üvegcsőbe (3.5.). Pipettával adjunk hozzá 1,00 ml 2 M-os kénsavat (2.10.) és 30,0 ml etil-alkohol/víz elegyet (2.13.). Adjunk hozzá körülbelül 1 g kazánkövet (3.7.) és 10,00 ml belső standard oldatot (2.14.). Zárjuk le a csövet és rázzuk erősen legalább egy percig, amíg homogén szuszpenziót nem kapunk. Ahhoz, hogy a tartósítószerek kivonását az etanolos fázisba elősegítsük, tegyük a csövet pontosan öt percre 60 °C-os vízfürdőbe (3.1.).

Azonnal hűtsük le a csövet hideg vízáramban, és tartsuk a kivonatot 5 °C-on egy órán keresztül.

Szűrjük le a kivonatot egy szűrőpapíron (3.4.) keresztül. Töltsünk át körülbelül 2 ml kivonatot egy mintatartó ampullába (3.6.). Tartsuk a kivonatot 5 °C-on, és 24 órán belül végezzük el a HPLC-s meghatározást.

4.2. Nagynyomásúfolyadék-kromatográfia

Mozgó fázis: acetonitril/acetátpuffer (2.15.)

Az oszlopon átáramló mozgó fázis áramlási sebességét állítsuk be 2,0 ± 0,5 ml/perc értékre. A detektor hullámhosszát állítsuk 240 nm-re.

4.2.1. Kalibrálás

Minden tartósítószer standard oldatból (2.17.) fecskendezzünk 10 µl-t a folyadék-kromatográfiás készülékbe (3.2.). A kromatogramokból minden oldatra határozzuk meg a vizsgált tartósítószer csúcsmagasságának a belső standard csúcsmagasságához viszonyított arányát. Az egyes tartósítószerekhez tartozó csúcsmagasságok arányát ábrázoljuk az egyes standard oldatok koncentrációjának függvényében.

Győződjünk meg arról, hogy a kalibrációs eljárás során lineáris görbét kaptunk a standard oldatokra.

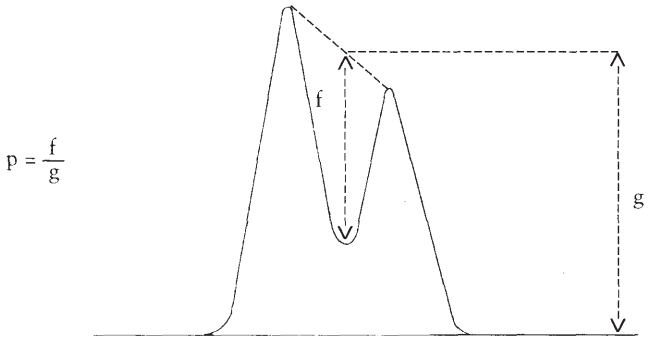
4.2.2. Mennyiségi meghatározás

Fecskendezzünk 10 µl mintakivonatot (4.1.1.) a folyadék-kromatográfiás készülékbe (3.2.), és vegyük fel a kromatogramot. Fecskendezzünk 10 µl tartósítószer standard oldatot (2.1.7.), és vegyük fel a kromatogramot. Hasonlítsuk össze a kapott kromatogramokat. Ha a 2-metoxibenzoesavéval (ajánlott belső standard) nagyjából megegyező retenciós időnél a mintakivonat (4.1.1.) kromatogramján úgy tűnik, hogy nincs csúcs, akkor fecskendezzünk 10 µl belső standarddal ellátott mintakivonatot (4.1.2.) a folyadék-kromatográfiás készülékbe, és vegyük fel a kromatogramot.

Ha a 2-metoxibenzoesavéval nagyjából megegyező retenciós időnél zavaró csúcsot találunk a mintakivonat (4.1.1.) kromatogramján, akkor egy másik megfelelő belső standardot kell választani. (Ha a vizsgált tartósítószerek egyike hiányzik a kromatogramról, akkor ez a tartósítószer használható fel belső standardként.)

