

KOMMISSIONEN

KOMMISSIONENS TREDJE DIREKTIV

af 27. september 1983

om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om analysemetoderne for kontrol af kosmetiske midlers sammensætning

(83/514/EØF)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det europæiske økonomiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 76/768/EØF af 27. juli 1976 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om kosmetiske midler ⁽¹⁾, senest ændret ved direktiv 83/341/EØF ⁽²⁾, særlig artikel 8, stk. 1, og

ud fra følgende betragtninger:

I direktiv 76/768/EØF foreskrives officiel kontrol af kosmetiske midler til konstatering af, om de i fællesskabsbestemmelserne fastsatte betingelser vedrørende sammensætningen af kosmetiske midler overholdes;

de nødvendige analysemetoder bør fastlægges hurtigst muligt, og eftersom to etaper i bestræbelserne for at nå dette mål er gennemført ved fastlæggelsen af en række metoder i Kommissionens direktiver 80/1335/EØF ⁽³⁾ og 82/434/EØF ⁽⁴⁾, består tredje etape i fastlæggelse af metoder til bestemmelse af dichlormethan og 1,1,1-trichlorethan, identifikation og bestemmelse af 8-hydroxyquinolin og sulfatet heraf, bestemmelse af ammoniak, identifikation og bestemmelse af nitromethan, identifikation og bestemmelse af thioglycolsyre i permanentvæsker, udtrækningsvæsker og i hårfjerningsmidler, identifikation og bestemmelse af hexachlorophen, bestemmelse af natriumtosylchloramid, bestemmelse

af total-fluor i tandpasta, identifikation og bestemmelse af organo-kviksølvforbindelser samt bestemmelse af alkalisulfider og alkalijordsulfider;

de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Udvalget for tilpasning af direktiv 76/768/EØF til de tekniske Fremskridt —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

I forbindelse med den officielle kontrol af kosmetiske midler træffer medlemsstaterne de fornødne foranstaltninger til at sikre, at

- bestemmelse af dichlormethan og 1,1,1-trichlorethan,
- identifikation og bestemmelse af 8-hydroxyquinolin og sulfatet heraf,
- bestemmelse af ammoniak,
- identifikation og bestemmelse af nitromethan,
- identifikation og bestemmelse af thioglycolsyre i permanentvæsker, udtrækningsvæsker og i hårfjerningsmidler,
- identifikation og bestemmelse af hexachlorophen,
- bestemmelse af natriumtosylchloramid,
- bestemmelse af total-fluor i tandpasta,
- identifikation og bestemmelse af organo-kviksølvforbindelser,

(1) EFT nr. L 262 af 27. 9. 1976, s. 169.

(2) EFT nr. L 188 af 13. 7. 1983, s. 15.

(3) EFT nr. L 383 af 31. 12. 1980, s. 27.

(4) EFT nr. L 185 af 30. 6. 1982, s. 1.

— bestemmelse af alkalisulfider og alkalijordsulfider,

foretages efter de metoder, der er beskrevet i bilaget.

Artikel 2

Medlemsstaterne sætter de fornødne love eller administrative bestemmelser i kraft for senest den 31. december 1984 at efterkomme dette direktiv. De underretter straks Kommissionen herom.

Artikel 3

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 27. september 1983.

På Kommissionens vegne
Frans ANDRIESEN
Medlem af Kommissionen

BILAG**BESTEMMELSE AF DICHLORMETHAN OG 1,1,1-TRICHLORETHAN****1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver bestemmelse af dichlormethan (methylenchlorid) og 1,1,1-trichlorethan (methylchloroform) i alle kosmetiske produkter, der kan indeholde disse opløsningsmidler.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af dichlormethan og 1,1,1-trichlorethan bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m).

3. PRINCIP

Metoden benytter gaschromatografi med anvendelse af chloroform som intern standard.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. Chloroform (CHCl₃).**4.2. Tetrachlormethan (CCl₄).****4.3. Dichlormethan (CH₂Cl₂).****4.4. 1,1,1-trichlorethan (CH₃CCl₃).****4.5. Acetone.****4.6. Nitrogen.****5. APPARATUR****5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr****5.2. Gaschromatograf forsynet med varmetrådsdetektor****5.3. Overføringsflakon, 50-100 ml, jfr. Kapitel II, punkt 5.3.2, i bilaget til Kommissionens direktiv 80/1335/EØF af 22. december 1980 ⁽¹⁾****5.4. Gaschromatografisprøjte, 25 eller 50 µl, jfr. Kapitel II, punkt 5.4.4.2, i bilaget til ovennævnte Kommissionsdirektiv.****6. FREMGANGSMÅDE****6.1. Produkter uden tryk:**

Prøvemængden afvejes nøjagtigt i en erlenmeyerkolbe med prop. Der tilsættes som intern standard en nøjagtig afvejet mængde chloroform (4.1.) svarende til det i prøven formodede indhold af dichlormethan og 1,1,1 trichlorethan. Derefter blandes grundigt.

⁽¹⁾ EFT nr. L 383 af 31. 12. 1980, s. 27.

- 6.2. Produkter under tryk:
- Der gås frem som beskrevet i Kapitel II, punkt 5, i bilaget til Kommissionens direktiv 80/1335/EØF, dog med følgende detaljeringer:
- 6.2.1. Efter at have overført en prøvemængde i overføringsflakonen (5.3) indføres der yderligere i overføringsflakonen som intern standard et rumfang chloroform (4.1.) svarende til prøvens formodede indhold af dichlormethan og/eller 1,1,1-trichlorethan. Derefter blandes grundigt. Ventilens dødvolumen renses med 0,5 ml tetrachlormethan (4.2). Efter tørring bestemmes massen af det tilsatte rumfang intern standard nøjagtigt ved differensvejning.
- 6.2.2. Når sprøjten fyldes med prøve, skal sprøjtens teflonstuds gennemblæses med nitrogen (4.6) før injektion i gaschromatografen, således at ingen rest bliver tilbage.
- 6.2.3. Efter hver prøve skal ventilens og overføringsstykkets overflade renses flere gange med acetone (4.5) (der anvendes injektionssprøjte), hvorefter der tørres grundigt med nitrogen (4.6).
- 6.2.4. For hver analyse foretages der målinger fra to forskellige overføringsflakoner, og der udføres fem målinger på hver flakon.

7. CHROMATOGRAFIBETINGELSER

7.1. Forkolonne

type: rustfrit stål,
 længde: 30 cm,
 diameter: 3 mm eller 6 mm,
 kolonnemateriale: samme materiale som i kolonnen.

7.2. Kolonne

Den stationære fase består af Hallcomid M18 på Chromosorb. Kolonnen skal have en opløsningssevne, R, der er lig med eller bedre end 1,5, idet

$$R = 2 \frac{d'(r_2 - r_1)}{w_1 + w_2}$$

hvor:

r_1 og r_2 er retentionstider i minutter,
 w_1 og w_2 er topbredder i halv højde i mm,
 d' er papirhastighed i mm/min.

7.3. Eksempelvis har følgende kolonner vist sig anvendelige:

Kolonne:	I	II
type:	rustfrit stål	rustfrit stål
længde:	350 cm	400 cm
diameter:	3 mm	6 mm
bæremateriale:		
Chromosorb:	W AW	W AW DMCS-HP
kornstørrelse:	100-120 mesh	60-80 mesh
stationær fase:	Hallcomid M 18	Hallcomid M 18
	10 %	20 %
Temperaturer:		
kolonneovn:	65° C	75° C
injektionsenhed:	150° C	125° C
detektor:	150° C	200° C
Bæregas:		
helium flow:	45 ml/min	60 ml/min
tryk:	2,5 bar	2,0 bar
injektionsmængde:	15 µl	15 µl

8. BLANDING TIL FASTLÆGGELSE AF RESPONSFAKTORER

I en erlenmeyerkolbe med prop fremstilles følgende blanding ved nøjagtig afvejning

dichlormethan (4.3) 30 % m/m,

1,1,1-trichlorethan (4.4) 35 % m/m,

chloroform (4.1) 35 % m/m.

Denne blanding anvendes til bestemmelse af responsfaktorerne.

9. BEREGNINGER

- 9.1. *Responsfaktoren for et stof p i forhold til stof a, der er valgt som intern standard, beregnes ved hjælp af formelen:*

$$k_p = \frac{m_p \times A_a}{m_a \times A_p}$$

hvor:

k_p = responsfaktoren for stoffet p,

m_p = massen af stoffet p i blandingen,

A_p = arealet af toppen for stoffet p,

m_a = massen af stoffet a i blandingen,

A_a = arealet af toppen for stoffet a.

For stoffet a er responsfaktoren k_a (sat = 1).

Som eksempler er følgende responsfaktorer blevet opnået (for chloroform $k = 1$):

dichlormethan: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

1,1,1-trichlorethan: $k_2 = 1 \pm 0,03$.

- 9.2. *Den i prøven tilstedeværende mængde dichlormethan og 1,1,1-trichlorethan i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlerne:*

$$\% \text{ dichlormethan} = \frac{m_c \times A_1 \times k_1}{A_c \times M} 100$$

$$\% \text{ 1,1,1, trichlorethan} = \frac{m_c \times A_2 \times k_2}{A_c \times M} 100$$

hvor:

m_c = massen i g af tilsat chloroform,

A_c = arealet af chloroformtoppen,

M = massen i g af prøvemængde,

A_1 = arealet af dichlormethantoppen,

A_2 = arealet af 1,1,1-trichlorethantoppen,

k_1 = responsfaktor for dichlormethan (9.1),

k_2 = responsfaktor for 1,1,1-trichlorethan (9.1).

10. GENTAGELIGHED ⁽¹⁾

Ved et indhold af dichlormethan og/eller 1,1,1-trichlorethan på omkring 25 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 2,5 %.

⁽¹⁾ Jfr. ISO-norm 5725.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF 8-HYDROXYCHINOLIN OG SULFATET HERAF**1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver identifikation og kvantitativ bestemmelse af 8-hydroxychinolin og dets sulfat.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af 8-hydroxychinolin og 8-hydroxychinoliniumsulfat bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) 8-hydroxychinolin.

3. PRINCIP**3.1. Identifikation**

Identifikation foretages ved tyndtlagschromatografi.

