

# COMMISSIE

## DERDE RICHTLIJN VAN DE COMMISSIE

van 27 september 1983

**betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Statens inzake analysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetische produkten te controleren**

(83/514/EEG)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE  
GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Economische Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 76/768/EEG van de Raad van 27 juli 1976 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Statens inzake cosmetische produkten <sup>(1)</sup>, laatstelijk gewijzigd bij Richtlijn 83/341/EEG <sup>(2)</sup>, en in het bijzonder op artikel 8, lid 1,

Overwegende dat Richtlijn 76/768/EEG in officiële controles op cosmetische produkten voorziet, ten einde vast te stellen of de in de communautaire bepalingen betreffende de samenstelling van de cosmetische produkten vervatte voorwaarden in acht worden genomen;

Overwegende dat zo spoedig mogelijk alle noodzakelijke analysemethoden dienen te worden vastgesteld en dat nu daartoe twee fasen met de vaststelling van bepaalde methoden in Richtlijn 80/1335/EEG <sup>(3)</sup> en in Richtlijn 82/434/EEG van de Commissie <sup>(4)</sup> zijn afgesloten, een derde fase zich in dat verband opdringt, bestaande uit de vaststelling van methoden voor onderscheidenlijk de kwantitatieve bepaling van dichloormethaan en van 1,1,1-trichloorethaan, de identificatie en de kwantitatieve bepaling van 8-hydroxychinoleïne en het sulfaat ervan, de kwantitatieve bepaling van ammoniak, de identificatie en de kwantitatieve bepaling van nitromethaan, de identificatie en de kwantitatieve bepaling van thioglycolzuur in permanentlotions, ontkrullingsmiddelen en in ontharingsmiddelen, de identificatie en de kwantitatieve bepaling van hexachlorofoen, de kwantitatieve bepaling van

tosylchloramidenatrium, de kwantitatieve bepaling van fluorverbindingen in tandpasta's, de identificatie en de kwantitatieve bepaling van organische kwikverbindingen en de kwalitatieve bepaling van alkali- en aardalkalisulfiden;

Overwegende dat de in deze richtlijn vervatte maatregelen in overeenstemming zijn met het advies van het Comité voor de aanpassing van Richtlijn 76/768/EEG aan de technische vooruitgang,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN  
VASTGESTELD:

### *Artikel 1*

De Lid-Statens nemen de nodige maatregelen om bij officiële controles van cosmetische produkten

- de kwantitatieve bepaling van dichloormethaan en 1,1,1-trichloorethaan,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van 8-hydroxychinoleïne en het sulfaat ervan,
- de kwantitatieve bepaling van ammoniak,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van nitromethaan,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van thioglycolzuur in permanentlotions, ontkrullingsmiddelen en ontharingsmiddelen,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van hexachlorofoen,
- de kwantitatieve bepaling van tosylchloramidenatrium,
- de kwantitatieve bepaling van fluorverbindingen in tandpasta,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van organische kwikverbindingen,

<sup>(1)</sup> PB nr. L 262 van 27.9.1976, blz. 169.

<sup>(2)</sup> PB nr. L 188 van 13.7.1983, blz. 15.

<sup>(3)</sup> PB nr. L 383 van 31.12.1980, blz. 27.

<sup>(4)</sup> PB nr. L 185 van 30.6.1982, blz. 1.

— de kwantitatieve bepaling van alkali- en aardalkalisulfiden,  
volgens de in de bijlage beschreven methoden te laten geschieden.

*Artikel 2*

De Lid-Staten doen de nodige wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 31 december 1984 aan deze richtlijn te voldoen. Zij geven daarvan onverwijld kennis aan de Commissie.

*Artikel 3*

Deze richtlijn is gericht tot de Lid-Staten.

Gedaan te Brussel, 27 september 1983.

*Voor de Commissie*  
Frans ANDRIESEN  
*Lid van de Commissie*

**BIJLAGE****BEPALING VAN DICHLOORMETHAAN EN 1,1,1-TRICHLOORETHAAN****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

Deze methode beschrijft de gaschromatografische bepaling van dichloormethaan (methyleenchloride) en 1,1,1-trichloorethaan in cosmetische produkten.

**2. DEFINITIE**

Het volgens dit voorschrift bepaalde dichloormethaan- en/of 1,1,1-trichloorethaangehalte wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) van de waar.

**3. PRINCIPE**

De bepaling geschiedt gaschromatografisch met gebruik van chloroform als interne standaard.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ).

4.2. Tetrachloorkoolstof ( $\text{CCl}_4$ ).

4.3. Dichloormethaan ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

4.4. 1,1,1-Trichloorethaan ( $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ).

4.5. Aceton.

4.6. Stikstof.

**5. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN**

5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparaten.

5.2. Gaschromatograaf met een katharometerdetector.

5.3. Bemonsteringsfles 50-100 ml (zie Bemonsteringsdocument, hoofdstuk 5.3) (1).

5.4. Injectiespuit voor gassen 25  $\mu\text{l}$  of 50  $\mu\text{l}$  (zie Bemonsteringsdocument, hoofdstuk 5.4.2.2) (1).

**6. WERKWIJZE**

6.1. Monsters, geen aerosolen

Weeg nauwkeurig een hoeveelheid van het monster af in een erlenmeyer met geslepen stop. Voeg als interne standaard toe een nauwkeurig gewogen hoeveelheid chloroform (4.1), die ongeveer gelijk moet zijn aan de vermoedelijke hoeveelheid dichloormethaan of 1,1,1-trichloorethaan in het monster. Meng.

(1) PB nr. L 383 van 31. 12. 1980, blz. 27.

- 6.2. **Aërosolmonsters**
- Volg de werkwijze zoals omschreven in het Bemonsteringsdocument met de volgende aanvullingen:
- 6.2.1. Weeg nauwkeurig een hoeveelheid van het monster in het bemonsteringsflesje (5.3) af. Voeg een hoeveelheid — ongeveer gelijk aan de vermoedelijke hoeveelheid dichloormethaan en/of 1,1,1-trichloorethaan — chloroform (4.1) toe als interne standaard. Meng. Spoel de dode ruimte van het aërosolventiel van de bemonsteringsfles af met circa 0,5 ml tetrachloorkoolstof (4.2) en laat deze spoelvloeistof vervolgens verdampen. Bepaal nauwkeurig door verschilweging de massa van de interne standaard.
- 6.2.2. Na het inbrengen van het monster in de injectiespuit moet, alvorens in te spuiten, de dode ruimte van het teflonuiteinde van de spuit met stikstof worden schoongespoeld.
- 6.2.3. Reinig na iedere monsternamen met behulp van een injectiespuit de uiteinden van het ventiel of van de koppelstukken meerdere malen met aceton en droog ze vervolgens grondig met stikstof (4.6).
- 6.2.4. Voor elke analyse moeten metingen worden verricht op twee verschillende bemonsteringsflessen en wel vijf metingen per bemonsteringsfles.

## 7. GASCHROMATOGRAFISCHE CONDITIES

### 7.1. *Voorkolom*

materiaal: roestvrij staal,  
 diameter: 4 mm of 6 mm,  
 lengte: 30 cm,  
 vulling: Chromosorb (4.4).

### 7.2. *Kolom*

Vulling: stearamide (4.3) b.v. Hallcomid M 18 op Chromosorb (4.4). De resolutiegraad R moet ten minste 1,5 bedragen.

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

waarin:

$r_1$  en  $r_2$  de retentietijden in minuten,  
 $W_1$  en  $W_2$  de piekbreedten op halve hoogten,  
 $d'$  de papiersnelheid in mm/minuut.

- 7.3. De volgende kolommen I en II geven bij voorbeeld de verlangde resultaten:

<i>Kolom</i>	<i>I</i>	<i>II</i>
Materiaal:	roestvrij staal	roestvrij staal
Lengte:	3,50 m	4 m
Diameter:	3 mm	6 mm
Vulling:		
chromosorb	WAW	WAW DMCS-HP
korrelgrootte	100-120 mesh	60-80 mesh
Stearamide:	Hallcomid M 18	Hallcomid M 18
	10 %	20 %
Temperaturen:		
Kolom:	65 °C	75 °C
Injector:	150 °C	125 °C
Detector:	150 °C	200 °C
Debiet van het heliumgas:	45 ml/min	60 ml/min
met een begindruk van:	2,5 bar	2,0 bar
Injectie	15 µl	15 µl

## 8. MENGSEL VOOR DE BEPALING VAN DE RESPONSIEFACTOREN

Bereid het volgende mengsel door nauwkeurige weging in een erlenmeyer met geslepen stop:

Dichloormethaan 30 % m/m,

1,1,1-Trichloorethaan 35 % m/m,

Chloroform 35 % m/m.

## 9. BEREKENING

9.1. *Bepaling van de responsiefactor van stof p met betrekking tot de interne standaard a*

$$k_p = \frac{m_p \cdot S_a}{m_a \cdot S_p}$$

waarin voor de stof p gelden:

$k_p$  responsiefactor,

$m_p$  de massa in het mengsel (8),

$S_p$  piekoppervlak,

en voor de interne standaard a:

$k_a$  de responsiefactor (per definitie = 1),

$m_a$  de massa in het mengsel (8),

$S_a$  piekoppervlak.