Győződjünk meg arról, hogy a standard oldatra és a mintaoldatra kapott kromatogramok kielégítik a következő elvárásokat:

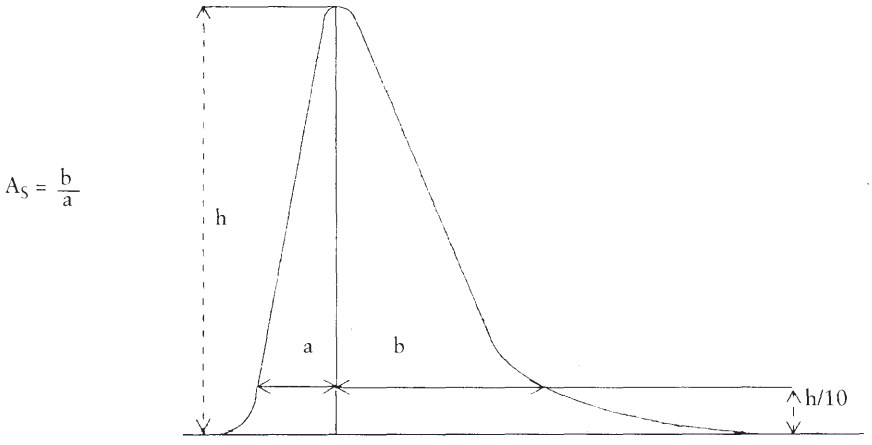
– A csúcs szétválásánál a leggyengébben szétvált párnak legalább 0,90-nek kell lennie. (A csúcsszétválás definícióját lásd az 1. ábrán).



1. ábra: **Csúcsszétválás**

Ha a szükséges szétválást nem értük el, akkor vagy egy hatékonyabb oszlopot kell használni, vagy a mozgó fázis összetételét kell állítgatni addig, amíg a csúcs szétválása nem lesz megfelelő.

– Minden kapott csúcs As aszimmetria faktorának a 0,9-1,5 közötti tartományban kell lennie. (A csúcsaszimmetria-faktor definícióját lásd a 2. ábrán). Az aszimmetria-faktor meghatározására szolgáló kromatogram felvételéhez legalább 2 cm/perc papíradagolási sebesség ajánlott.



2. ábra: **Csúcsaszimmetria-faktor**

– Stabil alapvonalat kell kapnunk.

5. **Számítás**

A mintaoldatban lévő tartósítószerek koncentrációjának kiszámításához vegyük a vizsgált tartósítószerek csúcsmagasságának a 2-metoxibenzoesav (belső standard) csúcsmagasságához viszonyított arányait és a kalibrációs görbét. A következő képlet segítségével számítsuk ki a minta benzoesav, 4-hidroxibenzoesav, szorbinsav vagy szalicilsav tartalmát tömegszázalékban (x_i):

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

ahol:

a = a vizsgálati minta (4.1.2.) tömege (g),

b = a kivont mintában (4.1.2.) lévő tartósítószer koncentráció (μg/ml) a kalibrációs görbe alapján.

6. **Megismételhetőség** [1]

0,40 % 4-hidroxibenzoesav-tartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,035 %-ot.

0,50 % benzoesav-tartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredménye közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,050 %-ot.

0,50 % szalicilsav-tartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredménye közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,045 %-ot.

0,60 % szorbinsav-tartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,035 %-ot.

7. **Megjegyzések**

7.1. A módszerrel végzett vizsgálat eredményeinek egyenetlensége azt jelzi, hogy a mintából történő savkivonás érdekében adagolt kénsav mennyisége a kritikus és a feldolgozott minta mennyiségére vonatkozó korlátokat az előírt határokon belül kell tartani.

7.2. Ha szükséges, egy megfelelő védőoszlop is használható.

C. PROPIONSAV MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA

1. **Cél és alkalmazási terület**

Ez a módszer a kozmetikai termékekben legfeljebb 2 % (m/m) koncentrációban jelen lévő propionsav meghatározására alkalmas.

2. **Fogalommeghatározás**

Az e módszerrel mért propionsav-koncentrációt a termék tömegszázalékában (% m/m) fejezzük ki.

3. **Alapelv**

A propionsavnak a termékből történt savas kivonását követően a meghatározást gázkromatográfiával végezzük 2-metilpropionsav belső standard felhasználásával.

4. **Reagensek**

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie; desztillált vizet vagy ennek megfelelő minőségű vizet kell alkalmazni.