3.2. Kvantitativ bestemmelse

Den kvantitative bestemmelse foretages ved spektrofotometrisk måling ved 410 nm af det ved reaktion med Fehlings væske dannede kompleks.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. 8-hydroxychinolin.**4.2. Benzen.** Arbejdet med benzen skal foregå med største forsigtighed på grund af dette stofs giftighed.**4.3. Chloroform.****4.4. Natriumhydroxidopløsning, 50 % m/m.****4.5. Kobbersulfat-pentahydrat.****4.6. Kaliumnatriumtartrat.****4.7. 1 N saltsyre.****4.8. 1 N svovlsyre.****4.9. 1 N natriumhydroxid.****4.10. Ethanol.****4.11. Butanol-1.****4.12. Iseddikesyre.**

- 4.13. 0,1 N saltsyre.
- 4.14. Celite 545 eller tilsvarende.
- 4.15. Standardopløsninger.
- 4.15.1. 100,0 mg 8-hydroxychinolin (4.1) anbringes i en 100 ml målekolbe og opløses i en smule svovlsyre (4.8) Derefter fyldes op til mærket med svovlsyre (4.8).
- 4.15.2. 100,0 mg 8-hydroxychinolin anbringes i en 100 ml målekolbe og opløses i ethanol (4.10). Derefter fyldes op til mærket med ethanol (4.10) og omrystes.
- 4.16. Fehlings væske:
Opløsning A:
7,0 g kobbersulfat (4.5) afvejes i en 100 ml målekolbe og opløses i en smule vand. Derefter fyldes og til mærket med vand og omrystes.
Opløsning B:
35,0 g kaliumnatriumtartrat (4.6) afvejes i en 100 ml målekolbe og opløses i 50 ml vand. Efter tilsætning af 20 ml natriumhydroxidopløsning (4.4) fyldes op til mærket med vand og omrystes. Umiddelbart før brug afpipetteres 10,0 ml opløsning 1 og 10,0 ml opløsning 2 i en 100 ml målekolbe, hvorefter der fyldes op til mærket med vand og blandes.
- 4.17. Udviklingsvæske til tyndtlagschromatografi:
I. Butanol-1 (4.11) - iseddikesyre (4.12) — vand (80 + 20 + 20, volumen).
II. Chloroform (4.3) - iseddikesyre (4.12) (95 + 5, volumen).
- 4.18. 2,6-dichlor-4-(clorimino)cyclohexa-2,5-dienonopløsning, 1 % m/v i ethanol.
- 4.19. Natriumcarbonatopløsning, 1 % m/v i vand.
- 4.20. Ethanolopløsning, 30 % v/v i vand.
- 4.21. Dinatriumdihydrogenethylendiamintetraacetatopløsning, 5 % i vand.
- 4.22. Bufferopløsning pH 7:
27 g vandfrit kaliumdihydrogenphosphat og 70 g dikaliumhydrogenphosphat-trihydrat afvejes i en 1 l målekolbe, hvorefter der fyldes op til mærket med vand.
- 4.23. Færdigfremstillede tyndtlagschromatografi-plader, lagtykkelse 0,25 mm (Merck Kieselgel 60 eller tilsvarende). Før brug sprøjtes pladerne med 10 ml dinatriumethylendiaminotetraacetatopløsning (4.21) og tørres ved 80° C.
5. APPARATUR
- 5.1. 100 ml rundbundet kolbe med slib.
- 5.2. Målekolber.
- 5.3. Målepipetter, 10 og 5 ml.

- 5.4. Fuldpipetter, 20, 15, 10 og 5 ml.
- 5.5. Skilletragte, 100, 50 og 25 ml.
- 5.6. Foldefilter, 9 cm Ø.
- 5.7. Rotationsfordamper.
- 5.8. Tilbageløbssvaler med slib.
- 5.9. Spektrofotometer.
- 5.10. Kuvetter, 1 cm lysvej.
- 5.11. Omrører med elektrisk opvarmning.
- 5.12. Chromatografikolonne, glas, 16 cm lang, 8 mm D, med indsnævring i den nedre ende indeholdende en prop af glasuld og i den øvre ende forsynet med tilslutningsstuds for trykluft.
- 6. FREMGANGSMÅDE
- 6.1. *Identifikation*
- 6.1.1. *Flydende produkter:*
- 6.1.1.1. pH i den del af prøven, der skal undersøges, indstilles på 7,0, hvorefter der punktvis på startlinjen påsættes 5 og 10 µl heraf på en forbehandlet kiselgel-tyndtlagschromatografiplade (4.23).
- 6.1.1.2. I to andre punkter af startlinjen påsættes henholdsvis 10 og 30 µl af standardopløsningen (4.15.2), hvorefter pladen udvikles i en af de to udviklingsvæsker (4.17).
- 6.1.1.3. Efter at væskefronten er nået 15 cm, tørres pladen ved 100° C (15 minutter). Under en UV-lampe (366 nm) fluorescerer 8-hydroxychinolinpletterne gult.
- 6.1.1.4. Derefter sprøjtes med natriumcarbonatopløsningen (4.19) og — efter tørring — med 2,6-dichlor-4-(clorimino)cyclohexa-2,5-dienopløsningen (4.18). 8-hydroxychinolin viser sig som en blå plet.
- 6.1.2. *Faste produkter og cremer:*
- 6.1.2.1. 1 g af prøven suspenderes i 5 ml bufferopløsning (4.22) og overføres umiddelbart efter ved hjælp af 10 ml chloroform (4.3) til en skilletragt og rystes. Efter udledning af chloroformfasen ekstraheres den vandige suspension endnu to gange med 10 ml chloroform. De samlede og filtrerede chloroformekstrakter inddampes til næsten tørhed i en 100 ml rundbundet kolbe (5.1) på rotationsfordamperen (5.7). Resten opløses i 2 ml chloroform (4.3) og 10 henholdsvis 30 µl af denne opløsning påsættes en kiselgel-tyndtlagschromatografiplade (4.23) på den under 6.1.1.1 beskrevne måde.
- 6.1.2.2. Efter påføring af 10 henholdsvis 30 µl standardopløsning (4.15.2) behandles pladen yderligere som beskrevet under 6.1.1.2 til og med 6.1.1.4.
- 6.2. *Bestemmelse*
- 6.2.1. *Flydende produkter*
- 6.2.1.1. I en 100 ml rundbundet kolbe (5.1) afvejes af prøven en mængde, m, på 5,00 g, tilsættes med pipette 1 ml svovlsyre (4.8), hvorefter blandingen under reduceret tryk ved 50° C inddampes til tørhed.

- 6.2.1.2. Resten opløses i 20 ml varmt vand og overføres til en 100 ml målekolbe, idet der skylles efter tre gange med 20 ml vand, hvorefter der fyldes op med vand til 100 ml og blandes.
- 6.2.1.3. Med pipette anbringes 5,0 ml af denne opløsning i en 50 ml skilletragt. Efter tilsætning af 10 ml Fehlings væske (4.16) ekstraheres det herved fremkomne 8-hydroxychinolinkobberkompleks tre gange med 8 ml chloroform (4.3).
- 6.2.1.4. Chloroformfaserne filtreres og opsamles i en 25 ml målekolbe. Efter opfyldning med chloroform (4.3) til mærket og omrystning måles ekstinktionen ved 410 nm af den gule opløsning over for chloroform.
- 6.2.2. *Faste produkter og cremer*
- 6.2.2.1. 0,500 g af prøven, m, afvejes i en 100 ml rundbundet kolbe (5.1), tilsættes 30 ml benzen (4.2) og 20 ml saltsyre (4.7), hvorefter indholdet koges i 30 minutter under tilbagesvaling (5.8) og omrøring (5.11).
- 6.2.2.2. Indholdet fra kolben overføres til en 100 ml skilletragt, idet der skylles efter med 5 ml saltsyre (4.7). Den vandige fase overføres til en rundbundet kolbe (5.1). Benzenfasen eftervaskes med 5 ml saltsyre (4.7), som ligeledes overføres til den rundbundede kolbe, og der fortsættes som beskrevet i 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. Ved emulsionsdannelse, som vil hindre den videre oparbejdning, blandes 0,500 g af prøven, m, med 2 g Celite 545 (4.14) på en sådan måde, at der fremkommer et frit flydende pulver. Denne blanding overføres i små portioner til en chromatografikolonne (5.12). Efter hver tilsætning pakkes kolonnens indhold fast sammen. Så snart den samlede blanding er overført til kolonnen, elueres med saltsyre (4.13) på en sådan måde, at der på ca. 10 minutter fremkommer 10 ml eluat. Hvis det skønnes nødvendigt, kan elueringen fremmes under et svagt overtryk af nitrogen. Under elueringen må det påses, at der hele tiden er saltsyre oven over kolonnematerialet. De første 10 ml eluat behandles derpå som beskrevet i 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. De samlede vandige faser fra 6.2.2.2 eller eluatet fra 6.2.2.3 inddampes under reduceret tryk i rotationsfordamperen (5.7) til næsten tørhed.
- 6.2.2.5. Resten opløses i 6 ml natriumhydroxid (4.9) og tilsættes 20 ml Fehlings væske (4.16), hvorefter kolbens indhold overføres til en 50 ml skilletragt. Kolben skylles med 8 ml chloroform (4.3). Efter udrystning filtreres chloroformfasen ned i en 50 ml målekolbe. Den vandige fase udrystes endnu tre gange med 8 ml chloroform (4.3). Chloroformfaserne filtreres og opsamles ligeledes i 50 ml målekolben. Efter opfyldning med chloroform (4.3) til mærket og omrystning måles ekstinktionen ved 410 nm af den gule opløsning over for chloroform.

7. KALIBRERINGSKURVE

I fire 100 ml rundbundede kolber, som hver indeholder 3 ml ethanolopløsning (4.20), pipetteres henholdsvis 5, 10, 15 og 20 ml af standardopløsningen (4.15.1) svarende til 5, 10, 15 og 20 mg 8-hydroxychinolin. Derefter følges fremgangsmåden beskrevet i 6.2.1, og kalibreringskurven konstrueres.

8.1. Flydende produkter

Prøvens 8-hydroxychinolin-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlen:

% 8-hydroxychinolin

$$\% \text{ 8-hydroxychinolin} = \frac{a}{m} \times 100$$

hvor:

- a = mg 8-hydroxychinolin aflæst på kalibreringskurven (7).
m = prøvemængde i mg (6.2.1.1).

8.2. Faste produkter og cremer

Prøvens 8-hydroxychinolin-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlen:

$$\% \text{ 8-hydroxychinolin} = \frac{2a}{10m} \times 100$$

hvor:

a = mg 8-hydroxychinolin aflæst på kalibreringskurven (7).

m = prøvemængde i mg (6.2.2.1 eller 6.2.2.3).

9. GENTAGELIGHED (1)

Ved et 8-hydroxychinolin-indhold på omkring 0,3 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,02 %.

BESTEMMELSE AF AMMONIAK**1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver bestemmelse af frit ammoniak i kosmetiske produkter.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af frit ammoniak bestemt efter denne metode udtrykkes som masseprocent (% m/m) ammoniak.

