

II

(Retsakter hvis offentliggørelse ikke er obligatorisk)

KOMMISSIONEN

KOMMISSIONENS FJERDE DIREKTIV

af 11. oktober 1985

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

(85/490/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 85/391/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; tre etaper i bestræbelserne for at nå dette mål er gennemført ved fastlæggelsen af en række metoder i Kommissionens direktiv 80/1335/EØF⁽³⁾, 82/434/EØF⁽⁴⁾, 83/514/EØF⁽⁵⁾; fjerde etape består i fastlæggelse af metoder til identifikation og bestemmelse af glyceryl-1-(4-aminobenzoat), bestemmelse af chlorobutanol, identifikation og bestemmelse af quinin, identifikation og bestemmelse af uorganiske sulfitter og hydrogensulfitter, identifikation og bestemmelse af chlorater af alkalimetaller samt identifikation og bestemmelse af natriumiodat;

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

UDSTEDT FØLGENDE uorganiske #CO44,3#

Artikel 1

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

- identifikation og bestemmelse af glyceryl-1-(4-aminobenzoat)
- bestemmelse af chlorobutanol
- identifikation og bestemmelse af quinin
- identifikation og bestemmelse af uorganiske sulfitter og hydrogensulfitter
- identifikation og bestemmelse af chlorater af alkalimetaller
- identifikation og bestemmelse af natriumiodat 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 1986 at efterkomme dette direktiv.

De underretter straks Kommissionen herom.

Artikel 3

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 11. oktober 1985.

På Kommissionens vegne

Stanley CLINTON DAVIS

Medlem af Kommissionen⁽¹⁾ EFT nr. L 262 af 27. 9. 1976, s. 169.⁽²⁾ EFT nr. L 224 af 22. 8. 1985, s. 40.⁽³⁾ EFT nr. L 383 af 31. 12. 1980, s. 27.⁽⁴⁾ EFT nr. L 185 af 30. 6. 1982, s. 1.⁽⁵⁾ EFT nr. L 291 af 24. 10. 1983, s. 9.

BILAG**IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF GLYCERYL-1-(4-AMINOBENZOAT)****A. IDENTIFIKATION****1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode kan anvendes til påvisning af glyceryl-1-(4-aminobenzoat). Den vil også påvise ethyl-4-aminobenzoat (benzocain), som kan være til stede som urenhed.

2. PRINCIP

Identifikationen udføres ved tyndtlagschromatografi (TLC) på kiselgel med fluorescensindikator og detektion af den frie primære amino-gruppe ved dannelse af et diazofarvestof på pladen.

3. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

3.1. Opløsningsmiddel : cyclohexan/propan-2-ol/stabiliseret dichlormethan : 48/64/9 (v/v/v)

3.2. Elueringsvæske : petroleumsether (40-60 °C)/benzen/acetone/ammoniumhydroxidopløsning (min. 25 % (m/m) NH₃) : 35/35/35/1 (v/v/v/v)

3.3. Fremkaldervæske A : natriumnitrit, 1,0 g i 100 ml 1 M HCl ; fremstilles umiddelbart før brug.
Fremkaldervæske B : 2-naphthol, 0,2 g i 100 ml 1 M KOH

3.4. Standardopløsninger : 0,050 g glyceryl-1-(4-aminobenzoat) i 100 ml af opløsningsmidlet (3.1)
0,050 g ethyl-4-aminobenzoat i 100 ml af opløsningsmidlet (3.1)

3.5. Kiselgelplader : 60 F254, 0,25 mm lagtykkelse, 20 cm × 20 cm

4. APPARATUR

4.1. Sædvanligt udstyr til TLC

4.2. Ultralydbad

4.3. Millipore filter FH 0,5 µm eller tilsvarende

5. FREMGANGSMÅDE**5.1. Prøveforberedelse**

Afvej 1,5 g prøve i et 10 ml måleglas med slibprop. Fyld op til 10 ml med opløsningsmidlet (3.1). Måleglasset tilproppes og henstår 1 time ved rumtemperatur i ultralydbad (4.2). Filtrer gennem Millipore filter (4.3), og anvend filtratet til chromatograferingen.

5.2. Tyndtlagschromatografi

Påsæt 10 µl af prøveopløsningen (5.1) og 10 µl af hver standardopløsning (3.4) på en tyndtlagschromatografiplade (3.5). Kromatogrammet elueres til en højde af 150 mm med elueringsvæsken (3.2) i et kar, der i forvejen er mættet med denne. Pladen tørres ved stuetemperatur i stinkskaab.

5.3. Påvisning

5.3.1. Pladen iagttages i UV-lys ved 254 nm.

5.3.2. Spray den absolut tørre plade med fremkaldervæske A (3.3). Lad den tørre 1 min. ved stuetemperatur og spray umiddelbart derefter med fremkaldervæske B (3.3). Pladen tørres i varmeskaab ved 60 °C. Pletterne fremtræder med orange farve.

R_f-værdierne er :

0,07 for glyceryl-1-(4-aminobenzoat)

0,55 for ethyl-4-aminobenzoat.