4.1. Etil-alkohol, 96 %-os (v/v)

4.2. Propionsav

4.3. 2-metil-propionsav

4.4. Ortofoszforsav, 10 %-os (m/v)

4.5. Propionsav oldat

Pontosan mérjünk be körülbelül 1,00 g (p gramm) propionsavat egy 50 ml-es mérőlombikba és töltsük fel a jelig etil-alkohollal (4.1.).

4.6. Belső standard oldat

Pontosan mérjünk be mintegy 1,00 g (e gramm) 2-metilpropionsavat egy 50 ml-es mérőlombikba, és töltsük fel jelig etil-alkohollal (4.1.).

[1] ISO 5725

5. **Eszközök**

5.1. Normál laboratóriumi berendezések és:

5.2. Lángionizációs detektorral felszerelt gázkromatográf

5.3. Üvegcső (20 x 150 mm) csavaros kupakkal

5.4. Vízfürdő, 60 °C-os

5.5. 10 ml-es üvegfecskendő szűrőmembránnal (pórus átmérő: 0,45 μm)

6. **Eljárás**

6.1. Mintaelőkészítés

6.1.1. A minta előkészítése belső standard hozzáadása nélkül

Mérjünk be mintegy 1 g-nyi mintát egy üvegcsőbe (5.3.). Adjunk hozzá 0,5 ml foszforsavat (4.4.) és 9,5 ml etil-alkoholt (4.1.).

Zárjuk le a csövet és erősen rázzuk fel. Ha szükséges, tegyük a csövet 60 °C-ra melegített vízfürdőbe (5.4.) öt percre azért, hogy a lipid fázis teljesen feloldódjon. Gyorsan hűtsük le vízsugár alatt. Az oldat egy részét szűrjük le membránszűrőn (5.5.). A szűrletet ugyanazon a napon kromatografáljuk.

6.1.2. A minta előkészítése belső standard hozzáadásával

Mérjünk be 1 ± 0,1 g (a gramm) mintát három tizedes pontossággal egy üvegcsőbe (5.3.). Adjunk hozzá 0,5 ml foszforsavat (4.4.), 0,50 ml belső standard oldatot (4.6.) és 9 ml etil-alkoholt (4.1.)

Zárjuk le a csövet és erősen rázzuk fel. Ha szükséges, tegyük a csövet 60 °C-ra melegített vízfürdőbe (5.4.) öt percre azért, hogy a lipid fázis teljesen feloldódjon. Gyorsan hűtsük le vízsugár alatt. Az oldat egy részét szűrjük le membránszűrőn (5.5.). A szűrletet ugyanazon a napon kromatografáljuk.

6.2. A gázkromatográfia körülményei

A következő üzemeltetési körülmények ajánlottak:

Oszlop

Típus:	rozsdamentes acél
Hossz	2 m
Átmérő	1/8”
Töltet	10 % SPTM 1 000 (vagy ezzel egyenértékű) + 1 % H_3PO_4 Kromoszorb WAW tölteten, szemcseméret: 100-120 mesh

Hőmérséklet

Injektor	200 °C
Oszlop	120 °C
Detektor	200 °C
Vivőgáz	nitrogén
Áramlási sebesség	25 ml/perc

6.3. Kromatográfia

6.3.1. Kalibrálás

Pipettával csepegtessünk egy 20 ml-es mérőlombik sorozatba 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 és 4,00 ml propionsav oldatot (4.5.). Mindegyik mérőlombikba pipettával csepegtessünk 1,00 ml belső standard oldatot (4.6.); töltsük fel őket a jelig etil-alkohollal (4.1.) és keverjük össze. Az így készített oldatok tartalmaznak „e” mg/ml 2-metilpropionsavat, mint belső standardot (azaz 1 mg/ml-t ha e = 1 000) és p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml propionsavat (azaz 0,25; 0,50; 1,00; 2,00; 4,00 mg/ml-t ha p = 1 000).

Fecskendezzünk mindegyik oldatból 1 μl-t és vegyük fel a kalibrációs görbét úgy, hogy a propionsav/2-metilpropionsav tömegének arányát az x-tengelyen, míg a megfelelő csúcsterületeket az y-tengelyen ábrázoljuk.

Minden oldattal végezzünk három befecskendezést, és számítsuk ki az átlagos csúcsterület arányt.