3. PRINCIP

Bariumchloridopløsning tilsættes en prøvemængde af det kosmetiske produkt fortyndet i vandigt methanol. Eventuelt bundfald filtreres eller centrifugeres fra. Denne fremgangsmåde forhindrer tab af ammoniak — under vanddampdestillationen — fra visse ammoniumsalte som carbonat og hydrogencarbonat samt salte af fede syrer, dog med undtagelse af ammoniumacetat. Ammoniakken vanddampdestilleres fra filtrat eller supernatant og bestemmes ved potentiometrisk eller anden titrering.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. Methanol.**4.2. Bariumchlorid-dihydrat-opløsning, 25 % m/v.****4.3. Ortho-borsyre-opløsning, 4 % m/v.****4.4. 0,5 N svovlsyre.****4.5. Antiskum-middel.****4.6. 0,5 N natriumhydroxid.****4.7. Indikator:**

5 ml 0,1 % opløsning af methylrødt i ethanol blandes med 2 ml 0,1 % opløsning af methylenblåt i vand.

(1) Jfr. ISO-norm 5725.

5. APPARATUR

- 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 5.2. Centrifuge med lukkede 100 ml glas.
- 5.3. Apparat til vanddampdestillation.
- 5.4. Potentiometer.
- 5.5. Glaselektrode og dikviksølvchlorid (calomel) referenceelektrode.

6. FREMGANGSMÅDE

- 6.1. I en 100 ml målekolbe afvejes af prøven en mængde, m , i mg svarende til højst 150 mg ammoniak. Om nødvendigt gentages bestemmelsen med en mindre prøvemængde.
- 6.2. Der tilsættes 10 ml vand, 10 ml methanol (4.1) og 10 ml bariumchlorid-opløsning (4.2), og der fyldes op til 100 ml med methanol (4.1).
- 6.3. Der blandes, hvorefter blandingen hensættes natten over i køleskab (5° C).
- 6.4. Den endnu kolde blanding filtreres eller centrifugeres (5.2) i 10 minutter ved ca. 1 600 xg, hvorved opnås et klart filtrat eller klar supernatant.
- 6.5. 40,0 ml af den klare opløsning (6.3) overføres med pipette til vanddampdestillationsapparatet (5.3) og derefter eventuelt 0,5 ml antiskum-middel (4.5).
- 6.6. Bestemmelse med tilbagetitrering. Der destilleres, og 200 ml af destillatet opsamles i et 250 ml bægerglas indeholdende 10,0 ml 0,5 N svovlsyre (4.4) og 0,1 ml indikator (4.7).
- 6.7. Overskud af svovlsyre tilbagetitreres med 0,5 N natriumhydroxid (4.6).
- 6.8. Bestemmelse ved potentiometrisk titrering. Der destilleres, og 200 ml af destillatet opsamles i et 250 ml bægerglas indeholdende 25 ml borsyre-opløsning (4.3). Der titreres med 0,5 N svovlsyre (4.4) under optegnelse af neutralisationskurven.

7. BEREGNING

7.1. *Bestemmelse med tilbagetitrering*

Prøvens ammoniak-indhold i masseprocent (% m/m) beregnes ud fra formlen:

$$\% \text{ ammoniak} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 \times m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 4250}{m}$$

hvor:

V_1 = det i 6.5.1 anvendte rumfang 0,5 N natriumhydroxid (4.6) i ml.

T_1 = den aktuelle normalitet heraf.

T_2 = den aktuelle normalitet af den anvendte 0,5 N svovlsyre (4.4).

m = massen i mg af den undersøgte prøvemængde (6.1).

7.2. Bestemmelse ved potentiometrisk titrering

Prøvens ammoniak-indhold i passeprocent (% m/m) beregnes ud fra formlen:

$$\% \text{ ammoniak} = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0,4 \times m} = \frac{V_2 T_2 \times 4250}{m}$$

hvor:

V_2 = det i 6.5.2 anvendte rumfang 0,5 N svovlsyre (4.4) i ml.

T_2 = den aktuelle normalitet heraf.

m = massen i mg af den undersøgte prøvemængde (6.1).

8. GENTAGELIGHED (1)

Ved et ammoniak-indhold på omkring 6 % må forskellen mellem resultaterne på de to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,6 %.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF NITROMETHAN**1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver identifikation og bestemmelse af nitromethan, og den kan anvendes til identifikation og bestemmelse heraf i mængder på indtil 0,3 % i kosmetiske produkter i aerosolbeholdere.

2. DEFINITION

Det efter denne metode bestemte nitromethan-indhold i produktet udtrykkes i masseprocent (% m/m) af nitromethan i aerosolbeholderens totalindhold.

3. PRINCIP

Nitromethan identificeres ved en farvereaktion, og indholdet bestemmes ved gaschromatografi efter tilsætning af intern standard.

4. IDENTIFIKATION**4.1. Reagenser**

Der anvendes analysekvalitet.

4.1.1. 0,5 N natriumhydroxid.**4.1.2. Folins reagens: 0,1 g natrium-1,2-naphthoquinon-4-sulfonat opløses i vand og fortyndes til 100 ml.****4.2. Fremgangsmåde**

Til 1 ml prøve tilsættes 10 ml natriumhydroxid (4.1.1) og 1 ml Folins reagens (4.1.2). En violet farvning indikerer tilstedeværelse af nitromethan.

5. BESTEMMELSE**5.1. Reagenser**

Der anvendes analysekvalitet.

(1) Jfr. ISO-norm 5725.

- 5.1.1. Chloroform (intern standard-1).
- 5.1.2. 2,4-dimethyleptan (intern standard-2).
- 5.1.3. Ethanol 95 %.
- 5.1.4. Nitromethan.
- 5.1.5. Intern standard-1-opløsning: Ca. 650 mg chloroform (5.1.1) indføres i en forud vejet 25 ml målekolbe. Kolben med indhold vejes nøjagtigt. Der fyldes op til 25 ml med ethanol (5.1.3), hvorefter der atter vejes, og opløsningens chloroformindhold i masseprocent beregnes.
- 5.1.6. Intern standard-2-opløsning: Denne tilberedes på samme måde som intern standard-1-opløsning, idet der dog afvejes 270 mg 2,4-dimethylheptan (5.1.2) i 25 ml målekolben.
- 5.2. **Apparatur**
- 5.2.1. Gaschromatograf med flammeionisationsdetektor.
- 5.2.2. Apparatur til prøveudtagning af aerosoler (overføringsflakon, overgangsstykke, mikroinjektionssprøjte osv.) som beskrevet i Kapitel II, punkt 5, i bilaget til Kommissionens direktiv 80/1335/EØF ⁽¹⁾.
- 5.2.3. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 5.3. **Fremgangsmåde**
- 5.3.1. **Prøveforberedelse:**
Ca. 5 ml intern standard-1-opløsning (5.1.5) eller intern standard-2-opløsning (5.1.6) indføres i en forud vejet overføringsflakon på 100 ml (5.2.2), som forinden er rensed med dichlorodifluoromethan eller evakueret som beskrevet i Kapitel II, punkt 5.4. i bilaget til Kommissionens direktiv 80/1335/EØF. Der anvendes en injektionssprøjte af glas på 10 eller 20 ml uden kanyle, tilpasset overføringsstykket, efter den teknik, som er beskrevet i Kapitel II, punkt 5, i bilaget til ovennævnte kommissionsdirektiv. Der vejes på ny for at bestemme den indførte mængde. Under anvendelse af samme teknik overføres ca. 50 g (M) af indholdet fra aerosolbeholderen til denne flakon. Der vejes igen for at bestemme mængden af overført prøve, og der blandes omhyggeligt.
Der indsprøjtes ca. 10 µl med mikroinjektionssprøjte (5.2.2). Der foretages 5 injektioner.
- 5.3.2. **Forberedelse af standard:**
Ca. 500 mg nitromethan (5.1.4) og enten 500 mg chloroform (5.1.1) eller 210 mg 2,4-dimethylheptan (5.1.2) afvejes nøjagtigt i en 50 ml målekolbe, der fyldes op til mærket med ethanol (5.1.3), og der blandes omhyggeligt. 5 ml af denne opløsning anbringes i en 20 ml målekolbe, som fyldes op til mærket med ethanol (5.1.3). Der indsprøjtes ca. 10 µl mikroinjektionssprøjte (5.2.2). Der foretages 5 injektioner.
- 5.3.3. **Gaschromatografbetingelser:**
- 5.3.3.1. **Kolonne**
Denne er i to dele, hvoraf første del består af didecylphthalat på Gas Chrom Q som kolonnemateriale, medens anden del består af Ucon 50 HB 280X på Gas Chrom Q som kolonnemateriale.

$$R = 2 \frac{d'(r_2 - r_1)}{w_1 + w_2}$$

⁽¹⁾ EFT. nr. L 383 af 31. 12. 1980, s. 27.

Den kombinerede kolonne skal have en opløsningsevne, R, på mindst 1,5, hvor:

$$R = 2 \frac{d'(r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

idet:

r_1 og r_2 er retentionstider i minutter.
 w_1 og w_2 er topbredder i halv højde i mm.
 d' er skriverens papirhastighed i mm/min.

Eksempelvis giver følgende kolonnedele den ønskede opløsningsevne:

Del A:

type: rustfrit stål
 længde: 150 cm
 diameter: 3 mm
 kolonnemateriale: 20 % didecylphthalat på Gas Chrom Q, 100-120 mesh.

Del B:

type: rustfrit stål
 længde: 150 cm
 diameter: 3 mm
 kolonnemateriale: 20 % Ucon 50 HB 280X på Gas Chrom Q, 100-120 mesh.

5.3.3.2. Detektor

type: flammeionisationsforstærkning: 8×10^{-10} A.

5.3.3.3. Temperaturer

injektionsenhed: 150° C
 kolonneovn: mellem 50° C og 80° C (afhængigt af kolonner og apparatur)
 detektor: 150° C.

5.3.3.4. Gasser

bæregas: nitrogen tryk 2,1 bar
 flow 40 ml/min
 øvrige: detektorfabrikantens forskrifter følges.

6. BEREGNING

6.1 Responsfaktoren, K_n , for nitromethan beregnes i forhold til den benyttede interne standard ud fra formlen:

$$k_n = \frac{m'_n \times A'_c}{m'_c \times A'_n}$$

idet:

m'_n = massen i g af nitromethan i standardopløsningen (5.3.2).
 A'_n = arealet af nitromethantoppen.
 m'_c = massen i g af chloroform eller 2,4-dimethylheptan i standardopløsningen (5.3.2).
 A'_c = arealet af chloroform- eller 2,4-dimethylheptantoppen.
 k_n afhænger af apparaturet.

6.2. Prøvens nitromethan-indhold i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlen:

idet:

A_n = arealet af nitromethantoppen.

m_c = massen i g af chloroform eller 2,4-dimethylheptan i prøveopløsningen (5.3.1).

A_c = arealet af chloroform- eller 2,4-dimethylheptantoppen.

M = massen i g af den overførte aerosolmængde (5.3.1).