B. BESTEMMELSE

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode bestemmer glyceryl-1-(4-aminobenzoat). Den bestemmer ligeledes ethyl-4-aminobenzoat. Metoden kan anvendes til bestemmelse af højst 5 % (m/m) glyceryl-1-(4-aminobenzoat) og 1 % (m/m) ethyl-4-aminobenzoat.

2. DEFINITION

Indholdet af glyceryl-1-(4-aminobenzoat) og ethyl-4-aminobenzoat bestemt ved denne metode udtrykkes som masseprocent (% m/m) af produktet.

3. PRINCIP

Prøve analyseres ved højtryksvæskechromatografi (HPLC) efter at være bragt i opløsning i methanol og passende behandlet.

4. REAGENSER

Alle reagenser skal være af analysekvalitet og velegnede til HPLC

4.1. Methanol

4.2. Kaliumdihydrogenorthosphat, KH_2PO_4 4.3. Zinkdiacetat $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.4. Edikkesyre, $d_4^{20} = 1,05$ 4.5. Tetrakaliumhexacyanoferrat, $\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

4.6. Ethyl-4-hydroxybenzoat

4.7. Glyceryl-1-(4-aminobenzoat)

4.8. Ethyl-4-aminobenzoat (benzocain)

4.9. Bufferopløsning (0,02 M): Opløs 2,72 g kaliumdihydrogenorthosphat (4.2) i 1000 ml destilleret vand.

4.10. Mobil fase: fosfatbufferopløsning (4.9)/methanol (4.1) 61/39 (v/v)

Sammensætningen af den mobile fase skal ændres, indtil der opnås en opløsningsevne $R \geq 1,5$, idet

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

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.

4.11. Stamopløsning af glyceryl-1-(4-aminobenzoat): Afvej nøjagtigt ca. 40 mg glyceryl-1-(4-aminobenzoat) i en 100 ml målekolbe, opløs i 40 ml methanol (4.1) og fyld op til mærket med bufferopløsningen (4.9) og bland.

4.12. Stamopløsning af ethyl-4-aminobenzoat: Afvej nøjagtigt ca. 40 mg ethyl-4-aminobenzoat i en 100 ml målekolbe, opløs i 40 ml methanol (4.1) og fyld op til mærket med bufferopløsningen (4.9) og bland.

4.13. Intern standardopløsning: Afvej nøjagtigt ca. 50 mg ethyl-4-hydroxybenzoat (4.6) i en 100 ml målekolbe, opløs i 40 ml methanol (4.1), fyld op til mærket med bufferopløsningen (4.9) og bland.

4.14. Standardopløsninger: Fremstil i 100 ml målekolber ved fortynding med den mobile fase (4.10) 4 standardopløsninger i henhold til følgende tabel:

standard opløsning	glyceryl-1-(4-aminobenzoat)		ethyl-4-aminobenzoat		ethyl-4-hydroxybenzoat	
	ml (4.11)	$\mu\text{l}/\text{mg}$ (*)	ml (4.12)	$\mu\text{g}/\text{ml}$ (*)	ml (4.13)	$\mu\text{g}/\text{ml}$ (*)
I	2	8	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(*) De angivne værdier er indikative og forudsætter en eksakt masse på 40 mg i (4.11) og (4.12) og 50 mg i (4.13).

NB: Standardopløsninger kan eventuelt opnås på en anden måde.

- 4.15. Carrez I-opløsning : Opløs 26,5 g tetrakaliumhexacyanoferrat (4.5) i destilleret vand og fyld op til 250 ml med destilleret vand.
- 4.16. Carrez II-opløsning : Opløs 54,9 g zinkdiacetat (4.3) og 7,5 ml eddikesyre (4.4) i destilleret vand og fyld op til 250 ml med destilleret vand.
- 4.17. Lichrosorb RP-18 eller tilsvarende 5 μm

5. APPARATUR

- 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr
- 5.2. Højtryksvæskechromatograf med UV-detektor med variabel bølgelængde og forsynet med kolonnetermostat (45 °C)
- 5.3. Kolonne af rustfrit stål : længde 250 mm, indre diameter 4,6 mm, pakket med lichrosorb RP-18 (4.17)
- 5.4. Ultralydbad

6. FREMGANGSMÅDE

6.1. Prøveforberedelse

- 6.1.1. Afvej 1 g (p g) prøve i et 100 ml bægerglas og tilsæt 10 ml methanol.
- 6.1.2. Anbring bægerglasset i et ultralydbad (5.4) i 20 min. Overfør kvantitativt den fremkomne opslæmning til en 100 ml målekøbe med højst 75 ml mobil fase (4.10). Tilsæt derefter først 1 ml Carrez I-opløsning (4.15) og dernæst 1 ml Carrez II-opløsning (4.16), idet der blandes efter hver tilsætning. Fyld op til mærket med mobil fase (4.10), bland igen og filtrer gennem foldefilter.
- 6.1.3. Overfør med en pipette 3,0 ml af filtratet fremkommet ovenfor under 6.1.2. og 5,0 ml intern standardopløsning (4.13) til en 50 ml målekøbe. Fyld op til mærket med mobil fase (4.10) og bland. Denne opløsning anvendes til chromatografisk analyse som beskrevet under 6.2.