6.3.2. Mennyiségi meghatározás

Fecskendezzünk 1 µl mintaszűrletet (6.1.1.). Hasonlítsuk össze a kromatogramot a standard oldatok (6.3.1.) kromatogramjaival. Ha a csúcsnak hozzávetőlegesen ugyanaz a retenciós ideje mint a 2-metilpropionsavé, akkor váltsunk belső standardot. Ha zavaró hatást nem tapasztalunk, fecskendezzünk 1 µl mintaszűrletet (6.1.2.), és mérjük meg a propionsav csúcsterületét, illetve a belső standard csúcsterületét.

Minden oldattal végezzünk három befecskendezést, és számítsuk ki az átlagos csúcsterület-arányt.

7. **Számítás**

7.1. A 6.3.1. pontban felvett kalibrációs görbéről olvassuk le a 6.3.2. pontban kiszámított csúcsterület aránynak megfelelő tömegarányt (K).

7.2. Az így kapott tömegarányból számítsuk ki a minta propionsav tartalmát (X) tömegszázalékban a következő képlet segítségével:

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

ahol:

K = a 7.1. pontban kiszámított arány,

e = a 4.6. pontban bemért belső standard tömege grammban,

a = a 6.1.2. pontban bemért vizsgálati minta tömege grammban.

Az eredményeket kerekítsük fel egy tizedes értékre.

8. **Megismételhetőség** [1]

2 % propionsav-tartalom esetén az ugyanazon a mintán párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség értéke nem haladhatja meg a 0,12 % -ot.

II. HIDROKINON, HIDROKINON MONOMETIL-ÉTER, HIDROKINON MONOETIL-ÉTER ÉS HIDROKINON MONOBENZIL-ÉTER AZONOSÍTÁSA ÉS MEGHATÁROZÁSA KOZMETIKAI TERMÉKEKBEN

A. AZONOSÍTÁS

1. **Cél és alkalmazási terület**

Ez a módszer a bőrt lágyító kozmetikai termékekben lévő hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter és hidrokinon monobenzil-éter (monobenzon) kimutatását és azonosítását írja le.

2. **Eljárás**

A hidrokinont és étereit vékonyréteg-kromatográfiával (TLC) azonosítjuk.

3. **Reagensek**

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

[1] ISO 5725

3.1. Etil-alkohol, 96 %-os (v/v)

3.2. Kloroform

3.3. Dietil-éter

3.4. Előhívószer:

Kloroform/Dietil-éter, 66:33 (v/v)

3.5. Ammónia, 25 %-os (m/m) (d_4^{20} = 0,91 g/ml)

3.6. Aszkorbinsav

3.7. Hidrokinon

3.8. Hidrokinon monometil-éter

3.9. Hidrokinon monoetil-éter

3.10. Hidrokinon monobenzil-éter (monobenzon)

3.11. Referencia oldatok

A következő referencia oldatokat frissen kell elkészíteni és egy napig stabilak.

3.11.1. Mérjünk be 0,05 g hidrokinont (3.7.) egy 10 ml-es, mércével ellátott kémcsőbe. Adjunk hozzá 0,250 g aszkorbinsavat (3.6.) és 5 ml etil-alkoholt (3.1.). Adjunk hozzá ammóniát (3.5.) addig, amíg a pH értéke 10 lesz, és töltsük fel 10 ml térfogatra etil-alkohollal (3.1.).

3.11.2. Mérjünk be 0,05 g hidrokinon monometil-étert (3.8.) egy 10 ml-es, mércével ellátott vizsgálócsőbe. Adjunk hozzá 0,250 g aszkorbinsavat (3.6.) és 5 ml etil-alkoholt (3.1.). Adjunk hozzá ammóniát (3.5.) addig, amíg a pH értéke 10 lesz és töltsük fel 10 ml térfogatra etil-alkohollal (3.1.)

3.11.3. Mérjünk be 0,05 g hidrokinon monoetil-étert (3.9.) egy 10 ml-es, mércével ellátott vizsgálócsőbe. Adjunk hozzá 0,250 g aszkorbinsavat (3.6.) és 5 ml etil-alkoholt (3.1.). Adjunk hozzá ammóniát (3.5.) addig, amíg a pH értéke 10 lesz, és töltsük fel 10 ml térfogatra etil-alkohollal (3.1.)