7. GENTAGELIGHED ⁽¹⁾

Ved et nitromethan-indhold på omkring 0,3 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,03 %.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF THIOGLYCOLSYRE I PERMANENTVÆSKER, UDTRÆKNINGSVÆSKER OG I HÅRFJERNINGSMIDLER

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode beskriver identifikation og bestemmelse af thioglycolsyre i permanentvæsker, udtrækningsvæsker og hårfjerningsmidler, i hvilke andre reducerende stoffer kan være til stede.

2. DEFINITION

Produktets thioglycolsyre-indhold bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) thioglycolsyre.

3. PRINCIP

Thioglycolsyre identificeres ved farvereaktion eller tyndtlagschromatografi. Den kvantitative bestemmelse foretages enten ved iodometri eller ved gaschromatografi.

4. IDENTIFIKATION

4.1. *Identifikation ved farvereaktioner*

4.1.1. *Reagenser*

Der anvendes analysekvalitet.

4.1.1.1. Blydi(acetat)papir.

4.1.1.2. Saltsyre 1:1.

4.1.2. *Fremgangsmåde*

4.1.2.1. Identification af thioglycolsyre baseret på en farvereaktion med blydi (acetat)

En dråbe af prøven anbringes på blyacetatpapir (4.1.1.1). Hvis der fremkommer en kraftig, gul farve, er thioglycolsyre sandsynligvis til stede.
Følsomhed: 0,5 %.

4.1.2.2. Karakterisering af sulfider ved dannelse af hydrogensulfid ved syring

Nogle få mg af prøven overføres til et reagensglas. Der tilsættes 2 ml vand og 1 ml saltsyre (4.1.1.2). Det udviklede hydrogensulfid erkendes dels på sin lugt og

⁽¹⁾ Ifr. ISO-norm 5725.

dels ved dannelse af sort blyulfid på blydi (acetat) (4.1.1.1).
Følsomhed: 50 ppm.

- 4.1.2.3 **Karakterisering af sulfid ved dannelse af svovldioxid ved syring**
Der gås frem som beskrevet i afsnit 4.1.2.2. Opløsningen bringes i kog. Svovldioxid erkendes på sin lugt og ved sine reducerende egenskaber over for f.eks. permanganat.
- 4.2. **Identifikation ved tyndtlagschromatografi**
- 4.2.1. **Reagenser**
Der anvendes analysekvalitet.
- 4.2.1.1. Thioglycolsyre: 98 %
- 4.2.1.2. Dithioglycolsyre: 99 %
- 4.2.1.3. Thiomælkesyre: 95 % Minimumsrenhed ved iodometrisk bestemmelse
- 4.2.1.4. 3-mercaptopropionsyre: 98 %
- 4.2.1.5. 1-thioglycerol: 98 %
- 4.2.1.6. Færdigfremstillede Silicagel G-HR tyndtlagschromatografi-plader, lagtykkelse 0,25 mm. Aktiveret ved 80 °C.
- 4.2.1.7. Færdigfremstillede aluminiumoxid tyndtlagschromatografi-plader, lagtykkelse 0,25 mm (Merck F254 E eller tilsvarende).
- 4.2.1.8. Saltsyre, koncentreret, $d_4^{20} = 1,19$.
- 4.2.1.9. Ethylacetat.
- 4.2.1.10. Chloroform.
- 4.2.1.11. Diisopropylether.
- 4.2.1.12. Tetrachlormethan.
- 4.2.1.13. Iseddikesyre.
- 4.2.1.14. Kaliumiodidopløsning, 1 % m/v, vandig.
- 4.2.1.15. Platinchloridopløsning, 0,1 % m/v, vandig.
- 4.2.1.16. Udviklingsvæsker
- 4.2.1.16.1. Ethylacetat-chloroform-diisopropylether-iseddikesyre (20 + 20 + 10 + 10, volumen).
- 4.2.1.16.2. Chloroform-iseddikesyre (90 + 20, volumen).
- 4.2.1.17. Fremkalder-reagenser
- 4.2.1.17.1. Lige volumendele af opløsningerne (4.2.1.14) og (4.2.1.15) blandes umiddelbart før brug.
- 4.2.1.17.2. Bromopløsning, 5 % m/v 5 g brom opløses i 100 ml tetrachlormethan (4.2.1.12).
- 4.2.1.17.3. Fluoresceinopløsning, 0,1 % m/v 100 mg fluorescein opløses i 100 ml ethenol 95 %.
- 4.2.1.17.4. Hexaammoniumheptamolybdatopløsning, 1 % m/v, vandig.
- 4.2.1.18. Referenceopløsninger
- 4.2.1.18.1. Thioglucolsyreopløsning, 0,4 % m/v, vandig.
- 4.2.1.18.2. Dithioglycolsyreopløsning, 0,4 % m/v, vandig.
- 4.2.1.18.3. Thiomælkesyreopløsning, 0,4 % m/v, vandig.
- 4.2.1.18.4. 3-mercaptopropionsyreopløsning, 0,4 % m/v, vandig.
- 4.2.1.18.5. 1-thioglycerolopløsning, 0,4 % m/v, vandig.

4.2.2. *Apparatur*

Sædvanligt udstyr til tyndtlagschromatografi.

4.2.3. *Fremgangsmåde*4.2.3.1. *Behandling af prøverne*

Der syres til pH 1 med nogle få dråber saltsyre (4.2.1.8) og filtreres om nødvendigt.

I visse tilfælde anbefales det at fortynde prøven. I sådanne tilfælde syres med saltsyre før fortynding.

4.2.3.2. *Udvikling*

Tyndtlagschromatografipladen påføres 1 µl prøveopløsning (4.2.3.4) og 1 µl af hver af de fem referenceopløsninger (4.2.1.18).

Der tørres så hurtigt som muligt i en svag nitrogenstrøm, og pladerne udvikles med udviklingsvæske 4.2.1.16.1 eller 4.2.1.16.2.

Pladen tørres derefter med nitrogen så hurtigt som muligt (for at undgå oxidation af thiolerne).

4.2.3.3. *Fremkaldelse*

Pladen sprøjtes med et af de tre fremkalder-reagenser 4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 eller 4.2.1.17.4.

Hvis pladen er sprøjtet med reagenset 4.2.1.17.3, skal den derefter udsættes for bromdampe (f.eks. i et udviklingskar, som indeholder bromopløsningen (4.2.1.17.2) i en lille beholder), indtil pletterne er synlige.

Fremkaldelse med reagenset 4.2.1.17.4 vil kun blive tilfredsstillende, hvis tørringen af pladen ikke har overskredet en halv time.

4.2.3.4. *Tolkning af resultater*

Referenceopløsningernes R_f -værdier og farve sammenlignes med prøvernes.

De gennemsnitlige R_f -værdier, som er angivet nedenfor, er vejledende og har kun værdi som sammenligning. De afhænger af:

- aktiveringsgraden af laget af chromatografimateriale på chromatograferingstidspunktet
- temperaturen i udviklingskarret.

Eksempler på R_f -værdier opnået på Silicagel-plade:

	Udviklingsvæsker	
	4.2.1.16.1.	4.2.1.16.2.
Thioglycolsyre	0,25	0,80
Thiomælkesyre	0,40	0,95
Dithioglycolsyre	0	0,35
3-mercaptopropionsyre	0,45	0,95
1-thioglycerol	0,45	0,35

5. **BESTEMMELSE (1)**

Der begyndes altid med iodometri.

5.1. *Iodometri*5.1.1. *Princip*

Bestemmelsen udføres ved oxidation af SH-gruppen med iod i surt medium ifølge reaktionsskemaet:

5.1.2. *Reagenser*

0,1 N iod.

(1) For at modvirke oxidation foretages thioglycolsyre-bestemmelsen på et ubenyttet produkt fra en netop åbnet beholder.

- 5.1.3. *Apparatur*
Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 5.1.4. *Fremgangsmåde*
Der afvejes nøjagtigt 0,5–1,0 g af prøven i en 150 ml konisk kolbe med prop, som indeholder 50 ml vand.
Der tilsættes 5 ml saltsyre (4.1.1.2) (pH af opløsningen er 0), og der titreres med 0,1 N iod (5.1.2), indtil der fremkommer en gul farve. Der kan anvendes indikator (stivelsesopløsning eller tetrachlormethan).
- 5.1.5. *Beregning*
Prøvens thioglycolsyre-indhold i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlen:
- $$\% (m/m) = \frac{92 \times n \times 100}{1000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 n}{m}$$
- hvor:
m = massen i g af prøvemængden
n = rumfanget i ml af forbrugt 0,1 N iod
- 5.1.6. *Bemærkninger*
Hvis resultatet, beregnet som thioglycolsyre, er 0,1 % eller mere under den tilladte maximumkoncentration, er der intet formål med at foretage yderligere bestemmelser.
Hvis resultatet er lig med eller over den tilladte maximumkoncentration, og identifikationen har afsløret tilstedeværelsen af flere reducerende stoffer, er det nødvendigt at udføre en gaschromatografisk bestemmelse.
- 5.2. *Gaschromatografi*
- 5.2.1. *Princip*
Thioglycolsyre adskilles fra midlet ved udfældning som cadmiumdi(acetat).
Efter methylering med diazomethan, som fremstilles in situ eller i forvejen i etheropløsning, bestemmes metylderivatet af thioglycolsyren ved gaschromatografi med methyloctanoat som intern standard.
- 5.2.2. *Reagenser*
Der anvendes analysekvalitet.
- 5.2.2.1. Thioglycolsyre, ren, med kendt styrke.
- 5.2.2.2. Saltsyre, koncentreret, $d_4^{20} = 1,19$.
- 5.2.2.3. Methanol.
- 5.2.2.4. Cadmiumdi(acetat)-dihydrat-opløsning, vandig, 10 % m/v.
- 5.2.2.5. Methyloctanoat-opløsning, methanolisk, 2 % m/v.
- 5.2.2.6. Acetatbuffer (pH 5)
Natriumacetat-trihydrat: 77 g,
Iseddikesyre: 27,5 ml,
Vand til et totalvolumen: 1 liter.
- 5.2.2.7. 3 N saltsyre, methanolisk, friskfremstillet.
- 5.2.2.8. N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidin.
- 5.2.2.9. 5 N natriumhydroxid.
- 5.2.2.10. 0,1 N iod.