6.2. Chromatografering

- 6.2.1. Indstil flowet af den mobile fase (4.10) til 1,2 ml/min. Termostater kolonnen til 45 °C.
- 6.2.2. Indstil detektoren (5.2) på 274 nm.
- 6.2.3. Injicer mindst 2 gange 20 μl prøveopløsning (6.1.3) med en mikrosprøjte og mål toparealerne.

6.3. Kalibreringskurve

- 6.3.1. Injicer 20 μl af hver af standardopløsningerne (4.14) og mål toparealerne.
- 6.3.2. Beregn for hver koncentration forholdet mellem toparealerne for glyceryl-1-(4-aminobenzoat) og den interne standard. Afsæt i et koordinatsystem arealforholdene som ordinat og de tilsvarende masseforhold som abscisse. Beregn og indtegn kalibreringskurven.
- 6.3.3. Beregn på tilsvarende måde kalibreringskurven for ethyl-4-aminobenzoat.

7. BEREGNING

- 7.1. Fra kalibreringskurverne opnået under 6.3. aflæses masseforholdene (RP 1 og RP 2) svarende til forholdene mellem arealerne af toppene bestemt under 6.2.3., hvor

RP 1 = massen af glyceryl-1-(4-aminobenzoat)/massen af ethyl-4-hydroxybenzoat

RP 2 = massen af ethyl-4-aminobenzoat/massen af ethyl-4-hydroxybenzoat

- 7.2. Beregn ud fra de således fremkomne masseforhold indholdet af glyceryl-4-(4-aminobenzoat) og ethyl-4-aminobenzoat i masseprocent (% m/m) af prøven ved hjælp af formlerne :

$$\% \text{ (m/m) glyceryl-1-(4-aminobenzoat)} = \text{RP 1} \times \frac{q}{6 p}$$

$$\% \text{ (m/m) ethyl-4-aminobenzoat} = \text{RP 2} \times \frac{q}{6 p}$$

hvor q = mg ethyl-4-hydroxybenzoat (intern standard) afvejet under 4.13

p = g prøve afvejet under 6.1.1.

8. REPETERBARHED (1)

- 8.1. Ved et indhold af glyceryl-1-(4-aminobenzoat) på 5 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,25 %.

- 8.2. Ved et indhold af ethyl-4-aminobenzoat på ca. 1 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,10 %.

9. BEMÆRKNINGER

- 9.1. Før den egentlige analyse påbegyndes, bør det undersøges, om prøven indeholder stoffer, der interfererer med toppen for den interne standard (ethyl-4-aminobenzoat) i chromatogrammet.

- 9.2. Til undersøgelse for tilstedeværelse af interfererende urenheder i prøven gentages bestemmelsen, idet methanolandelen i den mobile fase ændres med ca. 10 %.

BESTEMMELSE AF CHLOROBUTANOL (1,1,1-TRICHLOR-2-METHYLPROPAN-2-OL)

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode kan anvendes til bestemmelse af chlorobutanol i koncentrationer op til højst 0,5 % (m/m) i alle kosmetiske midler (undtagen aerosoler).

2. DEFINITION

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

3. PRINCIP

Efter passende behandling af analyseprøven foretages bestemmelsen ved gaschromatografi med 2,2,2-trichlorethanol som intern standard.

4. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet

- 4.1. Chlorobutanol (1,1,1-trichlor-2-methylpropan-2-ol)

- 4.2. 2,2,2-trichlorethanol

- 4.3. Ethanol, absolut

- 4.4. Standardopløsning af chlorobutanol : 25 mg i 100 ml ethanol (4.3). (m/v)

- 4.5. Intern standardopløsning af 2,2,2-trichlorethanol : 4 mg i 100 ml ethanol (4.3) (m/v)

5. APPARATUR

- 5.1. Sædvanligt laboratorieudstyr

- 5.2. Gaschromatograf med elektronindfangningsdetektor, Ni 63

6. FREMGANGSMÅDE

6.1. Prøveforberedelse

Afvej nøjagtigt mellem 0,1 og 0,3 g (p gram) prøve i en 100 ml målekolbe. Opløs prøven i ethanol (4.3), tilsæt 1,0 ml intern standardopløsning (4.5) og fyld op til mærket med ethanol (4.3).

(1) Jf. ISO-standard 5725.

6.2. **Chromatografiske betingelser**6.2.1. De valgte chromatografiske betingelser skal give en opløsningsevne, $R \geq 1,5$, idet

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

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.

6.2.2. Som eksempler kan anføres følgende gaschromatografibetingelser, der har vist sig egnede:

Kolonne:	I	II
materiale:	glas	rustfrit stål
længde:	1,8 m	3 m
indre diameter:	3 mm	3 mm
stationær fase:	10 % Carbowax 20 M TPA, på Gaschrom Q 80 — 100 mesh	5 % OV 17, på Chromosorb WAW DMCS 80 — 100 mesh
konditionering:	2-3 dage ved 190 °C	
temperaturer:		
injektionsenhed:	200 °C	150 °C
kolonneovn:	150 °C	100 °C
detektor:	200 °C	150 °C
bæregas:	nitrogen	argon/methan (95/5 v/v)
flow:	35 ml/min.	32 ml/min.