3.11.4. Mérjünk be 0,05 g hidrokinon monobenzil-étert (3.10.) egy 10 ml-es, mércével ellátott kémcsőbe. Adjunk hozzá 0,250 g aszkorbinsavat (3.6.) és 5 ml etil-alkoholt (3.1.). Adjunk hozzá ammóniát (3.5.) addig, amíg a pH értéke 10 lesz és töltsük fel 10 ml térfogatra etil-alkohollal (3.1.)

3.12. Ezüst-nitrát

3.13. 12-molibdát-foszforsav

3.14. Kálium-ferricianid hexahidrát

3.15. Ferriklorid hexahidrát

3.16. Aeroszolos előhívószerek

3.16.1. Egy 5 %-os (m/v) ezüst-nitrát vizes oldathoz (3.12.) adjunk ammóniát (3.5.) addig, amíg a keletkezett csapadék feloldódik.

Vigyázat:

az oldat állás közben robbanásszerűen instabillá válik, és használat után ki kell önteni.

3.16.2. 10 %-os (m/v) 12-molibdofoszfát (3.13.) etil-alkoholos (3.1.) oldata.

3.16.3. Készítsünk egy 1 %-os (m/v) kálium-ferricianid (3.14.) vizes oldatot és egy 2 %-os (m/v) ferriklorid (3.15.) vizes oldatot. Közvetlenül felhasználás előtt keverjünk össze azonos mennyiséget a két oldatból.

4. **Eszközök**

Szokásos laboratóriumi felszerelés

4.1. Szokásos TLC-berendezés

4.2. Készgyártmány TLC-lemezek; szilikagél GHR/UV_{254}; 20x20 cm (Macgery, Nagel vagy ezzel egyenértékű)

4.3. Ultrahangos fürdő

4.4. Centrifuga

4.5. UV lámpa, 254 nm

5. **Eljárás**

5.1. Mintaelőkészítés

Mérjünk be 3,0 g mintát egy 10 ml-es, mércével ellátott kémcsőbe (3.8.). Adjunk hozzá 0,250 g aszkorbinsavat (3.6.) és 5 ml etil-alkoholt (3.1.). Állítsuk be az oldat pH-ját 10-re ammónia-oldattal (3.6.). Töltsük fel 10 ml-re etil-alkohollal (3.1.). Dugóval zárjuk le a csövet és homogenizáljuk ultrahangos fürdőben 10 percig. Szűrjük át egy szűrőpapíron vagy centrifugáljuk le 3000-es fordulatszámon.

5.2. TLC

5.2.1. Töltsük fel a kromatográfiás kádat előhívószerrel (3.4.).

5.2.2. Vigyünk fel a lemezre 2 µl referencia oldatot (3.11.) és 2 µl mintaoldatot (5.1.). A előhívást sötétben végezzük szobahőmérsékleten addig, amíg az oldószer front 15 cm-re eltávolodik az alapvonaltól.

5.2.3. Vegyük ki a lemezt, és szobahőmérsékleten hagyjuk száradni.

5.3. Előhívás

5.3.1. Vizsgáljuk meg a lemezt UV fény alatt 254 nm-en, és jelöljük meg a foltokat.

5.3.2. Permetezzük le a lemezt a következő anyagokkal:

– ezüst-nitrát reagens (3.16.1.), vagy

– 12-molibdo-foszforsav (3.16.2.); melegítsük fel hozzávetőlegesen 120 °C-ra, vagy

– kálium-ferricianid oldat és ferriklorid oldat (3.16.3.)

6. **Azonosítás**

Számítsuk ki az R_f értéket minden egyes foltra.

Hasonlítsuk össze a mintára kapott foltokat a referencia-oldatokra kapott foltokkal a következő szempontok szerint; R_f értékek, a foltok színe az UV sugárzás alatt; valamint a foltok színe a permetező reagenssel végzett előhívás után.

Végezzük el a következő B szakaszban leírt HPLC-vizsgálatot, és hasonlítsuk össze a minta csúcs(ok)ra kapott retenciós időket a referenciaoldatokra kapottakkal.