- 5.2.2.11. Ether.
- 5.2.2.12. Diazomethanopløsning fremstillet af N-methyl-N-nitroso-p-toluen-sulfonamid: Fieser, Reagents for Organic Synthesis, Wiley 1967.
Den fremkomne opløsning indeholder ca. 1,5 g diazomethan i 100 ml ether (5.2.2.11).
Da diazomethan er en toksisk og meget ustabil gas, skal alt arbejde udføres i et effektivt stinkskaab, og brug af glasapparat med slib må undgås.
- 5.2.3. *Apparatur*
- 5.2.3.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 5.2.3.2. Apparatur til fremstilling af diazomethan til in situ methylering (Anal. Chem. 45, 1973, p. 2302).
- 5.2.3.3. Apparatur til forudgående fremstilling af diazomethan (Fieser).
- 5.2.4. *Forberedelse af prøven*
- Så meget af prøven, som formodes at indeholde 50-70 mg thioglycolsyre, afvejes nøjagtigt i et 50 ml centrifugeglas. Der syres med nogle få dråber saltsyre (5.2.2.2) til pH ca. 3.
- Så tilsættes: 5 ml vand,
10 ml acetatbuffer (5.2.2.6).
- Med pH-papir checkes, at pH er ca. 5.
- Dernæst tilsættes 5 ml cadmiumacetatopløsning (5.2.2.4).
- Efter 10 minutter centrifugeres i mindst 15 minutter ved 4 000 xg.
- Den ovenstående væske, som kan indeholde uopløseligt fedtstof (i tilfælde af cremeprodukter), fjernes; dette fedtstof kan ikke forveksles med cadmiummercaptidet, som er samlet i en kompakt masse i bunden af glasset.
- Det kontrolleres, at der ikke sker nogen udfælding, når et par dråber cadmiumacetatopløsning (5.2.2.4) sættes til den overstående væske. Hvor tidligere identifikation ikke afslørede andre reducerende stoffer end thioier, kontrolleres ved iodometri, at thiol-indholdet i den ovenstående væske ikke overstiger 6-8 % af den oprindeligt fundne mængde.
- Der sættes 10 ml methanol (5.2.2.3) til centrifugeglasset med bundfaldet, som røres op med en spatel; der centrifugeres i mindst 15 minutter ved 4 000 xg.
- Den klare væske hældes fra, og det kontrolleres som før, at den ikke indeholder thioier.
- Bundfaldet vaskes endnu en gang på samme måde.
- Til det samme centrifugeglas sættes:
— 2 ml methyloctanoat-opløsning (5.2.2.5),
— 5 ml methanolisk saltsyre (5.2.2.7).
- Mercaptidet opløses fuldstændigt (en smule uopløseligt materiale fra produktet kan blive tilbage). Dette er opløsning S.
- På en kvotadel af opløsning S kontrolleres det iodometrisk, at thiolindholdet er mindst 90 % af det i afsnit 4.1 fundne.
- 5.2.5. *Methylering*
- Methyleringen foretages enten ved in situ fremgangsmåde (5.2.5.1) eller med en i forvejen fremstillet diazomethan-opløsning (5.2.5.2)
- 5.2.5.1 *Methylering in situ:*
- Der indføres 50 µl af opløsning S i apparatet (5.2.3.2), som indeholder 1 ml ether. Der methyleres, som beskrevet i metoden (5.2.3.2) med ca. 300 mg N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidin (5.2.2.8).

Efter 15 minutter kontrolleres det, at etheropløsningen indeholder overskud af diazomethan (gul opløsning), og den overføres til en 2 ml flaske med lufttæt prop. Denne opbevares i køleskab natten over.

To prøver methyleres samtidig.

5.2.5.2. Methylering med i forvejen fremstillet diazomethan:

I en 5 ml tilproppet kolbe indføres 1 ml diazomethan-opløsning (5.2.2.12) og dernæst 5 µl af opløsning S. Kolben hensættes i køleskab natten over.

5.2.6. Fremstilling af standard

En standardopløsning indeholdende ca. 60 mg ren thioglycolsyre i 2 ml fremstilles ud fra en thioglycolsyre med kendt styrke. Dette er opløsning E.

Der fældes, kontrolleres og methyleres som beskrevet i afsnit 5.2.4 og 5.2.5.

5.2.7 Gaschromatografibetingelser

5.2.7.1. Kolonne:

type: rustfrit stål
længde: 2 m
diameter: 3 mm.

5.2.7.2. Kolonnemateriale:

20 % didecylphthalat på Chromosorb W AW, 80-100 mesh.

5.2.7.3. Detektor:

flammeionisations-forstærkning 8×10^{-10} A.

5.2.7.4. Gasser:

bæregas nitrogen: tryk 2,2 bar, flow 35 ml/min.
øvrige: detektorfabrikantens forskrifter følges.

5.2.7.5. Temperaturer:

injektor: 200° C,
kolonne: 90° C,
detektor: 200° C.

5.2.7.6. Skriver papirhastighed 5 mm/min

5.2.7.7. Injiceret mængde 3 µl; 5 indsprøjtninger.

5.2.7.8. Betingelserne gives som vejledning. Der skal opnås en opløsningsevne, R, for kolonnen på mindst 1,5, hvor:

$$R = 2 \cdot \frac{d'(r_2 - r_1)}{w_1 + w_2}$$

idet:

r_1 og r_2 er retentionstider i minutter
 w_1 og w_2 er topbredder i halv højde i mm.
 d' er skriverens papirhastighed i mm/min.

Bemærk:

Det anbefales, at chromatograferingen afsluttes med, at temperaturen ændres fra 90° C til 150° C med 10° C/min for at fjerne stoffer, som kan influere på efterfølgende målinger.

5.2.8. **Beregning**

5.2.8.1. Responsfaktoren, k_t , for thioglycolsyre beregnes i forhold til methyloctanoat (intern standard) ud fra formlen:

$$k_t = \frac{m'_t}{m'_c} \times \frac{S'_c}{S'_t}$$

idet:

m'_t = massen i mg af thioglycolsyre i standardopløsningen.

S'_t = arealet af thioglycolsyretoppen.

m'_c = massen i mg af methyloctanoat i standardopløsningen.

S'_c = arealet af methyloctanoattoppen.

k_t afhænger af apparaturet.

5.2.8.2. Prøvens thioglycolsyre-indhold i masseprocent (% m/m) beregnes ved hjælp af formlen:

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_t \times S_t}{S_c} \times 100$$

idet:

S_t = arealet af thioglycolsyretoppen.

m_c = massen i mg af methyloctanoat i prøveopløsningen.

S_c = arealet af methyloctanoattoppen.

M : = massen i mg af prøvemængden.

6. **GENTAGELIGHED (1)**

Ved et thioglycolsyre-indhold på omkring 8 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,8 %.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF HEXACHLOROPHEN**A. IDENTIFIKATION**1. **FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver identifikation af hexachlorophen. Den kan anvendes på alle kosmetiske produkter.

2. **PRINCIP**

Hexachlorophen i prøven ekstraheres med ethylacetat og identificeres ved tyndtlagschromatografi.

3. **REAGENSER**

Der anvendes analysekalitet.

3.1. 8 N svovlsyre.

3.2. Celit AW.

3.3. Ethylacetat.

(1) Jfr. ISO-norm 5725.

- 3.4. **Udviklingsvæske:** Benzen indeholdende 1 % v/v iseddikesyre.
- 3.5. **Visualiseringsmiddel I:**
Rhodamin B-opløsning. 100 mg rhodamin B opløses i en blanding af 150 ml diethylether, 70 ml absolut ethanol og 16 ml vand
- 3.6. **Visualiseringsmiddel II:**
2,6-dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienon-opløsning. 400 mg 2,6-dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienon opløses i 100 ml methanol (friskfremstilles dagligt).
Natriumcarbonat-opløsning. 10 g natriumcarbonat opløses i 100 ml vand.
- 3.7. **Referenceopløsning:** 0,05 % m/v opløsning af hexachlorophen i ethylacetat (3.3)
4. **APPARATUR**
 - 4.1. Færdigfremstillede tyndtlagschromatografi-plader, kiselgel 254, 20 × 20 cm (eller tilsvarende).
 - 4.2. Sædvanligt udstyr til tyndtlagschromatografi.
 - 4.3. Termostateret vandbad, 26° C, til chromatografikar.
5. **PRØVEFORBEREDELSE**
 - 5.1. 1 g homogeniseret prøve blandes grundigt med 1 g Celit AW (3.2) og 1 ml svovlsyre (3.1).
 - 5.2. Blandingen tørres ved 100° C i to timer.
 - 5.3. Den tørrede rest afkøles og pulveriseres fint.
 - 5.4. Der ekstraheres to gange med 10 ml ethylacetat (3.3) hver gang, idet der centrifugeres efter hver ekstraktion, hvorefter ethylacetat-lagene samles.
 - 5.5. Der inddampes ved 60° C.
 - 5.6. Resten opløses i 2 ml ethylacetat (3.3).
6. **FREMGANGSMÅDE**
 - 6.1. 2 µl af prøveopløsningen (5.6) og 2 µl af referenceopløsningen (3.7) påsættes en tyndtlagschromatografi-plade (4.1).
 - 6.2. Chromatografikarret (4.2) mættes med udviklingsvæsken (3.4).
 - 6.3. Pladen placeres i karret, og der udvikles op til 15 cm.
 - 6.4. Pladen fjernes og tørres i ventileret ovn ved omkring 105 °C.
 - 6.5. **Visualisering.** Hexachlorofen-pletter på tyndtlagschromatografi-pladen gøres synlige som anført under 6.5.1 eller 6.5.2.

- 6.5.1 Visualiseringsmiddel I (3.5) sprøjtes jævnt på pladen. Efter 30 minutter undersøges pladen under UV-lys ved 254 nm.
- 6.5.2 Visualiseringsmiddel II (3.6) anvendes på den måde, at der først sprøjtes jævnt på tyndtlagschromatografi-pladen med 2,6-dibrom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienon-opløsningen og derpå med natriumcarbonat-opløsningen. Pladen undersøges i dagslys efter tørring i 10 minutter ved stuetemperatur.

7. FORTOLKNING AF RESULTATERNE

7.1. Visualiseringsmiddel I (3.5):

Hexachlorophen viser sig som en blålig plet på en orangegul fluorescerende baggrund og har en R_f-værdi på omkring 0,5.

7.2. Visualiseringsmiddel II (3.6):

Hexachlorophen viser sig som en himmelblå til turkisfarvet plet på hvid baggrund og har R_f-værdi på omkring 0,5.

B. BESTEMMELSE

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode beskriver bestemmelse af hexachlorophen. Metoden kan anvendes på alle kosmetiske produkter.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af hexachlorophen bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) hexachlorophen.

3. PRINCIP

Efter omdannelse til metylderivatet bestemmes hexachlorophen ved gaschromatografi med electron capture-detektor.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. Ethylacetat.

4.2. N-methyl-N-nitroso-p-toluensulfonamid (diazald).

4.3. Diethylether.

4.4. Methanol.

4.5. 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol (carbitol).