Bereken vervolgens het gemiddelde  $\bar{m}$ :

$$\bar{m} = X \pm mt$$

Als voorbeelden zijn de volgende responsiefactoren verkregen:

Dichloormethaan:  $k = 0,78 \pm 0,03$

1,1,1-Trichloorethaan:  $k = 1 \pm 0,03$

(voor chloroform  $k = 1$ )

9.2. *Berekening van het gehalte*

$$\% \text{ (m/m) Dichloormethaan} = \frac{m(\text{CHCl}_3) \cdot S(\text{CH}_2\text{Cl}_2) \cdot k(\text{CH}_2\text{Cl}_2) \cdot 100}{S(\text{CHCl}_3) \cdot m(\text{monster})}$$

$$\% \text{ (m/m) 1,1,1-Trichloorethaan} = \frac{m(\text{CHCl}_3) \cdot S(\text{CH}_3\text{CCl}_3) \cdot k(\text{CH}_3\text{CCl}_3) \cdot 100}{S(\text{CHCl}_3) \cdot m(\text{monster})}$$

Bereken (evenals onder 9.1) het gemeten interval van het gemiddelde.

## 10. HERHAALBAARHEID (1)

Voor monsters met een dichloormethaan en/of 1,1,1-trichloorethaangehalte van 25 % mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 2,5 % bedragen.

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

**IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN 8-HYDROXYCHINOLEÏNE EN ZIJN SULFAAT****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van 8-hydroxychinoleïne en zijn sulfaat.

**2. DEFINITIE**

Het volgens dit voorschrift bepaalde gehalte wordt uitgedrukt in massa procenten (m/m) 8-hydroxychinoleïne.

**3. PRINCIPE****3.1. *Identificatie***

De identificatie wordt middels dunnelaagchromatografie uitgevoerd.

**3.2. *Bepaling***

De bepaling wordt uitgevoerd door kleurmeting bij 410 nm van het verkregen complex met Fehling reagens.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

**4.1. 8-Hydroxychinoleïne.****4.2. Benzeen (Gezien het giftig karakter van het produkt de gepaste voorzorgen nemen).****4.3. Chloroform.****4.4. Natriumhydroxideoplossing, 50 % (m/m).****4.5. Kopersulfaat (CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O).****4.6. Kalium natrium tartraat.****4.7. Zoutzuur, 1 N.****4.8. Zwavelzuur, 1 N.****4.9. Natriumhydroxide, 1 N.****4.10. Ethanol.****4.11. 1-Butanol.****4.12. IJsazijn.**

- 4.13. Zoutzuur, 0,1 N.
- 4.14. Celite 545 of equivalent produkt.
- 4.15. **Standaardoplossingen**
- 4.15.1 Breng 100,0 mg 8-hydroxychinoleïne (4.1) over in een maatkolf van 100 ml en los het op in een kleine hoeveelheid zwavelzuur (4.8). Vul aan met zwavelzuur (4.8) tot 100 ml en meng.
- 4.15.2 Breng 100,0 mg 8-hydroxychinoleïne (4.1) over in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul tot 100 ml aan met ethanol (4.10). Meng.
- 4.16. **Fehling reagens**
- Oplossing A:*  
Weeg 7,0 g kopersulfaat (4.5) af en breng dit over in een maatkolf van 100 ml. Los het op in wat water en vul vervolgens aan tot 100 ml. Meng.
- Oplossing B:*  
Weeg 35,0 g kalium natrium tartraat (4.6) af en breng dit over in een maatkolf van 100 ml. Los dit op in ca. 50 ml water. Voeg 20 ml natriumhydroxideoplossing (4.4) toe en vul aan met water tot 100 ml. Meng.
- Bereiding:*  
Vlak voor het gebruik wordt de reagens als volgt bereid: pipetteer 10 ml van oplossing A en 10 ml van oplossing B in een maatkolf van 100 ml. Vul aan met water tot 100 ml en meng.
- 4.17. **Loopvloeistoffen voor dunnelaagchromatografie**
- Loopvloeistof I: 1-Butanol — IJsazijn — Water (80-20-20, v/v/v),  
Loopvloeistof II: Chloroform — IJsazijn (95-5, v/v).
- 4.18. 2,6-dichloor-4-(chloorimino)cyclohexa-2,5-dienon, 1 % in ethanol (4.10).
- 4.19. Natriumcarbonaatoplossing, 1 % in water (m/v).
- 4.20. Ethanol, (4.10) 30 % (v/v) oplossing in water.
- 4.21. Dinatriumdihydrogeenethyleendiaminetetra-acetaatoplossing, 5 % (m/v) in water.
- 4.22. **Bufferoplossing van pH 7**
- Breng 27 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 70 gram  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  over in een maatkolf van 1 liter. Los op en vul aan met water tot 1 liter.
- 4.23. **Kant en klare dunnelaagplaten van 0,25 mm dikte** (Kieselgel 60 Merck of gelijkwaardige platen)
- Voor het gebruik worden de platen besproeid met 10 ml dinatriumedetaatoplossing (4.21) en vervolgens bij 80 °C gedroogd.
5. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
- 5.1. Rondbodempkolven van 100 ml (met inslijpstuk).
- 5.2. Maatkolven, 100 ml en 1 liter.
- 5.3. Maatpipetten, 5 en 10 ml.

- 5.4. Volpipetten, 5 - 10 - 15 - 20 ml.
- 5.5. Scheitrechters, 25 - 50 - 100 ml.
- 5.6. Vouwfilters, diameter 9 cm.
- 5.7. Roterende verdamper.
- 5.8. Terugvloeikoelers (met inslijpstuk).
- 5.9. Spectrophotometer.
- 5.10. Cuvetten met 1 cm weglengte.
- 5.11. Schudapparaat met verwarming.
- 5.12. Kolommen voor chromatografie, 160 × 8 mm, voorzien van glaswolafdichting zowel aan de boven- als aan de onderzijde, en geschikt voor elutie onder druk.

## 6. WERKWIJZE

### 6.1. *Identificatie*

#### 6.1.1. *Vloeibare produkten*

##### 6.1.1.1. Breng de pH van het monster op 7.

Op de voorbehandelde kieselgelplaat (4.23) worden 5 en 10 µl ervan op de startlijn aangebracht.

##### 6.1.1.2. Breng vervolgens op dezelfde dunnelaagplaat aan: 10 en 30 µl van de standaardoplossing 4.15.2. Ontwikkel de plaat met een der beide loopvloeistoffen (4.17).

##### 6.1.1.3. Nadat het vloeistoffront een afstand van 15 cm heeft bereikt, wordt de plaat bij 110 °C gedroogd gedurende 15 minuten. Onder een UV-lamp (366 nm) fluoresceren 8-hydroxychinoleïnevlekken geel.

##### 6.1.1.4. Besproei de plaat vervolgens met een natriumcarbonaatoplossing (4.19). Droog de plaat en besproei met een 2,6-dichloor-4-(chloorimino)cyclohexa-2,5-dienonoplossing (4.18). 8-Hydroxychinoleïne wordt als een blauwe vlek zichtbaar.

#### 6.1.2. *Vaste produkten en crèmes*

##### 6.1.2.1. Suspendeer 1 gram van het monster in 5 ml pH-7 bufferoplossing (4.22). Breng het mengsel over met behulp van 10 ml chloroform (4.3) in een scheitrechter en schud. Verwijder de chloroformlaag. Herhaal de extractie met 2 × 10 ml chloroform. Verzamel de chloroformextracten en damp het tot bijna droog in een roterende verdamper (5.7). Los het residu op in 2 ml chloroform. Met deze oplossing wordt de dunnelaagchromatografie uitgevoerd zoals beschreven onder 6.1.1.1, daarbij worden respectievelijk 10 en 30 µl van het verkregen extract op de dunnelaagplaat aangebracht.

##### 6.1.2.2. De dunnelaagchromatografie wordt vervolgens uitgevoerd volgens 6.1.1.2, 6.1.1.3, 6.1.1.4.

### 6.2. *Bepaling*

#### 6.2.1. *Vloeibare produkten*

##### 6.2.1.1. Weeg 5,0 gram van het monster in een rondbodemkolf van 100 ml (5.1). Voeg toe 1 ml zwavelzuur 1 N (4.8). Damp het verkregen mengsel bij 50 °C en onder verminderde druk in, totdat het bijna droog is.



- 6.2.1.2. Los het residu op in 20 ml warm water. Breng het over in een maatkolf van 100 ml en spoel nog na met telkens 20 ml water. Vul aan tot 100 ml en meng.
- 6.2.1.3. Pipetteer 5 ml van de verkregen oplossing in een scheidrecter van 50 ml (5.5). Voeg toe 10 ml Fehling reagens (4.16). Meng. Extraheer de verkregen kleur complex met 3 × 8 ml chloroform.
- 6.2.1.4. Breng de verzamelde chloroformlagen over in een maatkolf van 25 ml (5.2). Vul aan met chloroform (4.3) tot 25 ml. Meet de optische dichtheid bij 410 nm tegen chloroform.
- 6.2.2. *Vaste produkten en crèmes*
- 6.2.2.1. Weeg nauwkeurig ca. 0,500 gram van het produkt in een rondbodemkolf (5.1). Voeg toe 30 ml benzeen (4.2) en 20 ml zoutzuur 1 N (4.7). Verwarm gedurende 30 minuten onder terugvloei koeling.
- 6.2.2.2. Breng het mengsel over in een scheidrecter van 100 ml (5.5). Spoel nog na met 5 ml zoutzuur 1 N (4.7). Breng de waterige laag over in een rondbodemkolf (5.1). Was de benzeenlaag uit met 5 ml zoutzuur 1 N (4.7), en voeg de waterige laag nog toe aan het extract in de rondbodemkolf. Werk verder als aangegeven onder 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. Indien emulsiëvorming de bewerking onder 6.2.2.1 en 6.2.2.2 bemoeilijkt, moet als volgt worden gewerkt: Meng 0,500 gram van het produkt met 2 gram Celite 545 (4.14) tot een rul poeder wordt verkregen. Breng dit in kleine hoeveelheden over in een chromatografiekolom (5.12). Stamp na elke toevoeging de poeder in de kolom wat aan. Elueer, zonodig onder geringe overdruk, met zoutzuur 0,1 N (4.13), waarbij 10 ml eluaat na ca. 10 minuten moet worden verkregen. In geen geval mag de inhoud van de kolom gedurende de elutie niet droog komen te staan. De eerste 10 ml van het eluaat wordt verder verwerkt als aangegeven onder 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. De waterige fasen (6.2.2.2) of eluaten (6.2.2.3) worden onder verminderde druk in een roterende verdampert ingedampt, totdat ze bijna droog zijn.
- 6.2.2.5. Los het residu op in 6 ml natriumhydroxideoplossing 1 N (4.9). Voeg 20 ml Fehling reagens (4.16) toe en breng het mengsel over in een scheidrecter van 50 ml (5.5). Spoel de kolf nog met 8 ml chloroform (4.3) na en breng dit ook over in de scheidrecter. Schud en breng na de scheiding der lagen de chloroformfractie via een vouwfilter (5.6) over in een maatkolf van 50 ml (5.2).
- 6.2.2.6. De extractie van de waterige laag wordt nog herhaald met 3 × 8 ml chloroform (4.3). Vul de verzamelde (en gefiltreerde) chloroformoplossingen aan tot 50 ml en meng. Meet de optische dichtheid bij 410 nm tegen chloroform.