Vessük össze a TLC- és a HPLC-vizsgálatok eredményeit, hogy azonosítsuk a hidrokinont és/vagy annak étereit.

7. **Megjegyzések**

A leírt körülmények között a következő R_f értékek adódnak:

hidrokinon:	0,32
hidrokinon monometil-éter:	0,53
hidrokinon monoetil-éter:	0,55
hidrokinon monobenzil-éter:	0,58

B. MEGHATÁROZÁS

1. **Cél és alkalmazási terület**

Ez a módszer a bőrt lágyító kozmetikai termékekben lévő hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter és hidrokinon monobenzil-éter (monobenzon) meghatározására állapít meg eljárást.

2. **Eljárás**

A mintát víz/metil-alkohol eleggyel kivonjuk enyhe melegítés közben, hogy a lipid anyagok megolvadjanak. Az elemzett komponensek meghatározását az így kapott oldatból fordított fázisú folyadék-kromatográfiával, UV detektálással végezzük.

3. **Reagensek**

3.1. Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie. A felhasznált víznek desztillált víznek vagy legalább ezzel megegyező tisztaságú víznek kell lennie.

3.2. Metil-alkohol

3.3. Hidrokinon

3.4. Hidrokinon monometil-éter

3.5. Hidrokinon monoetil-éter

3.6. Hidrokinon monobenzil-éter (monobenzon)

3.7. Tetrahidrofurán, HPLC minőségű

3.8. Víz/metil-alkohol elegy 1:1 (v/v). Elegyítsünk egy térfogatrész vizet és egy térfogatrész metil-alkoholt (3.2.)

3.9. Mozgó fázis: tetrahidrofurán/víz elegy 45:55 (v/v). Elegyítsünk 45 térfogatrész tetrahidrofuránt (3.7.) 55 térfogatrész vízzel

3.10. Referenciaoldat

Mérjünk be 0,06 g hidrokinont (3.3.), 0,08 g hidrokinon monometil-étert (3.4.), 0,10 g hidrokinon monoetil-étert (3.5.) és 0,12 g hidrokinon monobenzil-étert (3.6.) egy 50 ml-es mérőlombikba. Oldjuk fel és töltsük jelig metil-alkohollal (3.2.). Készítsünk referencia oldatot úgy, hogy ebből az oldatból 10,00 ml-t hígítunk fel 50,00 ml-re víz/etil-alkohol eleggyel (3.8.). Ezeket az oldatokat frissen kell elkészíteni.

4. **Eszközök**

Szokásos laboratóriumi felszerelés, és:

4.1. 60 °C-os hőmérséklet tartására megfelelő vízfürdő

4.2. Nagynyomásúfolyadék-kromatográf változtatható hullámhosszú UV detektorral és 10 µl-es fecskendező hurokkal

4.3. Analitikai oszlop

Rozsdamentes acél, 250 mm hosszú, belső átmérő 4,6 mm, Zorbax fenil-lel (Zorbax SIL-en kémiailag megkötött fenetil-szilán, a végén trimetilklór-szilánnal bedugaszolva) töltve, szemcsemérete 6 µm, vagy ezzel egyenértékű. Ne használjunk védőoszlopot, kivéve feniles védőoszlopot vagy ezzel egyenértékűt.

4.4. Szűrőpapír, 90 mm átmérőjű, Schleicher és Schull, Weissband 5892 vagy ezzel egyenértékű

5. **Eljárás**

5.1. Mintaelőkészítés

Mérjünk be három tizedes pontossággal 1 ± 0,1 g-nyi (a gramm) mintát egy 50 ml-es mérőlombikba. Diszpergáljuk a mintát 25 ml víz/metil-alkohol elegyben (3.8.). Zárjuk le a lombikot és rázzuk erősen addig, amíg homogén szuszpenziót kapunk. Legalább egy percig rázzuk. Tegyük a lombikot vízfürdőbe (4.1.) és tartsuk 60 °C-on, hogy elősegítsük az kivonást. Hűtsük le a lombikot és töltsük fel jelig víz/metil-alkohol eleggyel (3.8.). Egy szűrőpapíron (4.4.) keresztül szűrjük le az kivonatot. Az kivonat elkészítésétől számított 24 órán belül végezzük el a HPLC-s meghatározást.