4.6. Myresyre.

4.7. Kaliumhydroxid-opløsning, vandig, 50 % m/m (friskfremstilles dagligt).

- 4.8. Hexan til spektroskopi.
 - 4.9. Intern standard 1: Bromochlorophen.
 - 4.10. Intern standard 2: 4,4', 6,6'-tetrachlor-2,2'-thiodiphenol.
 - 4.11. Intern standard 3: 2, 4,4'-trichloro-2-hydroxy-diphenylether.
 - 4.12. Acetone.
 - 4.13. 8 N svovlsyre.
 - 4.14. Celit AW.
 - 4.15. Myresyre, 10 % v/v opløsning i ethylacetat.
5. APPARATUR
- 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
 - 5.2. Miniapparatur til fremstilling af diazomethan (jfr. Anal. Chem. 45, 1973 p. 2303-03).
 - 5.3. Gaschromatograf forsynet med electron capture-detektor med 63 Nikilde.
6. FREMGANGSMÅDE
- 6.1. **Fremstilling af standardopløsninger**

Ved valg af intern standard tages der hensyn til, at den ikke interfererer med stoffer, der indeholdes i det analyserede produkts matrix. Sædvanligvis er intern standard 1 (4.9) den mest anvendelige.

 - 6.1.1. Standardopløsning: Omkring 50 mg intern standard 1 (4.9), 2 (4.10), eller 3 (4.11) og 50 mg hexachlorophen (4.16) afvejes nøjagtigt i en 100 ml målekolbe. Denne fyldes op med ethylacetat (4.1) (opløsning A). 10 ml af opløsning A fortyndes til 100 ml med ethylacetat (4.1) (opløsning B).
 - 6.1.2. Intern standardopløsning: Omkring 50 mg intern standard 1 (4.9), 2 (4.10) eller 3 (4.11) afvejes nøjagtigt i en 100 ml målekolbe. Denne fyldes op med ethylacetat (4.1) (opløsning C).
 - 6.2. **Prøveforberedelse ⁽¹⁾**

En prøvemængde, M, på 1 g af den homogeniserede prøve afvejes nøjagtigt og blandes grundigt med 1 ml svovlsyre (4.13), 15 ml acetone (4.12) og 8 g Celit AW (4.14). Bladingen lufttørres i 30 minutter på dampbad og tørres dernæst i 1 1/2 time i ventileret ovn. Resten afkøles, pulveriseres fint og overføres til en glaskolonne. Der elueres med ethylacetat (4.1), og 100 ml opsamles. Dernæst tilsættes 2 ml intern standardopløsning-opløsning C (6.1.2).

(1) Da der findes en lag række produkttyper, som kan indeholde hexachlorophen, er det vigtigt først at kontrollere genfindning af hexachlorophen fra prøven med denne fremgangsmåde, inden resultaterne registreres. Hvis genfindingen er ringe, kan ændringer, såsom udskiftning af opløsningsmiddel (benzen i stedet for ethylacetat) o.s.v. foretages efter aftale med de berørte parter.

6.3. *Metylering af prøveopløsning*

Alle reagenser og apparaturet (5.2) afkøles til mellem 0° C og 4° C i to timer. I det ydre kammer af diazomethanapparatet (5.2) anbringes 1,2 ml af den under 6.2 fremkomne opløsning og 0,1 ml methanol (4.4). Omkring 200 mg diazald (4.2) anbringes i den centrale beholder; 1 ml carbitol (4.5) og 1 ml diethylether (4.3) tilsættes, og der opløses. Apparatet samles og nedsænkes halvt i et bad ved 0° C, hvorefter omkring 1 ml afkølet kaliumhydroxidopløsning (4.7) med sprøjte indføres i den centrale beholder.

Bemærk: Vedvarende gul farve er tegn på overskud af diazomethan, hvilket er nødvendigt for at sikre, at prøven er fuldstændig methyleret. Vedvarer den opståede gule farve ikke, gentages methyleringen med yderligere 200 mg diazald (4.2) ⁽¹⁾.

Apparatet fjernes fra badet efter 15 minutter, hvorefter det i lukke stand henstår i 12 timer i den omgivende temperatur. Derefter åbnes apparatet, og den overskydende diazomethan omsættes ved tilsætning af nogle dråber myresyre (4.15), og den organiske opløsning overføres til en 25 ml målekolbe. Denne fyldes op med hexan (4.8).

1,5 µl af denne opløsning indsprøjtes i gaschromatografen (5.3).

6.4. *Metylering af standardopløsning*

Alle reagenser og apparatet (5.2) afkøles til mellem 0° C og 4° C i to timer. I det ydre kammer af diazomethanapparatet (5.2) indføres:

0,2 ml standardopløsning-opløsning B (6.1.1).

1,0 ml ethylacetat (4.1).

0,1 ml methanol (4.4).

Methyleringen udføres som beskrevet under 6.3.

1,5 µl af denne opløsning indsprøjtes i gaschromatografen (5.3).

7. GASCHROMATOGRAFI-BETINGELSER

Kolonnen bør kunne adskille hexachlorophen fra de nærmest eluerede stoffer, og skal have en opløsningsevne, R, på mindst 1,5, hvor:

$$R = 2 \frac{d'(r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

idet:

r₁ og r₂ = retentionstider i minutter,

w₁ og w₂ = topbredder i halv højde i mm,

d' = skriverens papirhastighed i mm/min.

Følgende kolonne har med de anførte betingelser vist sig hensigtsmæssig:

7.1.	Kolonne: type: rustfrit stål	bæremateriale:
	længde: 1,70 m	Chromosorb: W AW, 80-100 mesh
	diameter: 3 mm	stationær fase: OV-17, 10 %

Temperaturer:

injektionsenhed: 280° C kan varieres

kolonneovn: 280° C afhængigt af

detektor: 280° C apparaturet

Gasser: bæregas: nitrogen, oxygenfri,

tryk: 2,3 bar

flow: 30 ml/min

⁽¹⁾ Vedvarer den gule farve, er det tegn på overskud af diazomethan, hvilket er nødvendigt for at sikre, at prøven er fuldstændig methyleret.

8. BEREGNING

- 8.1. Responsfaktoren, k_h , for hexachlorophen beregnes i forhold til den benyttede interne standard ud fra formlen:

$$K_h = \frac{m'_h}{m'_s} \times \frac{A'_s}{A'_h}$$

idet:

- h = hexachlorophen,
- k_h = dets proportionalitetskoefficient,
- m'_h = dets masse i blandingen målt i g,
- A'_h = dets areal under kurven,
- s = den valgte standard,
- m'_s = dens masse i blandingen målt i g,
- A'_s = dens areal under kurven.

- 8.2. Prøvens hexachlorophen-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) hexachlorophen beregnes ved hjælp af formlen:

$$\frac{m_s \times k_h \times A_h \times 100}{M \times A_s}$$

idet:

- h = hexachlorophen,
- k_h = dets proportionalitetskoefficient,
- A_h = dets areal under kurven,
- s = den valgte standard,
- m_s = dens masse i blandingen udtrykt i g,
- A_s = dens areal under kurven,
- M = massen af prøven udtrykt i g.

9. GENTAGELIGHED (1)

Ved et hexachlorophen-indhold på omkring 0,1 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,005 %.

BESTEMMELSE AF NATRIUMTOSYLCHLORAMID (CHLORAMIN-T)**1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver bestemmelse af natriumtosylchloramid - chloramin-T - ved kvantitativ tyndtlagschromatografi. Metoden kan anvendes til alle kosmetiske produkter.

(1) Jfr. ISO-norm 5725.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af chloramin-T bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m).

3. PRINCIP

Chloramin-T hydrolyseres kvantitativt til 4-toluensulfonamid ved kogning med saltsyre.

Mængden af det dannede 4-toluensulfonamid bestemmes fotodensitometrisk efter tyndtlagschromatografi.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. Natriumtosylchloramid (chloramin-T).

4.2. Standardopløsning af 4-toluensulfonamid:
50 mg 4-toluensulfonamid i 100 ml ethanol (4.5).

4.3. Saltsyre, $d_4^{20} = 1,18$.

4.4. Diethylether.

4.5. Ethanol, 96 % (v/v).

4.6. Udviklingsvæske:

4.6.1. Butanol-1-ethanol (4.5) - vand (40 + 4 + 9, volumen).

4.6.2. Chloroform - acetone (6 + 4, volumen).

4.7. Færdigfremstillede tyndtlagschromatografiplader, kiselgel 60 uden fluorescensindikator.

4.8. Kaliumpermanganat.

4.9. Saltsyre, 15 % (m/m).

4.10. Sprøjtereagens:

1 % (m/v) opløsning af 2-toluidin i ethanol (4.5).

5. APPARATUR

5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr

5.2. Sædvanligt udstyr til tyndtlagschromatografi

5.3. Fotodensitometer

6. FREMGANGSMÅDE**6.1. Hydrolyse**

I en 50 ml rundbundet kolbe afvejes nøjagtigt ca. 1 g af prøven (m), og der tilsættes 5 ml vand og 5 ml saltsyre (4.3) og koges under tilbagesvaling i 1 time. Umiddelbart efter overføres den endnu varme suspension med vand til en 50 ml målekolbe. Efter afkøling fyldes der op til mærket med vand. Dernæst centrifugeres ved mindst 3000 rpm i fem minutter, og den ovenstående væske filtreres.

6.2. Ekstraktion

6.2.1. Der udtages 30,0 ml af filtratet (6.1), som ekstraheres tre gange med 15 ml diethylether (4.4). Om nødvendigt tørres ekstrakterne, og de samles i en 50 ml målekolbe. Der fyldes op med diethylether (4.4).

6.2.2. Af de samlede etherekstrakter udtages 25,0 ml, som inddampes til tørhed i en nitrogenstrøm. Resten genopløses i 1,00 ml ethanol (4.5).

6.3. Tyndtlagschromatografi

6.3.1. 20 µl af den ethanoliske rest (6.2) påsættes en tyndtlagschromatografiplade (4.7).

På samme tid og på samme måde påsættes henholdsvis 8, 12, 16 og 20 µl af standardopløsningen af 4-toluensulfonamid (4.2).

6.3.2. Der udvikles dernæst til omkring 15 cm i udviklingsvæsken (4.6.1 eller 4.6.2).

6.3.3. Efter fuldstændig fordampning af udviklingsvæsken anbringes pladen i to-tre minutter i en atmosfære af chlordamp, som fremstilles ved at hælde ca. 100 ml saltsyre (4.9) på ca. 2 g kaliumpermanganat (4.8) i et lukket kar.

Det overskydende chlor fjernes ved opvarmning af pladen til 100° C i fem minutter. Pladen sprøjtes derpå med sprøjtereagenset (4.10).

6.4. Måling

Efter ca. 1 time måles de violette pletter ved hjælp af fotodensitometer (5.3) ved 525 nm.