## 7. IJKLIJN

Pipetteer in rondbodemkolven van 100 ml (5.1) respectievelijk 3 ml ethanol 30 % (4.20) en 5, 10, 15, 20 ml van de standaardoplossing 4.15.1. Voer de bewerkingen uit als beschreven onder 6.2.1. Teken de ijklijn met de verkregen waarden.

## 8. BEREKENING

### 8.1. *Vloeibare produkten*

$$\text{8-Hydroxychinoleïne \% (m/m)} = \frac{a \times 100}{m}$$

waarbij:

a: mg 8-hydroxychinoleïne volgens de ijklijn (7)

m: mg massa ingewogen monster (6.2.2.1).

8.2. *Vaste produkten en crèmes*

$$\text{8-Hydroxychinoleïne \% (m/m)} = \frac{2a \times 100}{m}$$

waarbij:

a: mg 8-hydroxychinoleïne volgens de ijklijn (7)

m: mg massa ingewogen monster (6.2.2.1).

9. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>

Bij een 8-hydroxychinoleïnegehalte van ca. 0,3 % mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,02 % bedragen.

**KWANTITATIEVE BEPALING VAN AMMONIAK**

## 1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De methode beschrijft de bepaling van het vrije ammoniak in cosmetische produkten.

## 2. DEFINITIE

Het gehalte aan ammoniak wordt uitgedrukt in massaprocenten (% m/m) NH<sub>3</sub>.

## 3. BEGINSSEL

Een oplossing van bariumchloride wordt — in methanol/water milieu — toegevoegd aan het monster. Na koeling bij 5 °C wordt het mengsel gefiltreerd. Hierbij worden allerlei ammoniumzouten (zoals het carbonaat, hydrogeencarbonaat, vetzuren zouten; echter niet acetaat) verwijderd. Het vrije ammoniak wordt vervolgens uit het filtraat afgedestilleerd en tenslotte in het destillaat potentiometrisch bepaald.

## 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

## 4.1. Methanol.

4.2. Bariumchloride 2H<sub>2</sub>O, 25 % (m/v) oplossing in water.

## 4.3. Boorzuur, 4 % (m/v) oplossing in water.

## 4.4. Zwavelzuuroplossing 0,5 N, van bekende titer.

## 4.5. Vloeibaar antischuimmiddel.

## 4.6. Natriumhydroxide 0,5 N van bekende titer.

## 4.7. Indicator: meng 5 ml methylrood 0,1 % in ethanol met 2 ml methyleenblauw 0,1 % in water.

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.

## 5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Centrifuge met af te sluiten centrifugebuizen.
- 5.3. Stoomdestillatie-apparaat.
- 5.4. Potentiograaf.
- 5.5. Glaselektrode; dikwikdichloride (calomel) elektrode.

## 6. WERKWIJZE

- 6.1. Weeg nauwkeurig in een maatkolf van 100 ml een hoeveelheid monster (m in mg) af dat overeenkomt met ten hoogste 150 mg NH<sub>3</sub>.
- 6.2. Voeg achtereenvolgens toe: 10 ml water, 10 ml methanol en 10 ml bariumchlorideoplossing (4.2). Meng. Vul aan met methanol tot de streep en meng.
- 6.3. Koel gedurende een nacht bij 5 °C.
- 6.4. Filtreer of centrifugeer in afgesloten buizen gedurende ca. 10 minuten de nog koude oplossing. Gebruik de heldere oplossing voor de destillatie.
- 6.5. Breng met behulp van een pipet 40,0 ml van de verkregen oplossing in het destillatieapparaat (5.3) en voeg 0,5 ml antischuimmiddel (4.5) toe.
- 6.6. Destilleer en verzamel ca. 200 ml destillaat. Deze wordt opgevangen in een bekersglas van 250 ml met 10,0 ml zwavelzuur van bekende titer (4.4) en 0,1 ml indicator (4.7).
- 6.7. Titreer de overmaat zwavelzuur met natriumhydroxide van bekende titer (4.6).
- 6.8. *NB:* Indien het afgedestilleerde ammoniak potentiometrisch wordt bepaald, moet bij de destillatie het ammoniak worden opgevangen in 25 ml boorzuuroplossing (4.3) en vervolgens getitreerd met 0,5 N zwavelzuur van bekende titer (4.4).

## 7. BEREKENING

7.1. *Bepaling via terugtitratie*

Voor de berekening geldt de volgende formule:

$$\% (m/m) \text{ NH}_3 = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) 4250}{m}$$

waarbij:

V<sub>1</sub>: ml NaOH 0,5 N (4.6) verbruikt bij de titratie onder 6.7,

T<sub>1</sub>: de correctiefactor voor de titer van de verbruikte NaOH (4.6),

T<sub>2</sub>: de correctiefactor voor de titer van het gebruikte zwavelzuur (4.4),

m: massa in mg van de monsterinweeg (6.1).

**7.2. Potentiometrische bepaling**

Voor de berekening geldt de volgende formule:

$$\% (m/m) \text{ NH}_3 = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{V_2 T_2 \times 4250}{m}$$

waarbij:

V<sub>2</sub>: ml zwavelzuur 0,5 N (4.4) verbruikt bij de titratie onder 6.8,

T<sub>2</sub>: de correctiefactor voor de titer van het gebruikte zwavelzuur (4.4),

m: massa in mg van de monsterinweeg (6.1).

**8. HERHAALBAARHEID (1)**

Voor een gehalte van ca. 6 % vrij NH<sub>3</sub> mag het verschil van de uitkomsten van twee parallel uitgevoerde bepalingen op hetzelfde monster niet meer bedragen dan 0,6 %.

**IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN NITROMETHAAN****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode is toepasbaar voor alle cosmetische aerosolproducten met een gehalte van circa 0,3 % nitromethaan.

**2. DEFINITIE**

Het volgens dit voorschrift bepaalde gehalte wordt uitgedrukt in massa procenten (m/m) nitromethaan berekend op de totale inhoud van de aerosol.

**3. PRINCIPE**

Nitromethaan wordt geïdentificeerd met een kleurreactie. De bepaling geschiedt met behulp van gaschromatografie na toevoeging van een interne standaard.

**4. IDENTIFICATIE****4.1. Reagentia**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

**4.1.1. Natriumhydroxide 0,5 N.****4.1.2. Folin reagens**

Los 0,1 g van natrium 1,2-naftochinonsulfonaat op in 100 ml water.

**4.2. Werkwijze**

Voeg 10 ml van 4.1.1 en 1 ml van 4.1.2 toe aan 1 ml van het monster. Bij aanwezigheid van nitromethaan ontstaat een violette kleur.

**5. BEPALING****5.1. Reagentia**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 5.1.1. Chloroform (interne standaard 1).
- 5.1.2. 2,4-Dimethylheptaan (interne standaard 2).
- 5.1.3. Ethanol 95 %.
- 5.1.4. Nitromethaan.
- 5.1.5. *Interne standaardoplossing met chloroform*  
Breng ca. 650 mg chloroform (5.1.1) in een vooraf getarreeerde maatkolf van 25 ml. Weeg de kolf met chloroform. Vul aan met ethanol (5.1.3) tot de merkstreep. Weeg opnieuw. Bereken het massa percentage van de verkregen chloroformoplossing.
- 5.1.6. *Interne standaardoplossing met 2,4-dimethylheptaan*  
Bereid een oplossing van ca. 270 mg 2,4-dimethylheptaan (5.1.2) in ethanol op dezelfde manier als is aangegeven onder 5.1.5.
- 5.2. *Apparatuur en hulpmiddelen*
- 5.2.1. Gaschromatograaf met een vlamionisatiedetector.
- 5.2.2. Hulpmiddelen voor de bemonstering van aerosolen (bemonsteringsfles, injectiespuit voor gassen, koppelstukken, etc.) zoals beschreven in hoofdstuk II van de bijlage van de Eerste Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie (1).
- 5.2.3. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.3. *Werkwijze*
- 5.3.1. *Bereiding van het monster*  
Breng op de in bijlage II van de Eerste Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie aangegeven wijze in een vooraf getarreeerde bemonsteringsfles van 100 ml ca. 5 ml van een der oplossingen 5.1.5 of 5.1.6. Weeg opnieuw om de ingebrachte hoeveelheid precies vast te stellen. Breng op dezelfde wijze ca. 50 ml van de aerosol en weeg nogmaals om de ingebrachte hoeveelheid monster precies vast te stellen (M gram). Meng nauwkeurig. Injecteer 10 µl met behulp van de micro-injectiespuit voor gassen (5.2.2) in de gaschromatograaf. Herhaal de injecties nog vier maal.
- 5.3.2. *Bereiding van de standaardoplossing*  
Weeg in een maatkolf van 50 ml nauwkeurig ca. 500 mg van nitromethaan (5.1.4) met 500 mg chloroform (5.1.1) of ca. 210 mg 2,4-dimethylheptaan (5.1.2). Vul met ethanol (5.1.3) aan tot de merkstreep. Meng nauwkeurig. Pipetteer 5 ml van de verkregen oplossing in een maatkolf van 20 ml en vul aan met ethanol (5.1.3) tot de merkstreep. Meng nauwkeurig. Injecteer ca. 10 µl met behulp van de micro-injectiespuit voor gassen (5.2.2) in de gaschromatograaf en herhaal dit nog vier maal.
- 5.3.3. *Gaschromatografische condities*
- 5.3.3.1. Kolom  
De kolom bestaat uit een voorstuk gevuld met didecylftalaat op Gaschrom Q als stationaire fase, en een tweede stuk gevuld met Ucon 50HB 280X op Gaschrom Q als stationaire fase.