5.2. Nagynyomásúfolyadék-kromatográfia

5.2.1. A mozgó fázis (3.9.) áramlási sebességét 1,0 ml/perc értékre, a detektor hullámhosszát 295 nm-re állítsuk be.

5.2.2. Fecskendezzünk az 5.1. pontban leírtak szerinti 10 µl mintaoldatot, és rögzítsük a kromatogramot. Mérjük meg a csúcsterületeket. 5.2.3. pontban leírtak szerint végezzük el a kalibrálást. Hasonlítsuk össze a minta és a standard oldatokra kapott kromatogramokat. A csúcsterületeket és az 5.2.3. pontban kiszámolt arányossági tényezőket (RF) használjuk arra, hogy kiszámítsuk a mintaoldat komponenseinek koncentrációját.

5.2.3. Kalibrálás

Fecskendezzünk 10 µl referencia-oldatot (3.10.) és rögzítsük a kromatogramot. Fecskendezzünk még néhányszor addig, amíg állandó csúcsterületet kapunk.

Határozzuk meg a arányossági tényezőt: RF_i

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

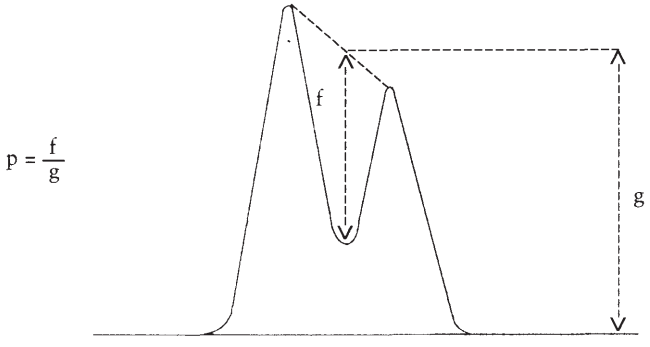
ahol:

p_i = a hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter vagy hidrokinon monobenzil-éter csúcsterülete, és

c_i = a hidrokinon, hidrokinon monometil-éter, hidrokinon monoetil-éter vagy hidrokinon monobenzil-éter referencia oldatainak (3.10.) koncentrációja (g/50 ml).

Győződjünk meg arról, hogy a standard oldatra és a mintaoldatra kapott kromatogramok kielégítik a következő elvárásokat:

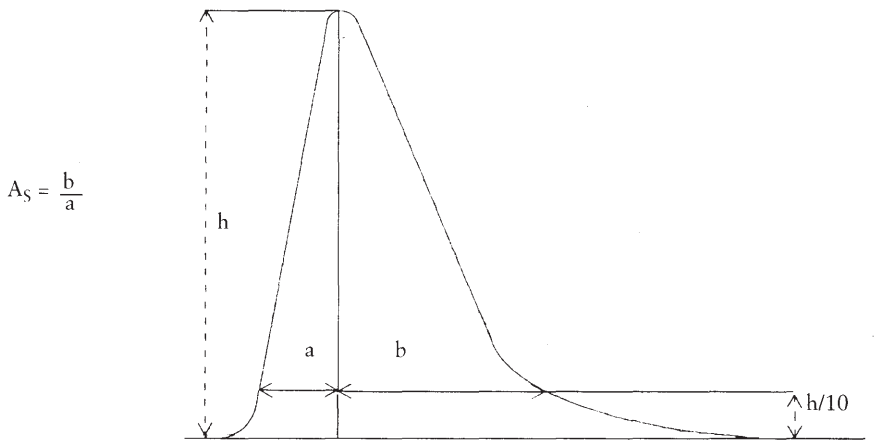
– A csúcsszétválásánál leggyengébben szétvált párnak legalább 0,90-nek kell lennie. (A csúcsszétválás definícióját lásd az 1. ábrán).



1. ábra: **Csúcsszétválás**

Ha a szükséges szétválást nem értük el, akkor vagy egy hatékonyabb oszlopot kell használni, vagy a mozgó fázis összetételét kell állítgatni addig, amíg a csúcs szétválása nem lesz megfelelő.

– Minden kapott csúcs As aszimmetria faktorának a 0,9-1,5 közötti tartományban kell lennie. (A csúcsaszimmetria-faktor definícióját lásd a 2. ábrán). Az aszimmetria-faktor meghatározására szolgáló kromatogram felvételéhez legalább 2 cm/perc papíradagolási sebesség ajánlott.