6.3. **Kalibreringskurve**

Afpipetter 1,0 ml intern standardopløsning (4.5) og henholdsvis 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, og 0,6 ml chlorobutanopløsning (4.4) i fem 100 ml målekolber. Fyld op til mærket med ethanol (4.3) og bland.

Injicer 1 µl af hver af disse standardopløsninger i gaschromatografen under de i 6.2.2. beskrevne betingelser og optegn kalibreringskurven ved i et koordinatsystem af afsætte masseforholdet mellem chlorobutanol og 2,2,2-trichlorethanol som abscisse og det tilsvarende forhold mellem toparealerne som ordinat.

6.4. Injicer 1 µl af prøveopløsningen (6.1.), og gå frem som under 6.2.2.

7. **BEREGNING**7.1. Aflæs på kalibreringskurven (6.3.) chlorobutanolmængden, a , udtrykt i µg chlorobutanol i prøveopløsningen (6.1.).

7.2. Indholdet af chlorobutanol (% m/m) i prøven beregnes af følgende formel:

$$\% \text{ chlorobutanol (m/m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^6} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. **REPETERBARHED (1)**

Ved et indhold af chlorobutanol på 0,5 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne på to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,01 %.

Bemærkning

Hvis resultatet er lig med eller større end den højeste tilladte koncentration, bør det kontrolleres, at der ikke er interfererende stoffer til stede.

(1) Jf. ISO-standard 5725.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF QUININ (KININ)

A. IDENTIFIKATION

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode skal påvise quinin i shampoo og hårlotioner.

2. PRINCIP

Identifikationen udføres ved tyndtlagschromatografi på kiselgel, og quinin påvises ved dets kraftige blå fluorescens under sure betingelser i UV-lys ved 360 nm.

Til yderligere bekræftelse kan den blå fluorescens fjernes med bromdampe, og en gullig fluorescens kan fremkaldes med ammoniakdampe.

3. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

3.1. Kiselgelplader uden fluorescensindikator 0,25 mm lagtykkelse, 200 mm × 200 mm

3.2. Elueringsvæske : toluen/diethylether/dichlormethan/diethylamin 20/20/20/8 (v/v/v/v)

3.3. Methanol

3.4. Svovlsyre 96 %, $d_4^{20} = 1,84$

3.5. Diethylether

3.6. Fremkaldervæske : Tilsæt forsigtigt 5 ml svovlsyre (3.4) til 95 ml diethylether (3.5) i en afkølet beholder.

3.7. Brom

3.8. Ammoniumhydroxidopløsning 28 % ; $d_4^{20} = 0,90$

3.9. Quinin, vandfri

3.10. Standardopløsning : Ca. 100 mg vandfrit quinin (3.9) afvejes nøjagtigt i en 100 ml målekolbe og opløses i methanol (3.3).

4. APPARATUR

4.1. Sædvanligt udstyr til TLC

4.2. Ultralydbad

4.3. Milliporefilter FH 0,5 μm eller tilsvarende med passende filtreringsudstyr

5. FREMGANGSMÅDE

5.1. Prøveforberedelse

I en 100 ml målekolbe afvejes nøjagtigt en mængde prøve, der forventes at indeholde ca. 100 mg quinin, opløs og fyld op til mærket med methanol (3.3). Målekolben lukkes og anbringes en time i ultralydbad (4.2) ved stuetemperatur. Der filtreres gennem et filter (4.3), og filtratet anvendes til chromatografering.

5.2. Tyndtlagschromatografi

På kiselgelpladen (3.1) påsættes 1,0 μl af standardopløsningen (3.10) og 1,0 μl af prøveopløsningen (5.1). Chromatogrammet elueres til 150 mm med elueringsvæsken (3.2) i et kar, der forinden er mættet med elueringsvæsken (3.2).

5.3. Påvisning

5.3.1. Pladen tørres ved stuetemperatur.

5.3.2. Fremkaldervæsken (3.6) påsprøjtes.

5.3.3. Lad pladen tørre en time ved stuetemperatur.

5.3.4. Pladen undersøges under en UV-lampe ved $\lambda = 360$ nm. Quinin fremkommer som en stærkt fluorescerende blå plet.

Som eksempel angives i nedenstående tabel R_f -værdierne for de vigtigste kinabarkalkaloider, når disse elueres med elueringsvæsken (3.2):

Alkaloid	R_f
Quinin	0,20
Quinidin	0,29
Cinchonin	0,33
Cinchonidin	0,27
Hydroquinidin	0,17

- 5.3.5. Til yderligere bekræftelse på, om quinin er til stede, udsættes pladen i ca. 1 time for bromdampe (3.7), hvorved fluorescensen forsvinder. Udsættes den samme plade derefter for ammoniakdampe (3.8) skal pletten fremkomme igen med en gullig fluorescens, når pladen undersøges under en UV-lampe ved $\lambda = 360$ nm.

Påvisningsgrænse : 0,1 μ g quinin.

B. BESTEMMELSE

1. FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE

Denne metode beskriver bestemmelsen af quinin i shampoo og hårlotion. Den kan anvendes til bestemmelse af højst 0,5 % (m/m) i shampoo og 0,2 % (m/m) i hårlotion.

2. DEFINITION

Indholdet af quinin bestemt ved denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m) af produktet.