(1) PB nr. L 383 van 31. 12. 1980, blz. 27.

De kolom moet onder de gebruikte omstandigheden een resolutiegraad R bezitten van 1,2 of meer, waarbij

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

en

$r_1$  en  $r_2$  = retentietijden in minuten,

$w_1$  en  $w_2$  = breedte der pieken op halve hoogte in mm,

$d'$  = papiersnelheid van de recorder in mm/ minuut.

De volgende condities voldoen bij voorbeeld aan de genoemde voorwaarden:

Vorstuk:

materiaal: roestvrij staal,

lengte: 1,5 m,

diameter: 3 mm,

vulling: 20 % didecylftalaat op Gaschrom Q 100-120 mesh.

Tweede stuk:

materiaal: roestvrij staal,

lengte: 1,5 m,

diameter: 3 mm,

vulling: 20 % Ucon 50HB 280X op Gaschrom Q 100-120 mesh.

#### 5.3.3.2. Vlamionisatiedetector

Elektrometerinstelling  $8 \times 10^{-10}A$ .

#### 5.3.3.3. Temperatuur

Injecteur: 150 °C.

Detector: 150 °C.

Kolom: tussen 50-80 °C afhankelijk van de kolom en de gebruikte apparatuur.

#### 5.3.3.4. Gassen

Draaggas: stikstof.

Druk: 2,1 bar.

Debiet: 40 ml/minuut.

Hulpgassen volgens de specificaties van de fabrikant.

## 6. BEREKENING

### 6.1. *Responsiefactor ( $K_n$ ) van nitromethaan, berekend op de gebruikte interne standaard (chloroform of 2,4-dimethylheptaan) in de standaardoplossing 5.3.1*

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

$K_n$ : responsiefactor van nitromethaan,

$m'_n$ : massa in gram van nitromethaan in de standaardoplossing 5.3.2,

$S'_n$ : piekoppervlak van nitromethaan van de standaardoplossing 5.3.2,

$m'_c$ : massa in gram van de interne standaard in de standaardoplossing 5.3.2,

$S'_c$ : piekoppervlak van de interne standaard in de referentiestandaardoplossing 5.3.2.

### 6.2. *Gehalte van nitromethaan in het monster*

Dit wordt berekend met de volgende formule uit de analyse van het monster (5.3.1):

$$\% \text{ (m/m) nitromethaan} = \frac{m_c}{M} \times \frac{K_n \times S_n}{S_c} \times 100$$

$K_n$ : responsiefactor nitromethaan uit 6.1,  
 $S_n$ : piekoppervlak nitromethaan van het monster 5.3.1,  
 $m_c$ : massa in gram van de gebruikte interne standaard (chloroform of 2,4-dimethylheptaan) in 5.3.1,  
 $S_c$ : piekoppervlak van de gebruikte interne standaard in 5.3.1,  
 $M$ : massa in gram van het afgewogen aërosolmonster in 5.3.1.

#### 7. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>

Bij een gehalte van ca. 0,3 % nitromethaan mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,03 % bedragen.

### IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN THIOGLYCOLZUUR IN PERMANENTLOTIONS, ONTKRULLINGSMIDDELEN EN ONTHARINGSMIDDELEN

#### 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van thioglycolzuur in produkten voor het krullen, ontkrullen van het haar en in ontharingsmiddelen, bij eventuele aanwezigheid van andere reductiemiddelen.

#### 2. DEFINITIE

Het gehalte aan thioglycolzuur wordt uitgedrukt in massaprocenten.

#### 3. BEGINSSEL

Thioglycolzuur wordt geïdentificeerd met een kleurreactie of door middel van dunnelaagchromatografie. De bepaling geschiedt iodometrisch en bij aanwezigheid van andere reductoren door middel van gaschromatografie.

#### 4. IDENTIFICATIE

##### 4.1. *Identificatie langs chemische weg*

##### 4.1.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

##### 4.1.1.1. Looddi (acetaat)-papier.

##### 4.1.1.2. Zoutzuur 1:1.

##### 4.1.2. *Werkwijze*

##### 4.1.2.1. Breng een druppel van het te analyseren monster op een stukje looddi(acetaat)-papier (4.1.1.1). Indien een diepe gele kleur zichtbaar wordt, is thioglycolzuur waarschijnlijk aanwezig.

Gevoeligheid: 0,5 %.

##### 4.1.2.2. Het aantonen van sulfide.

Breng in een reageerbuis enige mg van het monster. Voeg 2 ml water en 1 ml zoutzuur (4.1.1.2) toe. Bij aanwezigheid van een sulfide ontwikkelt zich H<sub>2</sub>S gas,

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.

dat herkenbaar is aan de geur en aan de vorming van een zwarte neerslag van PbS op looddi(acetaat)-papier (4.1.1.1).

Gevoeligheid: 50 ppm.

4.1.2.3. Het aantonen van sulfiet.

Werkwijze als 4.1.2.2.

Breng het mengsel aan de kook. Het ontstane SO<sub>2</sub> is herkenbaar aan de geur en aan de reducerende eigenschappen ten opzichte van b.v. permanganaat.

4.2. *Identificatie door middel van dunnelaagchromatografie*

4.2.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.2.1.1. Thioglycolzuur, iodometrisch op sterkte bepaald (hoger dan 98 %) (TGZ).

4.2.1.2. Dithiodiglycolzuur (gehalte hoger dan 99 %) (DTGZ).

4.2.1.3. Thiomelkzuur (gehalte hoger dan 95 %) (TMZ).

4.2.1.4. 3-Mercapto propionzuur (gehalte hoger dan 98 %) (MPZ).

4.2.1.5. 1-Thioglycerol (gehalte hoger dan 98 %) (TG).

4.2.1.6. Silcagel GHR of overeenkomstige kant-en-klare plaat van 0,25 mm dikte. Activeer de plaat bij 110 °C gedurende een half uur.

4.2.1.7. Aluminiumoxyde F254 type E, Merck (of gelijkwaardig) of overeenkomstige kant-en-klare plaat van 0,25 mm dikte.

4.2.1.8. Geconcentreerd zoutzuur ( $d_4^{20} = 1,19$ ).

4.2.1.9. Ethylacetaat.

4.2.1.10. Chloroform.

4.2.1.11. Di-isopropylether.

4.2.1.12. Tetrachloorkoolstof.

4.2.1.13. IJsazijn.

4.2.1.14. Kaliumiodideoplossing (1 % m/v).

4.2.1.15. Platinachlorideoplossing (0,1 % m/v).

4.2.1.16. Loopvloeistoffen:

4.2.1.16.1. Ethylacetaat-Chloroform-Di-isopropylether-IJsazijn (20 + 20 + 10 + 10, volume).

4.2.1.16.2. Chloroform-IJsazijn (90 + 20, volume).

4.2.1.17. Sproeivloeistoffen voor de detectie:

4.2.1.17.1. Meng vlak voor gebruik gelijke volumina van 4.2.1.14 en 4.2.1.15.

4.2.1.17.2. Los 5 gram broom op in 100 ml tetrachloorkoolstof (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Los 100 mg fluoresceïne op in 100 ml ethanol 95 %.

4.2.1.17.4. Los 10 gram hexa-ammoniumheptamolybdaat op in 90 ml water.

4.2.1.18. Referentieoplossingen:

4.2.1.18.1. Thioglycolzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.2. Dithiodiglycolzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.3. Thiomelkzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.4. 3-Mercaptopropionzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.5. 1-Thioglycerol (0,4 % m/v, in water).



4.2.2. *Apparatuur*

Gebruikelijke apparatuur voor de dunnelaagchromatografie.

4.2.3. *Werkwijze*4.2.3.1. *Behandeling van de monsters*

Zuur het monster aan tot pH = 1 met enkele druppels geconcentreerd zoutzuur (4.2.1.8) en filtreer zo nodig. In bepaalde gevallen kan het nuttig zijn het te analyseren monster te verdunnen. Zuur in dat geval eerst aan met geconcentreerd zoutzuur alvorens over te gaan tot verdunnen.