6.5. Kalibreringskurve

Værdierne for tophøjder for de fire standard-4-toluensulfonamidpletter afsættes mod de tilsvarende 4-toluensulfonamidmængder (dvs. 4, 6, 8 og 10 µg 4-toluensulfonamid pr. plet).

7. BEMÆRKNING

Metoden kan efterprøves ved at anvende en 0,01 eller 0,02 % (m/v) opløsning af chloramin-T, behandlet på samme måde som prøven (6).

8. BEREGNING

Prøvens chloramin-T-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) chloramin-T beregnes ved hjælp af formlen:

$$\% \text{ natriumtosylchloramid (chloramin-T)} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m}$$

hvor:

- 1,33 = omregningsfaktor 4-toluensulfonamid-chloramin-T,
a = den af kalibreringskurven (6.5) aflæste mængde 4-toluensulfonamid i μg ,
m = massen i g af den afvejede prøvemængde (5.1).

9. GENTAGELIGHED ⁽¹⁾

Ved et chloramin-T-indhold på omkring 0,2 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,03 %

BESTEMMELSE AF TOTAL-FLUOR I TANDPASTA

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode beskriver bestemmelse af det samlede fluor-indhold i tandpasta. Metoden er anvendelig for fluor-indhold op til 0,25 %.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af fluor bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) fluor.

3. PRINCIP

Bestemmelsen foretages ved gaschromatografi. Fluor fra de fluorholdige forbindelser omdannes til triethylfluorosilan - TEFS - ved direkte reaktion med triethylchlorosilan - TECS - i surt miljø og samtidig ekstraheres med xylene, der indeholder cyclohexan som intern standard.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

4.1. Natriumfluorid, tørret ved 120° C til konstant masse.

4.2. Vand, dobbeltdestilleret eller af tilsvarende kvalitet.

4.3. Saltsyre, $d_4^{20} = 1,19$.

4.4. Cyclohexan (CH).

4.5. Xylene; må i chromatogrammet ikke give toppe før solventtoppen, når den chromatograferes under samme betingelser som prøven. Om nødvendigt renses den ved destillation (5.8).

⁽¹⁾ Jfr. ISO-norm 5725.

- 4.6. Triethylchlorosilan - TECS.
- 4.7. Fluor-standardopløsninger.
- 4.7.1. Stamopløsning, 0,250 mg F⁻/ml. Nøjagtigt 138,1 mg natriumfluorid (4.1) afvejes og opløses i vand (4.2). Opløsningen overføres kvantitativt til en 250 ml målekolbe (5.5); der fyldes op til mærket med vand (4.2) og blandes.
- 4.7.2. Fortyndet stamopløsning, 0,050 mg F⁻/ml. Med pipette overføres 20,0 ml af stamopløsningen (4.7.1) til en 100 ml målekolbe (5.5); der fyldes op til mærket med vand (4.2) og blandes.
- 4.8. Intern standard-opløsning
1,0 ml cyclohexan (4.4) og 5,0 ml xylen (4.5) blandes.
- 4.9. TECS/intern standard-opløsning.
Med pipette (5.7) overføres 0,6 ml TECS (4.6) og 0,12 ml intern standard-opløsning (4.8) til en 10 ml målekolbe. Der fyldes op til mærket med xylen (4.5) og blandes. Friskfremstilles dagligt.
- 4.10. Perchlorsyre, 70 % m/v.
- 4.11. Perchlorsyre, 20 % m/v, i vand (4.2).

5. APPARATUR

- 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 5.2. Gaschromatograf med flammeionisationsdetektor.
- 5.3. Vortex rysteapparat eller tilsvarende.
- 5.4. Kolberysteapparat.
- 5.5. Målekolber; 100 og 250 ml, af propylen.
- 5.6. Centrifugeglas (glas), 20 ml, med teflonbelagte skruelåg; Sovirel type 611-56 eller tilsvarende. Glas og skruelåg rengøres ved flere timers neddykning i perchlorsyre (4.11) efterfulgt af fem gange skyling med vand (4.2) og tørres til slut ved 100° C.
- 5.7. Pipetter, som kan justeres til at give rumfang på 50 til 200 µl, med aftagelige plastspider.
- 5.8. Destillationsapparat, tilsluttet tre-trin Schneider-kolonne eller en tilsvarende Vigreux-kolonne.

6. FREMGANGSMÅDE**6.1. *Analyse af prøven***

- 6.1.1. En tube tandpasta skæres op. Indholdet overføres kvantitativt til en plastbeholder, blandes omhyggeligt og opbevares under sådanne betingelser, at nedbrydning undgås.
- 6.1.2. I et centrifugeglas (5.6) afvejes nøjagtigt en prøvemængde, m , på omkring 150 mg. Der tilsættes 5 ml vand (4.2) og homogeniseres (5.3).
- 6.1.3. Der tilsættes 1,0 ml xylen (4.5).
- 6.1.4. Dråbevis tilsættes 5 ml saltsyre (4.3), hvorpå der atter homogeniseres (5.3).
- 6.1.5. Med pipette sættes 0,5 ml TECS/intern standard-opløsning (4.9) til centrifugeglasset.
- 6.1.6. Glasset lukkes med skurelåget (5.6), og indholdet blandes omhyggeligt i 45 minutter på rysteapparatet (5.4).
- 6.1.7. Der centrifugeres i 10 minutter med en sådan hastighed, at der opnås klar adskillelse mellem faserne. Glasset åbnes, den organiske fase udtages, og 3 μ l heraf indsprøjtes i gaschromatografens (5.2) kolonne.
- Bemærk:*
Der går ca. 20 minutter, før alle komponenter er elueret.
- 6.1.8. Indsprøjtningen gentages, toppenes gennemsnitlige arealforhold $A_{TEFS}/A_{cyclohexan}$ beregnes, og den tilsvarende fluormængde, m , i mg aflæses på kalibreringskurven (6.3).
- 6.1.9. Total-fluor-indholdet i prøven beregnes som anført i afsnit 7.

6.2. *Gaschromatografi-betingelser***6.2.1. Kolonne:**

type: rutsfrit stål
længde: 1,8 m
diameter: 3 mm
bæremateriale: Gaschrom Q, 80-100 mesh
stationær fase: Siliconolie DC 200 eller tilsvarende, 20 %.

Kolonnen konditioneres natten over ved 100° C og med et bæregasflow på 25 ml/min. For hver fjerde eller femte indsprøjtning rekonditioneres kolonnen ved opvarmning til 100° C i 30 minutter. Kolonnen rekonditioneres hver nat.

Temperaturer:

injektionsenhed: 150° C
kolonneovn: 70° C
detektor: 250° C

Gasser:

bæregas: nitrogen, flow 35 ml/min.

6.3. *Kalibreringskurve*

- 6.3.1. I en serie på seks centrifugeglas (5.6) afpipetteres 0, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 ml af den fortyndede fluor-stamopløsning (4.7.2). I hvert glas fyldes op med vand (4.2) til 5,0 ml.

- 6.3.2. Derefter følges den under 6.1.3 til 6.1.6 beskrevne fremgangsmåde.
- 6.3.3. 3 µl af den organiske fase indsprøjtes i gaschromatografens (5.2) kolonne.
- 6.3.4. Indsprøjtningen gentages, og toppenes gennemsnitlige arealforhold $A_{TEFS}/A_{cyclohexan}$ beregnes.
- 6.3.5. Der konstrueres en kalibreringskurve med mængden i mg af fluor i standardopløsningerne (6.3.1) mod de under 6.3.4 målte arealforhold $A_{TEFS}/A_{cyclohexan}$. Den bedste rette linie, beregnet ved regressionsanalyse, tegnes.

7. BEREGNING

Prøvens total-fluor-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) fluor beregnes ved hjælp af formlen:

$$\% \text{ fluor} = \frac{m_1}{m} \times 100$$

hvor:

m = prøvemængden i mg (6.1.2),

m₁ = fluormængden i mg aflæst på kalibreringskurven (6.1.8).

8. GENTAGELIGHED ⁽¹⁾

Ved et fluor-indhold på omkring 0,15 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,012 %.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF ORGANO-KVIKSØLVFORBINDELSER

FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode beskriver identifikation og bestemmelse af organo-kviksølvforbindelser, der anvendes som konserveringsmidler i kosmetiske produkter til øjnene. Den er anvendelig til thiomersal (INN) natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoat samt phenylkviksølv og dets salte.

A. IDENTIFIKATION

1. PRINCIP

Organo-kviksølvforbindelserne kompleksbindes i form af dithizonater. Efter ekstraktion af dithizonatet med tetrachlormethan foretages tyndtlagschromatografi på kiselgel. Dithizonaterne fremtræder som orangefarvede pletter.

2. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

2.1. Svovlsyre, 25 % v/v

⁽¹⁾ Jfr. ISO-norm 5725.

- 2.2. 1,5-diphenyl-3-thiocarbazonopløsning (dithizon): 0,8 mg dithizon i 100 ml tetrachlormethan (2.4).
- 2.3. Nitrogen.
- 2.4. Tetrachlormethan.
- 2.5. Udviklingsvæske: hexan-acetone (90 + 10 volumen).
- 2.6. Standardopløsning: 0,001 % i vand af:
natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoat
ethylkviksølvchlorid eller methylkviksølvchlorid
phenylkviksølvnitrat eller phenylkviksølvacetat
kviksølvdichlorid eller kviksølvdi(acetat)
- 2.7. Færdigfremstillede kiselgel tyndtlagschromatografplader (Merck 5721 eller tilsvarende).
- 2.8. Natriumchlorid.
3. APPARATUR
- 3.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 3.2. Sædvanligt udstyr til tyndtlagschromatografi.
- 3.3. Faseadskillelsesfilter.
4. FREMGANGSMÅDE
- 4.1. *Ekstraktion*
- 4.1.1. 1 g prøve dispergeres i et centrifugeglas med 20 ml vand. For at fremme dispergeringen opvarmes til 60 °C i vandbad. Der tilsættes 4 g natriumchlorid (2.8) og rystes, hvorefter der afkøles.
- 4.1.2. Der centrifugeres ved 4.500 rpm i mindst 20 minutter for at adskille størsteparten af fast stof fra flydende. Der filtreres ned i en skilletragt og tilsættes 0,25 ml svovlsyre (2.1).
- 4.1.3. Med 2-3 ml dithizonopløsning (2.2) ekstraheres så mange gange, at den organiske fase til sidst forbliver grøn.
- 4.1.4. De organiske ekstrakter filtreres efterhånden gennem faseadskillelsesfilter (3.3).
- 4.1.5. I en strøm af nitrogen (2.3) inddampes der til tørhed.
- 4.1.6. Resten opløses i 0,5 ml tetrachlormethan (2.4), hvorefter der straks fortsættes med separationen (4.2.1.).