3. PRINCIP

Efter en egnet forbehandling af produktet, hvis quinindhold skal bestemmes, foretages analysen ved højtryksvæskechromatografi HPLC.

4. REAGENSER

Alle reagenser skal være af analysekvalitet og egnet til HPLC.

4.1. Acetonitril

4.2. Kaliumdihydrogenorthosphat, KH_2PO_4

4.3. Orthophosphorsyre 85 % ; $d_4^{20} = 1,70$

4.4. Tetramethylammoniumbromid

4.5. Quinin, vandfri

4.6. Methanol

4.7. Orthophosphorsyreopløsning, 0,1 M : Afvej 11,53 g orthophosphorsyre (4.3) i en 1000 ml målekolbe og fyld op til mærket med vand.

4.8. Kaliumdihydrogenorthosphatopløsning, 0,1 M : Afvej 13,6 g kaliumdihydrogenorthosphat (4.2) i en 1000 ml målekolbe, opløs og fyld op til mærket med vand.

4.9. Tetramethylammoniumbromidopløsning, 0,1 M : Afvej 15,40 g tetramethylammoniumbromid (4.4) i en 1000 ml målekolbe, opløs og fyld op til mærket med vand.

4.10. Mobil fase : orthophosphorsyreopløsning (4.7)/kaliumdihydrogenorthosphatopløsning (4.8)/tetramethylammoniumbromidopløsning (4.9)/vand/acetonitril (4.1) 10/50/100/340/90 (v/v/v/v/v).

Sammensætningen af den mobile fase skal ændres, indtil der opnås en opløsningsevne $R \geq 1,5$, idet

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

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.

4.11. Octadecylsilanbehandlet kiselgel, kornstørrelse 10 μ m

4.12. Standardopløsninger : I en række 100 ml målekolber afvejes nøjagtigt henholdsvis 5,0, 10,0, 15,0 og 20,0 mg quinin (4.5). Der fyldes op til mærket med methanol (4.6) og rystes til opløsning. Hver standardopløsning filtreres gennem et 0,5 μ m filter (5.5).

5. APPARATUR

5.1. Sædvanligt laboratoriestyr

5.2. Ultralydbad

5.3. Højtryksvæskechromatograf med detektor med variabel bølgelængde

5.4. Kolonne af rustfrit stål : længde 250 mm, indre diameter 4,6 mm, pakket med octadecylsilanbehandlet kiselgel (4.11)

5.5. Milliporefilter FH 0,5 μ m eller tilsvarende med passende filtreringsudstyr

6. FREMGANGSMÅDE**6.1. Prøveforberedelse**

Afvej nøjagtigt i en 100 ml målekolbe en så stor mængde af prøven, at den indeholder ca. 10 mg vandfri quinin. Tilsæt ca. 20 ml methanol (4.6) og anbring kolben på ultralydbad (5.2) i 20 min. Fyld op til mærket med methanol. Bland og filtrer gennem 0,5 µm filter (5.5).

6.2. Chromatografiske betingelser

Flow af den mobile fase (4.10): 1,0 ml/min.

Detektor: 332 nm

Injektionsvolumen: 10 µl af filtratet (6.1)

Bestemmelse: måling af toparealer

6.3. Kalibreringskurve

Injicer mindst tre gange 10 µl af hver standardopløsning (4.12), mål toparealerne, og beregn middelværdien for hver koncentration. Optegn kalibreringskurven som en ret linje.

7. BEREGNING

7.1. Bestem ud fra kalibreringskurven mængden i µg af vandfri quinin, der er i det injicerede prøvevolumen (6.1).

7.2. Koncentrationen af vandfri quinin i prøven udtrykt som masseprocent fås af følgende formel:

$$\% \text{ (m/m) vandfri quinin} = \frac{B}{A}$$

hvor:

B = mængde vandfri quinin i µg i 10 µl af filtratet (6.1)

A = massen af prøven (6.1) i g

8. REPETERBARHED (1)

Ved et indhold af vandfri quinin på 0,5 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,02 %.

Ved et indhold af vandfri quinin på 0,2 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,01 %.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF UORGANISKE SULFITTER OG HYDROGENSULFITTER**FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver identifikationen og bestemmelsen af uorganiske sulfitter og hydrogensulfitter i kosmetiske produkter. Metoden er kun anvendelig for vandige eller alkoholiske produkter og indtil en koncentration på 0,2 % udtrykt som frit svovldioxid.

A. IDENTIFIKATION**1. PRINCIP**

Prøven opvarmes i saltsyre, hvorved svovldioxid frigøres og identificeres enten ved sin lugt eller ved sin virkning på indikatorpapir.

2. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

2.1. Saltsyre 4 M

2.2. Kaliumjodat/stivelsespapir eller tilsvarende indikatorpapir

3. APPARATUR

3.1. Sædvanligt laboratorieudstyr

3.2. Kolbe (25 ml) med kort svaler

4. FREMGANGSMÅDE

4.1. Anbring ca. 2,5 g prøve i kolben (3.2) sammen med 10 ml saltsyre (2.1).

4.2. Bland og opvarm til kogning.

4.3. Frigørelse af svovldioxid prøves enten ved lugt eller med indikatorpapir (2.2).

(1) Jf. ISO-standard 5725.