4.2.3.2. *Dunnelaagchromatografie*

Breng op de startplaatsen van de dunnelaagplaat (4.2.1.6) 1 µl van het behandelde monster (4.2.3.1) en 1 µl van elk der vijf referentieoplossingen (4.2.1.18). Droog voorzichtig onder een stikstofstroom en ontwikkel de plaat met de loopvloeistoffen (4.2.1.16.1) of (4.2.1.16.2). Droog na het ontwikkelen de plaat zo snel mogelijk onder een stikstofstroom om oxydatie van de thiolen te voorkomen.

4.2.3.3. *Detectie*

Bespuut de plaat met de sproeivloeistof (4.2.1.17.1 of 4.2.1.17.3 of 4.2.1.17.4). Bij gebruik van sproeivloeistof (4.2.1.17.3) moet de plaat vervolgens worden geplaatst in een ontwikkelbak waarin zich een klein bakje met de broomoplossing (4.2.1.17.2) bevindt, totdat de vlekken zichtbaar zijn geworden. Indien de plaat met sproeireagens (4.2.1.17.4) wordt behandeld mag het drogen van de plaat niet langer duren dan een half uur.

4.2.3.4. *Interpretatie*

Vergelijk de Rf-waarden en de verkregen kleuren der referentieoplossingen met die van het monster. Daarbij kan gebruik worden gemaakt van de volgende indicatieve tabel der Rf-waarden:

	Loopvloeistoffen	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Thioglycolzuur	0,25	0,80
Thiomelkzuur	0,40	0,95
Dithiodiglycolzuur	0,00	0,35
3-Mercaptopropionzuur	0,45	0,95
1-Thioglycerol	0,45	0,35

5. *BEPALING* <sup>(1)</sup>

Elk monster wordt eerst iodometrisch bepaald.

5.1. *Iodometrie*5.1.1. *Beginsel*

De bepaling geschiedt via oxydatie van de SH-groep met I<sub>2</sub> in zuur milieu volgens de vergelijking:

5.1.2. *Reagentia*

Standaardiodiumoplossing 0,1 N.

<sup>(1)</sup> Bij de monsternamen dienen de voorwaarden zoals beschreven in Richtlijn 80/1335/EEG van 22 december 1980 in acht te worden genomen.

**5.1.3. Apparatuur**

Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.

**5.1.4. Werkwijze**

Weeg in een erlenmeyer van 150 ml met stop, waarin 50 ml gedestilleerd water zit, nauwkeurig een hoeveelheid van 0,5 tot 1 gram van het monster af. Voeg ca. 5 ml zoutzuur 1:1 (4.1.1.2) toe. De pH is dan ca. 0. Titreer met 0.1 N jodiumoplossing (5.1.2) totdat een lichtgele kleur verschijnt. (Men kan bij deze titratie zonedig gebruik maken van stijfjel als indicator, dat in blauw omslaat.)

**5.1.5. Berekening**

Het thioglycolzuurgehalte wordt berekend met de volgende formule:

$$\% (m/m) = \frac{92 \cdot n \cdot 100}{1000 \cdot 10 \cdot m} = \frac{0,92 n}{m}$$

waarin:

m: massa in gram van het monster,

n: ml verbruikte standaard 0.1 N jodiumoplossing.

**5.1.6. Opmerking**

Indien de als thioglycolzuur iodometrisch gemeten waarde de maximaal toelaatbare concentratie niet overschrijdt, zijn de verdere bepalingen overbodig.

Indien de gemeten iodometrische waarde gelijk of hoger ligt dan de maximaal toelaatbare concentratie en als de aanwezigheid van een of meer reductiemiddelen is aangetoond (4.1.2.2 en 4.1.2.3), dient aansluitend de volgende gaschromatografische bepaling te worden uitgevoerd.

**5.2. Gaschromatografie****5.2.1. Beginsel**

Het thioglycolzuur wordt uit het produkt geïsoleerd door het neer te slaan als cadmiumdi(acetaat). Vervolgens wordt het thioglycolzuur gemethyleerd met diazomethaan en tenslotte wordt het methylester gaschromatografisch bepaald met methylcaprylaat als interne standaard.

**5.2.2. Reagentia**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

5.2.2.1. Thioglycolzuur, iodometrisch op sterkte bepaald (hoger dan 98 %).

5.2.2.2. Geconcentreerd zoutzuur  $d_4^{20} = 1,19$ .

5.2.2.3. Methanol.

5.2.2.4. Cadmiumacetaat 2 H<sub>2</sub>O: 10 % (m/v) in water.

5.2.2.5. Methylcaprylaat: 2 % (m/v) in methanol.

5.2.2.6. Acetaat-bufferoplossing van pH 5:  
natriumacetaat, 3 H<sub>2</sub>O: 77 gram,  
ijsazijn: 27,5 ml,  
opgelost in gedemineraliseerd water tot 1 liter.

5.2.2.7. HCl 3 N in methanol, vers bereid.

5.2.2.8. N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine.

5.2.2.9. Natriumhydroxideoplossing 5 N.

5.2.2.10. Standaardoplossing jodium 0,1 N.

5.2.2.11. Ether.

5.2.2.12. Uit N-methyl-N-nitroso-p-tolueensulfonamide bereide oplossing van diazomethaan volgens Fieser (Reagents for Organic Synthesis, Ed. Wiley, 1967). De verkregen oplossing bevat ca. 1,5 gram diazomethaan in 100 ml ether.

*NB:* Aangezien diazomethaan een giftig en instabiel gas is, dienen alle proeven in een zuurkast met krachtige luchtafvoer te worden uitgevoerd en dient geen glaswerk met geslepen onderdelen te worden gebruikt.

5.2.3. *Apparatuur*

5.2.3.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.

5.2.3.2. Apparaat ter in-situ bereiding van diazomethaan zoals beschreven in An. Chem. 1973 45, 2302.

5.2.3.3. Apparaat ter bereiding van diazomethaan volgens Fieser (5.2.2.12).

5.2.4. *Monsterbereiding*

Weeg in een centrifugebuis van 50 ml nauwkeurig een zodanige hoeveelheid van het monster af, dat overeenkomt met een vermoedelijke hoeveelheid van ca. 50-70 mg thioglycolzuur. Zuur aan met enkele druppels geconcentreerd zoutzuur (5.2.2.2) tot een pH van ca. 3.

Voeg toe 5 ml demi-water en 10 ml acetaatbuffer (5.2.2.6). Controleer met pH papier dat de pH ca. 5 is.

Voeg daarna 5 ml cadmiumdi(acetaat)oplossing (5.2.2.4) toe.

Wacht 10 minuten en centrifugeer dan gedurende 15 minuten bij 4 000 g.

Verwijder de bovenstaande vloeistof. Het kan voorkomen, dat deze een onoplosbaar vet bevat (in het geval van een crème), maar dit kan gemakkelijk worden onderscheiden van het cadmium mercaptide, dat zich als een compacte massa op de bodem van de buis heeft afgezet.

Controleer of er geen neerslag meer wordt gevormd als aan de bovenstaande vloeistof enkele druppels cadmiumdi(acetaat) (5.2.2.4) wordt toegevoegd.

Controleer door middel van een iodometrische titratie voor het geval reducerende stoffen (anders dan de thiolen; zie 4.1.2.2 en 4.1.2.3) afwezig zijn, dat het verlies aan thiolen in de bovenstaande vloeistof niet meer bedraagt dan 8 % t.o.v. de oorspronkelijke hoeveelheid.

Voeg 10 ml methanol (5.2.2.3) toe aan het precipitaat in de centrifugebuis en dispergeer nauwkeurig het precipitaat met behulp van een glazen staaf. Centrifugeer opnieuw gedurende 15 minuten bij 4 000 g. Decanteer de bovenstaande vloeistof en controleer tevens iodometrisch de afwezigheid van thiolen.

Herhaal opnieuw deze bewerking.

Voeg aan het neerslag in de centrifugebuis toe:

2 ml methylcaprylaatoplossing (5.2.2.5) en 5 ml HCl-oplossing in methanol (5.2.2.7). Het neerslag lost hierbij op. Het kan voorkomen dat een lichte troebeling achterblijft van mogelijke verontreinigingen. Men verkrijgt oplossing S. Van de aldus verkregen oplossing S wordt een aliquot gedeelte iodometrisch bepaald ter controle van de hoeveelheid thiolen, die gelijk moet zijn aan 90 % of meer t.o.v. de onder 5.1 verkregen waarde.

5.2.5. *Methylering*

De methylering wordt uitgevoerd met ex-tempore bereide diazomethaan volgens (5.2.5.1.) of met een voorafbereide oplossing volgens (5.2.5.2.).

5.2.5.1. Methylering met in-situ bereide diazomethaan

Breng in het apparaat (5.2.3.2) 1 ml ether (5.2.2.11).

Voeg daaraan toe 50 µl van de oplossing S (5.2.4).

Voer de methylering uit volgens (5.2.3.2) met 300 mg N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine. Controleer na 15 minuten of de etheroplossing nog geel is (hetgeen wijst op overmaat diazomethaan) en giet deze in een goed sluitend kolfje van 2 ml over. Zet dit gedurende een nacht in een vrieskast.

Voer gelijktijdig twee methyleringen uit.

5.2.5.2. **Methylering met voorafbereide diazomethaan**

Breng in een kolf van 5 ml met stop 1 ml vooraf bereide diazomethaan (5.2.5.2), en vervolgens 50 µl van de oplossing S (5.2.4). Laat het mengsel gedurende een nacht in een vrieskast staan.

5.2.6. **Bereiding van de standaard**

Bereid een standaardoplossing van thioglycolzuur van bekende titer, bevattende ca. 60 mg thioglycolzuur per ml. Dit is oplossing E. Voer hiermede de bewerkingen uit zoals beschreven in (5.2.3), (5.2.4) en 5.2.5).