4.2. **Separation**

4.2.1. 50 µl af den under 4.1.6 fremkomne tetrachlormethanopløsning påsættes straks en kiselgelplade (2.7) 10 ml standardopløsning (2.6) behandles samtidig med prøven som beskrevet i afsnit 4.1, og 50 µl af den derved fremkomne opløsning påsættes ligeledes pladen.

4.2.2. Pladen anbringes i chromatografikarret (3.2) indeholdende udviklingsvæske (2.5), som stiger op til 15 cm. Organo-kviksølvforbindelserne viser sig som farvede pletter, hvis farve er stabil, forudsat at pladen tildækkes med en glasplade, umiddelbart efter at udviklingsvæsken er fordampet.

Følgende Rf-værdier er eksempelvis opnået:

	Rf-værdi	Farve
Thiomersal	0,33	orange
Ethylkviksølvchlorid	0,29	orange
Methylkviksølvchlorid	0,29	orange
Phenylkviksølvsalte	0,21	orange
Kviksølvdichlorid	0,10	orange
Kviksølvdi(acetat)	0,10	orange
1,5-diphenyl-3-thiocarbazon	0,09	rosa

B. BESTEMMELSE

1. DEFINITION

Prøvens indhold af organo-kviksølvforbindelser bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) kviksølv.

2. PRINCIP

Efter reduktion måles mængden af total-kviksølv. I forvejen må det derfor sikres, at kviksølv på uorganisk-kemisk form ikke er til stede, ligesom den i prøven tilstedeværende organo-kviksølvforbindelse skal være identificeret. Det frigjorte kviksølv måles ved flammeløs atomabsorption ved 253,7 nm.

3. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

3.1. Salpetersyre, $d_4^{20} = 1,41$.

3.2. Svovlsyre, $d_4^{20} = 1,84$.

3.3. Redestilleret vand.

3.4. Kaliumpermanganatopløsning, 7 % m/v.

3.5. Hydroxylammoniumchloridopløsning, 1,5 % m/v.

3.6. Dikaliumperoxodisulfatopløsning, 5 % m/v.

- 3.7. Tindichloridopløsning, 10 % m/v.
- 3.8. Saltsyre, $d_4^{20} = 1,18$.
- 3.9. Glasuld imprægneret med 1 % m/m palladiumdichlorid.
4. APPARATUR
- 4.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
- 4.2. Atomabsorptionspektrometer til flammeløs (kold-damp) kviksølvbestemmelse.
5. FREMGANGSMÅDE
- Der tages alle sædvanlige forholdsregler for sporanalyse af kviksølv.
- 5.1. *Nedbrydning*
- 5.1.1. En prøvemængde (m) på 150 mg afvejes nøjagtigt. Der tilsættes 10 ml salpetersyre (3.1), hvorefter nedbrydningen sker ved tre timers henstand i en lufttæt kolbe i vandbad ved 55° C og under regelmæssig omrystning. Samtidig udføres en blindprøve på reagenserne.
- 5.1.2. Efter afkøling tilsættes 10 ml svovlsyre (3.2), og kolben hensættes atter i vandbad ved 55° C i 30 minutter.
- 5.1.3. Kolben anbringes i isbad, og der tilsættes forsigtigt 20 ml vand (3.3).
- 5.1.4. Efter tilsætning af 2 ml portioner af kaliumpermanganatopløsningen (3.4), indtil opløsningen forbliver farvet, hensættes kolben på vandbad ved 55° C i yderligere 15 minutter.
- 5.1.5. Der tilsættes 4 ml dikaliumperoxodisulfatopløsning (3.6). Opvarmingen på vandbad ved 55° C fortsættes i 30 minutter.
- 5.1.6. Efter afkøling overføres kolbens indhold til en 100 ml målekolbe. Kolben skylles først med 5 ml hydroxylammoniumchloridopløsning (3.5) og dernæst 4 gange med 10 ml vand (3.3). Opløsningen skal være fuldstændig affarvet. Herefter fyldes op til mærket med vand (3.3).
- 5.2. *Reduktion og måling*
- 5.2.1. 10 ml af prøveopløsningen (5.1.6) overføres til glasbeholderen til den flammeløse (kold-damp) kviksølvbestemmelse (4.2). Der fortyndes først med 100 ml vand (3.3) og dernæst med 5 ml svovlsyre (3.2) og 5 ml tindichloridopløsning (3.7); der blandes efter hver tilsætning. Efter 30 sekunder er al kviksølv reduceret til metallisk form, og der foretages en måling(n).
- 5.2.2. Noget glasuld imprægneret med palladiumdichlorid (3.9) anbringes mellem beholderen til kviksølvreduktion og instrumentets målekuvette (4.2). Herefter gentages proceduren beskrevet i afsnit 5.2.1.
- Hvis måleresultatet ikke er nul, har reduktionen været ufuldstændig, og analysen må gentages.

6. BEREGNING

Prøvens kviksølv-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) kviksølv beregnes ved hjælp af formlen:

$$\% \text{ kviksølv} = \frac{n}{m}$$

hvor:

n = kviksølv-mængden i µg aflæst på instrumentet (5.2.1),

m = prøvemængden i mg (5.1.1).

7. BEMÆRKNINGER

7.1. For at fremme reduktionen kan det være nødvendigt indledningsvis at fortynde prøven.

7.2. Hvis der kan være mistanke om, at kviksølvet absorberes til substratet, bør der foretages en bestemmelse ved tilsætning af standard.

8. GENTAGELIGHED ⁽¹⁾

Ved et kviksølv-indhold på omkring 0,007 % må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,00035 %.

BESTEMMELSE AF ALKALISULFIDER OG ALKALIJORDSULFIDER**1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver bestemmelse af sulfider i kosmetiske produkter. Tilstedeværelsen af thiole eller andre reducerende stoffer (herunder sulfid) forstyrrer ikke bestemmelsen.

2. DEFINITION

Prøvens indhold af sulfider bestemt efter denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) svovl.

3. PRINCIP

Efter at miljøet er gjort surt, uddrives det dannede hydrogensulfid med en nitrogenstrøm og bindes dernæst i form af cadmiumsulfid. Dette frafiltreres og vaskes, hvorefter det bestemmes ved iodometri.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

(1) Jfr. ISO-norm 5725.

- 4.1. Koncentreret saltsyre $d_4^{20} = 1,19$.
- 4.2. 0,1 N natriumthiosulfat.
- 4.3. 0,1 N iod.
- 4.4. Dinatriumsulfid.
- 4.5. Cadmium(acetat).
- 4.6. Koncentreret ammoniak $d_4^{20} = 0,90$.
- 4.7. Ammoniakalsk cadmiumacetatopløsning: I en 100 ml målekolbe opløses 10 g cadmiumdi(acetat) (4.5) i ca. 50 ml vand, tilsættes ammoniak (4.6), indtil bundfaldet atter er opløst (ca. 20 ml), hvorefter der fyldes op til mærket med vand.
- 4.8. Nitrogen.
- 4.9. 1 M ammoniak.
5. APPARATUR
 - 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr.
 - 5.2. 100 ml rundbundet, trehalset kolbe med normalslib.
 - 5.3. To 150 ml Erlenmeyerkolber med slib og forsynet med en indretning bestående af et dypperør og et siderør til bortledning af den vaskede gas.
 - 5.4. Tragt med lang stilk.
6. FREMGANGSMÅDE
 - 6.1. *Uddrivning af sulfider*
 - 6.1.1. Der tages en pakning, der ikke tidligere har været åbnet. I kolben (5.2) afvejes nøjagtigt en prøvemængde (m) i g, der svarer til højst 30 mg sulfidioner. Der tilsættes 60 ml vand og to dråber flydende antiskummiddel.
 - 6.1.2. Til hver af de to Erlenmeyerkolber (5.3) sættes 50 ml ammoniakalsk cadmiumacetatopløsning (4.7).
 - 6.1.3. En skilletragt, dypperøret og siderøret sættes på kolben (5.2). Siderøret forbindes ved hjælp af PVC-slange med Erlenmeyerkolberne, der er anbragt i serie.

Bemærk:

Uddrivningsapparatet skal underkastes følgende kontrol for tæthed:

Under forsøgsbetingelserne erstattes det produkt, der skal bestemmes, med 10 ml af en sulfidopløsning fremstillet af dinatriumsulfid (4.4), der indeholder X mg sulfid (bestemt ved iodometri). Den mængde sulfid i mg, der findes ved denne analyse, betegnes Y. Forskellen mellem de to mængder X og Y må ikke overskride 3 %.

- 6.1.4. For at uddrive luften i kolben (5.2) gennemledes der i 15 minutter nitrogen (4.8) med en hastighed på 2 bobler pr. sekund.
- 6.1.5. Kolben opvarmes til $85 \pm 5^\circ \text{C}$.
- 6.1.6. Nitrogenstrømmen standses, og der tilsættes dråbevis 40 ml saltsyre (4.1).
- 6.1.7. Gennemledning af nitrogen (4.8) genoptages, når næsten al syren er løbet ud, idet man lader en lille mængde væske blive tilbage for at undgå utætheder.
- 6.1.8. Opvarmningen afbrydes efter 30 minutter, og kolben køles af, medens nitrogenstrømmen opretholdes i mindst $\frac{1}{2}$ time.
- 6.2. **Titring**
- 6.2.1. Cadmiumsulfidet filtreres gennem en tragt med en lang stilk (5.4).
- 6.2.2. Erlenmeyerkolberne skylles først én gang med ammoniak (4.9), der hældes på filtret, og derefter med vand, som anvendes til at vaske bundfaldet på filtret.
- 6.2.3. Bundfaldet på filtret vaskes til slut med 100 ml vand.
- 6.2.4. Filtrerpapiret anbringes i den første Erlenmeyerkolbe fra udfældningen. Der tilsættes 25,0 ml (n_1) 0,1 N iod (4.3), ca. 20 ml saltsyre (4.1) og 50 ml vand.
- 6.2.5. Iodoverskuddet bestemmes ved titring med 0,1 N natriumthiosulfat (4.2) (n_2).

7. BEREGNING

Prøvens sulfid-indhold udtrykt i masseprocent (% m/m) svovl beregnes ved hjælp af formlen:

$$\% \text{ svovl} = \frac{(n_1 x_1 - n_2 x_2) \times 32}{20 \times m}$$

hvor:

- n_1 = det tilsatte volumen i ml af 0,1 N iod (4.3),
 x_1 = normaliteten af denne opløsning,
 n_2 = det forbrugte volumen i ml af 0,1 N natriumthiosulfat (4.2),
 x_2 = normaliteten af denne opløsning,
 m = prøvemængden i g.

8. GENTAGELIGHED (1)

Ved et sulfid-indhold svarende til omkring 2 % svovl må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på den samme prøve ikke overstige en absolut værdi på 0,2 %.

(1) Ifr. ISO-norm 5725.