B. BESTEMMELSE

1. DEFINITION

Indholdet i prøven af sulfit eller hydrogensulfit bestemt ved denne metode udtrykkes i masseprocent svovldioxid.

2. PRINCIP

Prøven gøres sur og det frigjorte svovldioxid destilleres over i en opløsning af hydrogenperoxid. Den dannede svovlsyre titreres med en standardopløsning af natriumhydroxid.

3. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

3.1. Hydrogenperoxid 0,2 % (m/v). Fremstilles frisk hver dag.

3.2. Orthophosphorsyre ($d_4^{25} = 1,75$)

3.3. Methanol

3.4. Standardopløsning af natriumhydroxid, 0,01 M

3.5. Kvælstof

3.6. Indikator: Blanding 1 : 1 (v/v) af methylrødt (0,03 % m/v i ethanol) og methylenblåt (0,05 % m/v i ethanol). Filtrer opløsningen.

4. APPARATUR

4.1. Sædvanligt laboratorieudstyr

4.2. Destillationsudstyr (se fig.)

5. FREMGANGSMÅDE

5.1. Afvej nøjagtigt ca. 2,5 g prøve i destillationskolben A (se fig.).

5.2. Tilsæt 60 ml vand og 50 ml methanol (3.3) og bland.

5.3. Anbring 10 ml hydrogenperoxid (3.1), 60 ml vand og nogle dråber indikator (3.6) i destillationsforlaget D (se fig.). Tilsæt nogle dråber natriumhydroxid (3.4), indtil indikatoren viser grøn.

5.4. Proceduren i 5.3 gentages for kontrolvaskeflasken E (se fig.).

5.5. Apparatet samles og kvælstofgennemstrømningen indstilles til ca. 60 bobler pr. minut.

5.6. Tilsæt 15 ml orthophosphorsyre (3.2) gennem tildrypningstragten til destillationskolben A.

5.7. Opvarm hurtigt til kogning, og hold blandingen netop kogende i ialt 30 min.

5.8. Forlaget D (se fig.) fjernes, røret skylles og derefter titreres destillatet med natriumhydroxid (3.4), indtil indikatoren (3.6) slår om til grøn.

6. BEREGNING

Prøvens indhold af sulfit eller hydrogensulfit i masseprocent beregnes efter formlen

$$\% \text{ (m/m) svovldioxid} = \frac{3,2 \times M \times V}{m}$$

hvor

M = molariteten af natriumhydroxidopløsningen (3.4)

V = ml natriumhydroxid (3.4) forbrugt til titreringen (5.8)

m = massen af prøven (5.1) i gr.

7. REPETERBARHED⁽¹⁾

Ved et indhold på 0,2 % (m/m) svovldioxid må forskellen mellem to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,006 %.

⁽¹⁾ Jf. ISO-standard 5725

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF CHLORATER AF ALKALIMETALLER**FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Metoden beskriver identifikation og bestemmelse af chlorater af alkalimetaller i tandpasta og andre kosmetiske midler.

A. IDENTIFIKATION**1. PRINCIP**

Chlorater adskilles fra øvrige halogenater ved tyndtlagschromatografi og identificeres ved oxidation af iodid til fri iod.

2. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

- 2.1. Referenceopløsninger : Frisk fremstillede vandige opløsninger af kaliumchlorat, -bromat og -iodat (0,2 % m/v).
- 2.2. Elueringsvæske : Ammoniumhydroxidopløsning (28 % m/v)/acetone/butanol (60/130/30) (v/v/v).
- 2.3. Kaliumjodid, vandig (5 % m/v)
- 2.4. Stivelsesopløsning (1-5 % m/v)
- 2.5. Saltsyre, 1 M
- 2.6. Færdigfremstillede TLC-celluloseplader (lagtykkelse 0,25 mm)

3. APPARATUR

- 3.1. Sædvanligt laboratorieudstyr til tyndtlagschromatografi (TLC).

4. FREMGANGSMÅDE

- 4.1. Ekstraher ca. 1 g prøve med vand, filtrer og fortynd til ca. 25 ml.
- 4.2. Påsæt 2 µl af opløsningen (4.1) på TLC-pladen (2.6) og 2 µl af hver af referenceopløsningerne (2.1).
- 4.3. Anbring pladen i et kar og eluer til ca. 150 mm med elueringsvæsken (2.2).
- 4.4. Tag pladen op, og lad opløsningsmidler fordampe (ca. 2 timer).
- 4.5. Spray pladen med kaliumiodid (2.3), og lad den tørre i ca. 5 min.
- 4.6. Spray pladen med stivelsesopløsningen (2.4), og lad den tørre i ca. 5 min.
- 4.7. Spray pladen med saltsyre (2.5).

5. AFLÆSNING

Hvis chlorat er til stede, vil der fremkomme en blå (eventuelt brun) plet efter en halv time.

R_f-værdierne er :

- 0 — 0,2 for iodat
- 0,5 — 0,6 for bromat
- 0,7 — 0,8 for chlorat

Det skal bemærkes, at bromater og iodater give øjeblikkelige reaktioner, og der skal passes på ikke at forveksle bromater og chlorater.