5.2.7. **Gaschromatografische condities**

5.2.7.1. Kolom van roestvrij staal, 2 meter lang en een diameter van 3 mm.

5.2.7.2. Vulling: 20 % Didecyl phthalate op Chromosorb WAW 80/100 mesh.

5.2.7.3. Vlamionisatiedetector. Ingesteld op een gevoeligheid van  $8 \cdot 10^{-10} \text{A}$ .

5.2.7.4. Gassen:

Dragergas: stikstof 2,2 bar druk en 35 ml/min snelheid.

Hulpgas: waterstof 1,8 bar druk en 15 ml/min snelheid.

5.2.7.5. Temperatuur:

Injector 200 °C; detector 200 °C; kolom 90 °C.

5.2.7.6. Recorder papiersnelheid: 5 mm/minuut.

5.2.7.7. Hoeveelheid per injectie: 3 µl.

5.2.7.8. Verricht 5 injecties per gemethyleerde oplossing.

**NB:** Bovengenoemde gaschromatografische condities zijn indicatief bedoeld. In ieder geval moet onder de gebruiksomstandigheden de kolom een resolutiegraad R bezitten van 1,5 of meer, waarbij

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

en

$r_1$  en  $r_2$ : retentietijden in minuten,

$w_1$  en  $w_2$ : breedte der pieken op halve hoogte in mm,

$d'$ : papiersnelheid van de recorder in mm/minuut.

Het verdient aanbeveling om na iedere gaschromatografische bepaling de kolomtemperatuur te programmeren van 90 °C naar 150 °C met 10 °C/minuut, ten einde stoffen te verwijderen die een volgende meting zouden kunnen storen.

5.2.8. *Berekening*5.2.8.1. Responsiefactor van thioglycolzuur:  $k_{TGZ}$ 

Deze wordt berekend uit het chromatogram van het standaardmonster 5.2.6 met de formule:

$$k_{TGZ} = \frac{m'_{TGZ} \cdot S'_c}{m'_c \cdot S'_{TGZ}}$$

waarin:

$m'_{TGZ}$ : massa in mg van TGZ in het standaardmengsel 5.2.6,

$m'_c$ : massa in mg van methylcaprylate in het standaardmengsel 5.2.6,

$S'_{TGZ}$ : piekoppervlak van TGZ in het standaardmengsel 5.2.6,

$S'_c$ : piekoppervlak van methylcaprylate in het standaardmengsel 5.2.6.

## 5.2.8.2. Gehalte TGZ in het monster

Dit wordt berekend met de volgende formule:

$$\% \text{ TGZ (m/m)} = \frac{m_c}{M} \cdot \frac{k_{TGZ} S_{TGZ}}{S_c} \cdot 100$$

waarin:

$m_c$ : massa in mg van methylcaprylate in het monster,

$M$ : massa in mg van de inweeg (5.2.4),

$k_{TGZ}$ : responsiefactor TGZ (5.2.8.1),

$S_{TGZ}$ : piekoppervlak TGZ.

$S_c$ : piekoppervlak methylcaprylate.

## 6. HERHAALBAARHEID (1)

Voor een gehalte van thioglycolzuur van 8 % (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee bepalingen gelijk uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,8 % bedragen.

**IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN HEXACHLOROFEEEN****A. IDENTIFICATIE**1. **DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode is toepasbaar voor alle cosmetische producten.

2. **BEGINSEL**

Hexachlorofeen aanwezig in een monster wordt met ethylacetaat geëxtraheerd en geïdentificeerd met dunnelaagchromatografie.

3. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

3.1. **Zwavelzuur 8 N.**3.2. **Celite AW.**3.3. **Ethylacetaat.**

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 3.4.        Loopvloeistof: Benzeen met 1 % ijsazijn (v/v).
- 3.5.        Sproeireagens nr. 1:  
Rhodamine B oplossing: los 100 mg Rhodamine B op in een mengsel van 150 ml ether, 70 ml ethanol en 16 ml water.
- 3.6.        Sproeireagens nr. 2:  
— 2,6-dibroom-4-(chloorimino)cyclohexa-2,5-diënon: los 400 mg van deze stof op in 100 ml methanol (vers te bereiden),  
— natriumcarbonaatoplossing: los 10 gram van deze stof op in 100 ml water.
- 3.7.        Referentieoplossing: 0,05 % (m/v) hexachlorofoon in ethylacetaat.
4.         HULPMIDDELEN
- 4.1.        Silicagel F 254 DLC platen 20 × 20 cm.
- 4.2.        Gebruikelijke hulpmiddelen voor dunnelaagchromatografie.
- 4.3.        Thermostaatbad voor 26 °C voor de chromatografietank.
5.         VOORBEREIDING VAN HET MONSTER
- 5.1.        Meng nauwkeurig 1 gram gehomogeniseerd monster met 1 gram Celite AW (3.2) en 1 ml zwavelzuur (3.1).
- 5.2.        Verwarm bij 100 °C gedurende 2 uren.
- 5.3.        Koel af en verpulver tot fijn poeder.
- 5.4.        Extraheer met 2 × 10 ml ethylacetaat (3.3).  
Centrifugeer na iedere extractie en verzamel de ethylacetaatoplossingen.
- 5.5.        Damp droog bij 60 °C.
- 5.6.        Los het residu op in 2 ml ethylacetaat (3.3).
6.         WERKWIJZE
- 6.1.        Breng 2 µl van het monsterextract (5.6) en 2 µl van de referentieoplossing (3.7) op de dunnelaagplaat (4.1).
- 6.2.        Verzadig de chromatografietank bij 26 °C (4.3) met de loopvloeistof (3.4).
- 6.3.        Ontwikkel de dunnelaagplaat in de chromatografietank over een loopafstand van ca. 15 cm.
- 6.4.        Droog de plaat bij 105 °C.
- 6.5.        Hexachlorofoeenvlekken worden zichtbaar gemaakt volgens 6.5.1 of 6.5.2.

- 6.5.1. Besproei met reagens nr. 1 (3.5). Neem na 30 minuten de plaat onder UV (254 nm) waar.
- 6.5.2. Besproei met reagens nr. 2 (3.6), nl. met de 2,6-dibroom-4-(chloorimino)cyclohexa-2,5-dienonoplossing en vervolgens met de natriumcarbonaatoplossing. Neem na ca. 10 minuten drogen bij kamertemperatuur de vlekken bij daglicht waar.

## 7. INTERPRETATIE DER RESULTATEN

- 7.1. Sproeireagens nr. 1 (3.5):  
De kleur van een hexachlorofeenvlek is blauwachtig op een geel-oranje achtergrond en de Rf is ca. 0,5.
- 7.2. Sproeireagens nr. 2 (3.6):  
De kleur is hemelsblauw tot turkoois op een witte achtergrond en de Rf is ca. 0,5.

## B. BEPALING

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGBIED**  
De methode is toepasbaar op alle cosmetische produkten.
2. **DEFINITIE**  
Het volgens deze methode gemeten gehalte aan hexachlorofeen wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) hexachlorofeen.
3. **BEGINSEL**  
Na omzetting in het methyl derivaat, wordt hexachlorofeen gaschromatografisch bepaald met een electron-capture detector. Daarbij wordt gebruik gemaakt van een interne standaard.
4. **REAGENTIA**  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.
- 4.1. Ethylacetaat.
- 4.2. N-methyl-N-nitroso-p-tolueensulfonamide (Diazald).
- 4.3. Ether.
- 4.4. Methanol.
- 4.5. 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol (Carbitol).
- 4.6. Mierenzuur.
- 4.7. Kaliumhydroxide 50 % (m/m) in water; dagelijks vers te bereiden.

- 4.8. Hexaan voor spectroscopie.
- 4.9. Bromochlorofeen (Standaard nr. 1).
- 4.10. 4,4', 6,6'-tetrachloor-2,2'-thiodifenol (Standaard nr. 2).
- 4.11. Triclosan (Standaard nr. 3).
- 4.12. Aceton.
- 4.13. Zwavelzuur 8 N.
- 4.14. Celite AW.
- 4.15. Mierenzuur 10 % (v/v) in ethylacetaat.
- 4.16. Hexachlorofeen.
5. APPARATEN EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 5.2. Mini-apparaat voor de bereiding van diazomethaan (lit.: Anal. Chem. 1973 45 2302-3).
- 5.3. Gaschromatograaf met een electron-capture detector (<sup>63</sup>Ni).
6. WERKWIJZE
- 6.1. *Bereiding van de standaardoplossingen*
- De interne standaard wordt gekozen uit 4.9, 4.10 en 4.11 op grond van de afwezigheid van storingen in het chromatogram door andere stoffen uit het produkt. In het algemeen is Standaard nr. 1 (4.9) het meest geschikt.
- 6.1.1. Weeg nauwkeurig ca. 50 mg van Standaard nr. 1 (4.9) of Standaard nr. 2 (4.10) of Standaard nr. 3 (4.11) en 50 mg hexachlorofeen (4.16) in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul aan met ethylacetaat (4.1) tot 100 ml. Dit is oplossing A. Verdun 10 ml oplossing A met ethylacetaat tot 100 ml. Dit is oplossing B.
- 6.1.2. Weeg nauwkeurig ca. 50 mg van Standaard nr. 1 (4.9) of Standaard nr. 2 (4.10) of Standaard nr. 3 (4.11) in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul aan tot 100 ml met ethylacetaat (4.1). Dit is oplossing C.
- 6.2. *Vorbereiding van het monster* <sup>(1)</sup>
- Weeg nauwkeurig ca. 1 gram van het gehomogeniseerde monster en meng grondig met 1 ml zwavelzuur (4.13), 15 ml aceton (4.12) en 8 g Celite AW (4.14).