2. ábra: **Csúcsaszimmetria faktor**

– Stabil alapvonalat kell kapnunk.

6. **Számítás**

A mintában lévő elemzett komponensek koncentrációinak kiszámítására használjuk a komponensek csúcsterületeit. A minta komponenseinek koncentrációja tömegszázalékban (x_i) a következő képlet segítségével számítható ki:

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

ahol:

a = a vizsgált minta tömege (g),

bi = az i-edik komponens csúcsterülete a mintában.

7. **Megismételhetőség** ([1])

7.1. 2,0 % hidrokinon-tartalom esetén ugyanazon a mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,13 %-ot.

7.2. 1,0 % hidrokinon monometil-éter tartalom esetén az ugyanazon a mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,1 %-ot..

7.3. 1,0 % hidrokinon monoetil-éter tartalom esetén az ugyanazon a mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,11 %-ot.

7.4. 1,0 % hidrokinon monobenzil-éter tartalom esetén ugyanazon a mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,11 %-ot.

8. **Reprodukálhatóság** ([1])

8.1. 2,0 % hidrokinon-tartalom esetén ugyanazon a mintán, különböző körülmények között (különböző laboratóriumokban, különböző munkatársakkal, különböző készülékkel és/vagy különböző időpontban), párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,37 %-ot.

([1]) ISO 5725

8.2. 1,0 % hidrokinon monometil-éter tartalom esetén ugyanazon a mintán, különböző körülmények között (különböző laboratóriumokban, különböző munkatársakkal, különböző készülékkel és/vagy különböző időpontban), párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,21 %-ot.

8.3. 1,0 % hidrokinon monoetil-éter tartalom esetén ugyanazon a mintán, különböző körülmények között (különböző laboratóriumokban, különböző munkatársakkal, különböző készülékkel és/vagy különböző időpontban), párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,19 %-ot.

8.4. 1,0 % hidrokinon monobenzil-éter tartalom esetén ugyanazon a mintán, különböző körülmények között (különböző laboratóriumokban, különböző munkatársakkal, különböző készülékkel és/vagy különböző időpontban), párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,11 %-ot.

9. **Megjegyzések**

9.1. Ha a kapott hidrokinon-tartalom sokkal magasabb 2 %-nál, és ennek pontos meghatározására van szükség, akkor a minta kivonatát (5.1.) hasonló koncentrációra kell hígítani, mint amilyet egy 2 % hidrokinon tartalmú mintára kapnánk, és a meghatározást meg kell ismételni.

(Néhány műszer esetében a magas hidrokinon koncentrációknál, az abszorbancia kívül eshet a detektor lineáris tartományán.)

9.2. Zavaró hatások

A fent leírt módszer hidrokinonnak és étereinek meghatározását teszi lehetővé egyetlen, izokratikus előhívással. A feniloszlop használata biztosítja a megfelelő visszatartást a hidrokinon számára, de ha a leírt mozgó fázissal C18 oszlopot használunk, ez nem garantálható.

Ugyanakkor ez a módszer hajlamos arra, hogy más vegyületektől eredő hatások zavarják. Ilyen esetekben a meghatározást egy másik mozgó fázis/álló fázis rendszerrel kell megismételni. Megfelelő módszerek találhatók az 1. és 2. lábjegyzetben, azaz:

Oszlop: Zorbax ODS, 4,6 mm x 25 mm, vagy ezzel egyenértékű:

hőmérséklet: 36 °C

áramlási sebesség: 1,5 ml/perc

mozgó fázis:

hidrokinonhoz: metilal-kohol/víz 5/95 (V/V)

hidrokinon monometil-éterhez: metil-alkohol/víz 30/70 (V/V)

hidrokinon monobenzil-éterhez: metil-alkohol/víz 80/20 (V/V) ([1]).

Oszlop: Spherisorb S5-ODS, vagy ezzel egyenértékű:

mozgó fázis: víz/metil-alkohol 90/10 (V/V)

áramlási sebesség: 1,5 ml/perc.

Ezek a feltételek hidrokinonhoz megfelelőek ([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 Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, 129. o.