B. BESTEMMELSE

1. DEFINITION

Chloratindholdet bestemt ved denne metode udtrykkes i masseprocent Chlorat.

2. PRINCIP

fremkomne Chlorat reduceres med zinkpulver under sure betingelser. Det fremkomne chlorid måles ved potentiometrisk titrering med en sølvnitratopløsning. En tilsvarende bestemmelse før reduktion kan tage højde for mulig tilstedeværende af halogenider.

3. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

3.1. Eddikesyre, 80 % m/m

3.2. Zinkpulver

3.3. Standardopløsning af sølvnitrat, 0,1 M

4. APPARATUR

4.1. Sædvanligt laboratorieudstyr

4.2. Potentiograf med en sølvindikatorelektrode

5. FREMGANGSMÅDE

5.1. Prøveforberedelse

Afvej i et centrifugeglas en prøvemængde på ca. 2 g (m g). Tilsæt ca. 15 ml eddikesyre (3.1) og bland omhyggeligt. Vent 30 min og centrifuger i 15 min ved 2000 rpm. Overfør supernatanten til en 50 ml målekolbe. Gentag centrifugeringen to gange med tilsætning af 15 ml eddikesyre (3.1) til remanensen. De chloratholdige opløsninger overføres til samme målekolbe. Fyld op til mærket med eddikesyre (3.1).

5.2. Reduktion af chlorat

20 ml af opløsning (5.1) tilsættes 0,6 g zinkpulver (3.2), og opløsningen opvarmes til kogning i en kolbe forsynet med en svaler. Efter 30 minutters kogning afkøles, og det overskydende zink frafiltreres.

Kolben og filteret skylles med vand. Filtrat og skyllevand samles.

5.3. Bestemmelse af chlorid

Titrer 20 ml opløsning (5.2) med sølvnitrat (3.3) potentiometrisk. Titrer på samme måde 20 ml af opløsning (5.1) med sølvnitrat (3.3) Hvis produktet indeholder brom- eller iodforbindelser, som vil kunne frigøre bromider eller iodider under reduktionen, vil titreringskurven have flere vendepunkter. I dette tilfælde er den mængde, der svarer til chlorid, forskellen mellem sidste og næstsidste vendepunkt.

6. BEREGNING

Chlorat-indholdet i prøven (% m/m) beregnes af følgende formel:

$$\% \text{ chlorat (ClO}_3\text{—)} \text{ (m/m)} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

hvor:

V = ml sølvnitrat (3.3) til titrering af 20 ml opløsning (5.2)

V' = ml sølvnitrat (3.3) til titrering af 20 ml opløsning (5.1)

M = molariteten af sølvnitratopløsningen (3.3)

m = massen af prøven i g (5.1)

7. REPETERBARHED (1)

Ved et chloratindhold på 3 til 5 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,07 % (m/m).

(1) Jf. ISO-standard 5725.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF NATRIUMIODAT**FORMÅL OG ANVENDELSESOMRÅDE**

Denne metode beskriver identifikation og bestemmelse af natriumiodat i kosmetiske midler, som skylles af.

A. IDENTIFIKATION**1. PRINCIP**

Natriumiodat adskilles fra andre halogenater ved tyndtlagschromatografi (TLC) og identificeres ved oxidation af iodid til iod.

2. REAGENSER

Der anvendes analysekvalitet.

- 2.1. Referenceopløsninger: Frisk fremstillede vandige opløsninger af kaliumchlorat, -bromat og -iodat (0,01 % m/v).
- 2.2. Elueringsvæske: Ammoniumhydroxidopløsning (28 % m/v) /acetone/butanol 60/130/30 v/v/v.
- 2.3. Vandig opløsning af kaliumiodid (5 % m/v).
- 2.4. Stivelsesopløsning (1-5 % m/v)
- 2.5. Saltsyre, 1 M

3. APPARATUR

- 3.1. Færdigfremstillede TLC-celluloseplader (0,25 mm)
- 3.2. Sædvanligt udstyr til TLC

4. FREMGANGSMÅDE

- 4.1. Ekstraher ca. 1 g prøve med vand, filtrer og fortynd til ca. 10 ml.
- 4.2. Påsæt 2 µl af opløsningen (4.1) på TLC-pladen (3.1) og 2 µl af hver af de tre referenceopløsninger (2.1).
- 4.3. Anbring pladen i et kar og eluer til ca. 150 mm med elueringsvæsken (2.2).
- 4.4. Tag pladen op, og lad opløsningsmidlet fordampe ved stuetemperatur (NB! dette kan tage op til 2 timer).
- 4.5. Spray pladen med kaliumiodid (2.3), og lad den tørre i ca. 5 min.
- 4.6. Spray pladen med stivelsesopløsningen (2.4), og lad den tørre i ca. 5 min.
- 4.7. Spray pladen med saltsyre (2.5).

5. EVALUERING

Hvis iodat er til stede, vil der øjeblikkelig fremkomme en blå plet (farven kan være brun eller blive brun ved henstand) med en R_f -værdi på 0 — 0,2.

Det skal bemærkes, at bromater giver øjeblikkelig reaktion med en R_f -værdi på 0,5 — 0,6 og chlorater giver reaktion efter ca. 30 min. med en R_f -værdi på 0,7 — 0,8.