<sup>(1)</sup> In verband met de talrijke soorten produkten waarin hexachlorofeen kan voorkomen, is het belangrijk de terugvindingspercentages op hexachlorofeen voor het betreffende monster vooraf na te gaan. Indien lage waarden worden gevonden, zou bij voorbeeld verandering van extractie-oplosmiddel (b.v. benzeen i.p.v. ethylacetaat) aangebracht kunnen worden in het voorschrift (uiteraard met goedkeuring van de betrokken partijen).



Droog het mengsel door verwarming op een stoombad gedurende 30 minuten en vervolgens in een geventileerde oven gedurende anderhalf uur. Koel af en verpulver tot fijn poeder. Breng de poeder over in een glazen kolom en elueer met ethylacetaat. Verzamel 100 ml eluaat. Voeg hierbij 2 ml van de interne standaardoplossing (oplossing C van 6.1.2) toe.

6.3. **Methylering van het monsterextract**

Koel alle reagentia en de apparatuur tot 0-4 °C gedurende 2 uren. Breng 1,2 ml van de verkregen oplossing (6.2) en 0,1 ml methanol in het buitenste gedeelte van het diazomethaan mini-apparaat. Breng ca. 200 mg diazald (4.2) in het centrale reservoir en voeg daarbij toe 1 ml carbitol (4.5) en 1 ml ether (4.3). Los op. Assembleer het apparaat en plaats het voor de helft in een bad met smeltend ijs van 0 °C. Breng nu met behulp van een injectiespuit ca. 1 ml gekoelde kaliumhydroxideoplossing (4.7) in het centrale reservoir. Ga na of de ontstane gele kleur door het gevormde diazomethaan niet meer verdwijnt. Indien dit toch gebeurt, moet de methylering herhaald worden met een nieuwe hoeveelheid van ca. 200 mg diazald (4.2) <sup>(1)</sup>. Verwijder na 15 minuten het apparaat uit het bad en plaats het gedurende 12 uren bij kamertemperatuur en in nog gesloten toestand op een veilige plaats. Open het apparaat en voeg enkele druppels mierenzuuroplossing in ethylacetaat (4.15) aan de gemethyleerde oplossing toe om eventuele resten van het diazomethaan te vernietigen. Breng de vloeistof over in een maatkolf van 25 ml en vul aan met n-hexaan tot de merkstreep. Meng. Injecteer 1,5 µl in de gaschromatograaf.

6.4. **Methylering van de standaard**

Koel alle reagentia en het apparaat tot 0-4 °C gedurende 2 uren. Breng in het buitenste compartiment van het diazomethaanapparaat:

0,2 ml oplossing B (6.1.1)

1,0 ml ethylacetaat (4.1)

0,1 ml methanol (4.4).

Voer de methylering als onder 6.3 uit.

Injecteer 1,5 µl in de gaschromatograaf.

7. **GASCHROMATOGRAPHIE**

De stationaire fase moet een resolutiegraad (R) van ten minste 1,5 kunnen geven, waarbij

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

en

r<sub>1</sub> en r<sub>2</sub>: retentietijden in minuten

w<sub>1</sub> en w<sub>2</sub>: piekbreedte op halve hoogte in mm

d': de papiersnelheid van de recorder in mm per minuut.

De volgende condities geven bij voorbeeld de gewenste resultaten:

Materiaal van de kolom: roestvrij staal,

Lengte: 170 cm,

Diameter: 3 mm,

Vulling: 10 % OV-17 op Chromosorb WAW 80-100 mesh,

Temperatuur: kolom — detector — injector: 280 °C,

Draaggas: zuurstofvrije stikstof

begindruk: 2,3 bar,

debiet: 30 ml/min.

<sup>(1)</sup> Het voortbestaan van deze gele kleuring wijst op een teveel aan diazomethaan nodig voor een volledige methylering van het monster.

**8. BEREKENING****8.1. Responsiefactor van hexachlorofoen**

De responsiefactor  $k_h$  wordt berekend met betrekking tot de gekozen standaard in relatie tot het standaardmengsel:

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

waarbij:

h: hexachlorofoen,

$k_h$ : responsiefactor van h,

$m'_h$ : massa in gram van h in het mengsel,

$A'_h$ : piekoppervlak van h,

s: de gekozen interne standaard,

$m'_s$ : massa in gram van s in het mengsel,

$A'_s$ : piekoppervlak van s.

**8.2. Gehalte aan hexachlorofoen**

$$\% \text{ (m/m) hexachlorofoen} = \frac{m_s \times K_h \times A_h}{M \times A_s} \times 100$$

waarbij:

h: hexachlorofoen,

$k_h$ : responsiefactor van h,

$A_h$ : piekoppervlak van h,

s: de gekozen interne standaard,

$m_s$ : massa in gram van s in het mengsel,

$A_s$ : piekoppervlak van s,

M: massa in gram van de monsterinweeg.

**9. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>**

Bij een gehalte van 0,1 % (m/m) hexachlorofoen mag het verschil in meetuitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,005 % bedragen.

**KWANTITATIEVE BEPALING VAN TOSYLCHLORAMIDENATRIUM (CHLORAMINE T)****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de bepaling van het totaal toegevoegde tosylchloramidenatrium aan het cosmetisch produkt.

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.

**2. DEFINITIE**

Het gehalte aan tosylchloramidenatrium bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten.

**3. BEGINSEL**

Na toevoeging van zoutzuur en verwarming wordt het tosylchloramidenatrium volledig omgezet in 4-tolueensulfonamide, dat vervolgens na dunnelaagchromatografie fotodensitometrisch wordt bepaald.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Tosylchloramidenatrium (chloramine T).

4.2. Standaardoplossing van 4-tolueensulfonamide. Los 50 mg 4-tolueensulfonamide op in ethanol tot een volume van 100 ml.

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

4.4. Ether.

4.5. Ethanol 96 % (v/v).

4.6. Loopvloeistoffen voor dunnelaagchromatografie:

4.6.1. Butanol-1/ethanol 96 % (4.5)/water (40 + 4 + 9, volume).

4.6.2. Chloroform/aceton (6 + 4, volume).

4.7. Kant en klare dunnelaagplaten, silicagel 60, zonder fluorescentie-indicator.

4.8. Kaliumpermanganaat.

4.9. Zoutzuur 15 % (m/m).

4.10. Sproeivloeistof: 0,1 % (m/v) 0-toluïdine in ethanol (4.5).

**5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**

5.1. Gebruikelijke hulpmiddelen voor het laboratorium.

5.2. Gebruikelijke apparatuur voor de dunnelaagchromatografie.

5.3. Fotodensitometrische apparatuur.

**6. WERKWIJZE****6.1. Hydrolyse**

Weeg nauwkeurig ca. 1 gram (m) van het monster in een rondbodemkolf van 50 ml. Voeg toe 5 ml water en 5 ml geconcentreerd zoutzuur (4.3). Kook het mengsel onder terugvloeiokoeling gedurende een uur. Breng de nog warme suspensie met wat water over in een maatkolf van 50 ml. Koel af en vul aan met water tot de merkstreep. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij een snelheid van 3 000 omw. per minuut. Filtreer vervolgens de vloeistoffase.

**6.2. Extractie**

6.2.1. Pipetteer 30,0 ml filtraat (6.1) en extraheer dit met  $3 \times 15$  ml ether (4.4). Verzamel de etherfracties in een maatkolf van 50 ml en vul aan met ether (4.4) tot de merkstreep. Homogeniseer.

6.2.2. Pipetteer 25,0 ml van de etheroplossing (6.2.1) en damp dit droog onder een stikstofstroom. Los het residu op in 1,0 ml ethanol (4.5).

**6.3. DUNNELAAGCHROMATOGRAFIE**

6.3.1. Breng op de startplaats van een dunnelaagplaat (4.7) resp. 20  $\mu$ l van het ethanolextract (6.2.2) en 8, 12, 16, 20  $\mu$ l van de 4-tolueensulfonamidestandaard (4.2).

6.3.2. Ontwikkel de plaat met een der loopvloeistoffen 4.6.1 of 4.6.2 tot een hoogte van ca. 15 cm.

6.3.3. Droog de plaat zo goed mogelijk en plaats de plaat gedurende 2 tot 3 minuten in een chlooratmosfeer. Dit kan worden verkregen door in een afgesloten chromatografietank ca. 100 ml zoutzuur (4.9) te laten inwerken op ca. 2 gram kaliumpermanganaat (4.8). Verwijder vervolgens de overmaat chloor van de dunnelaagplaat door de plaat gedurende 5 minuten op 100 °C te verwarmen. Bespuit de plaat tenslotte met de sproeivloeistof 4.10.

**6.4. Fotodensitometrische meting**

Meet na ongeveer een uur de intensiteit van de violette vlek fotodensitometrisch bij 525 nm (5.3).

**6.5. IJklijn**

Trek de ijlijn verkregen uit de gemeten waarden van de vier 4-tolueensulfonamidestandaardvlekken door de piekhoogte uit te zetten tegen de hoeveelheden 4-tolueensulfonamide (4, 6, 8, 10  $\mu$ g).

**7. OPMERKINGEN**

De methode kan worden gecontroleerd door standaardoplossingen met 0,1 of 0,2% tosylchloramidenatrium op dezelfde manier te behandelen als het monster (6).

**8. BEREKENING**

Het gehalte in massaprocenten aan tosylchloramidenatrium kan worden berekend met de volgende formule:

$$\% \text{ (m/m) tosylchloramidenatrium} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m}$$

waarin:

1,33: factor voor de omrekening van 4-tolueensulfonamide tot tosylchloramidenatrium,

a: massa 4-tolueensulfonamide van het monster in  $\mu\text{g}$ , bepaald met behulp van de ijklijn (6.5),

m: massa in gram van de monsterinweeg (6.1).