B. BESTEMMELSE**1. DEFINITION**

Natriumiodatindholdet bestemt ved denne metode udtrykkes i masseprocent natriumiodat.

2. PRINCIP

Natriumiodat opløses i vand og bestemmes ved højtryksvæskechromatografi (HPLC) ved anvendelse — i serie — af en med C18-kolonne omvendt fase og en anionbytterkolonne.

3. REAGENSER

Alle reagenser skal være af analysekvalitet og velegnede til HPLC.

3.1. Saltsyre, 4 M

3.2. Vandig natriumsulfitopløsning, 5 % m/v.

3.3. Stamopløsning af natriumiodat : Fremstil en stamopløsning indeholdende 50 mg natriumiodat pr. 100 ml vand.

3.4. Kaliumdihydrogenorthosphat

3.5. Dinatriumhydrogenorthosphat, 2 H₂O

3.6. Mobil fase : Opløs 3,88 g kaliumdihydrogenorthosphat (3.4) og 1,19 g dinatriumhydrogenorthosphat, 2 H₂O (3.5) i 1 liter vand. pH i denne opløsning er 6.2.

3.7. Universalindikatorpapir, pH 1 — 11

4. APPARATUR

Sædvanligt laboratorieudstyr

4.1. Rundt filtrerpapir, diameter 110 mm, Schleicher og Schüll nr. 575 eller tilsvarende.

4.2. Højtruksvæskechromatograf med UV-detektor med variabel bølgelængde

4.3. Kolonner :

Længde : 120 mm

Indre diameter : 4,6 mm

Antal : to forbundet i serie

Kolonnefyld : 1. kolonne, Nucleosil R5C18 eller tilsvarende

2. kolonne, Vydac TM — 301 — SB eller tilsvarende

5. FREMGANGSMÅDE

5.1. Prøveforberedelse

5.1.1. Flydende prøver (shampoo)

Afvej nøjagtigt en prøvemængde på ca. 1,0 g i et måleglas med slibprop eller i en 10 ml målekolbe. Fyld op nøjagtigt mærket med vand, og bland. Filtrer om nødvendigt opløsningen.

Iodatmængden i opløsningen bestemmes ved HPLC som beskrevet i 5.2.

5.1.2. Faste prøver (sæbe):

En del af prøven findeles. Afvej nøjagtigt ca. 1,0 g heraf i et 100 ml måleglas med slibprop. Fyld op til 50 ml med vand, og omryst kraftigt i 1 min. Centrifuger, filtrer gennem et papirfilter, eller lad blandingen henstå mindst natten over. Ryst den geléagtige opløsning kraftigt, og filtrer gennem et filtrerpapir (4.1).

Iodatmængden i filtratet bestemmes ved hjælp af HPLC, som beskrevet i afsnit 5.2.

5.2. Chromatografi

Flow : 1 ml/min

Detektor : 210 nm

Injektionsvolumen : 10, µl

Måling : topareal

5.3. Kalibrering.

Afpipetter henholdsvis 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 og 20,0 ml natriumiodatstamopløsning (3.3) i 50 ml målekolber. Fyld op til mærket med vand og bland. Disse opløsninger indeholder henholdsvis 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 og 0,20 mg natriumiodat pr. ml.

Injicer 10 µl af hver standardiodatopløsning i HPLC-apparatet (4.2). Bestem toparealet for iodat, og optegn en kalibreringskurve over sammenhængen mellem topareal og iodatkonzentration.

6. BEREGNING

Iodatindholdet i masseprocent beregnes ved formlen

$$\% \text{ natriumiodat (m/m)} = \frac{V \times C}{10 m}$$

hvor

m = massen i gram af prøven (5.1)

V = volumenet af prøveopløsningen, der er fremkommet som beskrevet under 5.1, udtrykt i ml

C = koncentrationen i mg natriumiodat pr. ml aflæst på kalibreringskurven

7. REPETERBARHED (1)

Ved et natriumiodatindhold på 0,1 % (m/m) må forskellen mellem resultaterne af to parallelt udførte bestemmelser på samme prøve ikke overskride 0,002 %.

8. BEKRÆFTELSE**8.1. Princip**

I en sur opløsning af et kosmetisk middel reduceres iodat (IO_3^-) til iodid (I^-) med sulfit, og denne opløsning undersøges ved HPLC. Hvis en top med en retentionstid svarende til retentionstiden for iodat forsvinder efter behandling med sulfit, skyldes den oprindelige top højst sandsynligt iodat.

8.2. Fremgangsmåde.

Overfør med pipette 5 ml af den prøveopløsning, der er fremkommet som beskrevet i 5.1, til en konisk kolbe. Indstil opløsningens pH med saltsyre (3.1) til pH = 3 eller derunder ved hjælp af universalindikatorpapir (3.7). Tilsæt 3 dråber natriumsulfitopløsning (3.2) og bland. Injicer 10 µl af denne prøveopløsning i HPLC-apparatet (4.2). Sammenlign chromatogrammet med det chromatogram, som er fremkommet under punkt 5 med samme prøve.

(1) Jf. ISO-standard 5725.