#### 9. HERHAALBAARHEID (1)

Voor een gehalte aan tosylchloramidenatrium van 0,2 % (m/m) mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer bedragen dan 0,03 %.

### KWANTITATIEVE BEPALING VAN FLUORVERBINDINGEN IN TANDPASTA'S

#### 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De methode beschrijft de bepaling van het totale fluorgehalte in tandpasta's voor gehalten lager dan 0,25 % fluor.

#### 2. DEFINITIE

Het gehalte aan totaal fluor bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten (% m/m) fluor.

#### 3. BEGINSSEL

Het fluor van de betreffende fluorverbinding wordt omgezet in triëthylfluorsilaan (TEFS) door een rechtstreekse reactie met triëthylchlorosilaan (TECS) onder zure omstandigheden en dit wordt gelijktijdig geëxtraheerd met xyleen dat cyclohexaan als interne standaard bevat. De verkregen oplossing wordt geanalyseerd door middel van gaschromatografie.

#### 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Natriumfluoride, gedurende 1 uur op 120 °C gedroogd.

4.2. Water, tweemaal gedestilleerd of van gelijke kwaliteit.

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

4.4. Cyclohexaan (CH).

4.5. Xyleen; mag geen piek in het chromatogram bevatten voorafgaande aan de oplosmiddelpiek bij de gaschromatografische analyse zoals beschreven in dit voorschrift (6.1); zonodig wordt via destillatie (5.8) het xyleen gezuiverd.

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 4.6. Triëthylchlorosilaan (TECS, Merck of gelijke kwaliteit).
- 4.7. Standaardoplossing van fluoride:
- 4.7.1. Standaardoplossing 0,250 mg fluor/ml.  
Weeg nauwkeurig 138,1 mg natriumfluoride (4.1) en los dit op in water (4.2).  
Breng dit kwantitatief over in een maatkolf van 250 ml (5.5) en vul aan tot de streep met water (4.2). Meng.
- 4.7.2. Verdun de standaardoplossing 0,050 mg fluor/ml.  
Pipetteer 20,0 ml van de oplossing (4.7.1) in een maatkolf van 100 ml en vul aan tot de streep met water (4.2). Meng.
- 4.8. Oplossing van de interne standaard:  
Meng 1,0 ml cyclohexaan (4.4) met 5,0 ml xyleen (4.5).
- 4.9. Oplossing van trichlorosilaan met de interne standaard:  
Breng met een pipet (5.7) 0,6 ml TECS (4.6) en 0,12 ml interne standaardoplossing (4.8) over in een maatkolf van 10 ml. Vul aan tot de streep met xyleen (4.5).  
Meng.  
*NB:* Deze oplossing vers bereiden.
- 4.10. Perchloorzuur 70 % m/v.
- 4.11. Perchloorzuur 20 % m/v in water (4.2).
5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Gaschromatograaf voorzien van een vlamionisatiedetector.
- 5.3. Vortex homogenisator of gelijkwaardig apparaat.
- 5.4. Schudapparaat Buhler type SMB<sub>1</sub> of gelijkwaardig apparaat.
- 5.5. Maatkolven van polypropyleen, 100 en 250 ml.
- 5.6. Glazen centrifugebuizen, 20 ml, voorzien van met teflon beklede schroefdoppen:  
Sovirel type 611-56 of gelijkwaardig.  
Reinig de buizen en schroefdoppen als volgt: week ze een aantal uren in perchloorzuur 20 % (4.11), spoel vervolgens vijfmaal met water (4.2) en droog ze bij 100 °C.
- 5.7. Pipetten, instelbaar voor het doseren van hoeveelheden van 50 tot 200 µl en voorzien van wegwerppunten.
- 5.8. Destilleerapparaat voorzien van een Schneider met drie bollen of een gelijkwaardige Vigreux-kolom.

**6. WERKWIJZE****6.1. Analyse van het monster**

- 6.1.1. Neem een ongeopende tube tandpasta. Open de tube. Breng de gehele inhoud over in een plastic vat, meng grondig, en bewaar dit zodanig dat de inhoud goed blijft.
- 6.1.2. Weeg nauwkeurig ca. 150 mg (m) van het monster (6.1.1) in een centrifugebuis (5.6), voeg 5 ml water (4.2) toe en homogeniseer (5.3).
- 6.1.3. Voeg 1,0 ml xyleen (4.5) toe.
- 6.1.4. Voeg druppelgewijs 5 ml zoutzuur (4.3) en homogeniseer (5.3).
- 6.1.5. Pipetteer 0,5 ml van de oplossing van TECS met de interne standaard (4.9) in de centrifugebuis (5.6).
- 6.1.6. Sluit de centrifugebuis af en meng grondig gedurende 45 minuten met behulp van het Buhler schudapparaat (5.4) bij een snelheid van 150 slagen/ minuut.
- 6.1.7. Centrifugeer 10 minuten bij een snelheid waarbij een goede fasenscheiding wordt verkregen. Schroef de dop van de buis en scheid de organische fase af. Injecteer 3 µl hiervan in de gaschromatograaf (5.2).  
*NB:* Het duurt ca. 20 minuten voordat alle componenten uit de kolom zijn gekomen.
- 6.1.8. Herhaal de injectie. Bereken de gemiddelde verhouding van de piekoppervlakken ATEFS/ACH en lees de corresponderende hoeveelheid fluor af in mg (m<sub>1</sub>) op de ijklijn (6.3).
- 6.1.9. Bereken het fluorgehalte van het monster volgens de formule (7).

**6.2. Gaschromatografische condities****6.2.1. Kolom**

Materiaal: roestvrij staal,

Lengte: 180 cm,

Diameter: 3 mm,

Vulling: Gaschrom Q 80 — 100 mesh,

Stationaire fase: 20 % siliconenolie DC 200 of gelijkwaardig.

Breng de kolom gedurende een nacht bij 100 °C in evenwicht; gassnelheid 25 ml/minuut. Dit moet tijdens de bepalingen iedere nacht worden herhaald.

Breng de kolom na 4 of 5 injecties ook opnieuw in evenwicht door een half uur op 100 °C te verwarmen.

Temperatuur:

kolom 70 °C

injector 150 °C

detector 250 °C

Dragergas: stikstof 35 ml/minuut.

**6.3. IJklijn**

- 6.3.1. Breng met een pipet in een reeks van 6 reageerbuizen (5.6) 0 — 1,0 — 2,0 — 3,0 — 4,0 — 5,0 ml van de verdunde standaardoplossing (4.7.2). Breng het volume in elke buis tot 5,0 ml met water (4.2).

- 6.3.2. Voer de handelingen uit zoals beschreven onder 6.1.3 tot en met 6.1.6.
- 6.3.3. Injecteer 3 µl van de verkregen organische fase in de gaschromatograaf (5.2).
- 6.3.4. Herhaal de injectie. Bereken de gemiddelde piekoppervlakkenverhouding ATEFS/ACh.
- 6.3.5. Zet de massa (in mg) fluor van de standaarden (6.3.1) grafisch uit tegen de piekoppervlakkenverhouding ATEFS/ACh en trek de ijklijn.

## 7. BEREKENING

De formule voor de berekening is:

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

waarbij:

m: massa inweeg van het monster (6.1.2) in mg,

m<sub>1</sub>: mg fluor afgelezen uit de ijklijn (6.3).

## 8. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>

Voor een totaal fluorgehalte van ca. 0,15 % (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee naast elkaar op hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer bedragen dan 0,012 %.

# IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN ORGANISCHE KWIKVERBINDINGEN

## DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van organische kwikverbindingen, die als conserveermiddelen in oogkosmetica kunnen worden toegepast. Zij is toepasbaar op thiomersal (INN) (natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoesaat) en fenylmercurizouten.

## A. IDENTIFICATIE

### 1. PRINCIPE

De organische kwikverbindingen worden omgezet in dithizonaten en na extractie met tetrachloorkoolstof door middel van dunnelaagchromatografie geïdentificeerd. De vlekken van dithizonaat zijn te herkennen aan de oranje kleur.

### 2. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

#### 2.1. Zwavelzuur 25 % (v/v).

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.



- 2.2. 1,5-difenyl-3-thiocarbazon(dithizon)oplossing: 0,8 mg dithizon opgelost in 100 ml tetrachloorkoolstof (2.4).
- 2.3. Stikstof.
- 2.4. Tetrachloorkoolstof.
- 2.5. Loopvloeistof: Hexaanaceton (90 + 10,v).
- 2.6. Standaardoplossingen 0,001 % in water:  
natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoaat,  
ethylkwikchloride of methylkwikchloride,  
fenykwiknitraat of fenykwikacetaat,  
kwikdichloride of kwikdi(acetaat).
- 2.7. Kant en klare silicagel dunnelaagplaten (Merck 5721 of equivalent).
- 2.8. Natriumchloride.
3. HULPMIDDELEN
- 3.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 3.2. Hulpmiddelen voor de dunnelaagchromatografie.
- 3.3. Fasescheidend filtreerpapier.
4. WERKWIJZE
- 4.1. *Extractie*
- 4.1.1. Homogeniseer 1 gram van het monster en 20 ml water in een centrifugebuis. Verwarm zonodig in een warmwaterbad, doch bij niet hoger dan 60 °C. Voeg 4 g NaCl (2.7) toe, meng en koel af.
- 4.1.2. Centrifugeer om een fasescheiding te verkrijgen het mengsel gedurende 20 minuten bij een snelheid van 4 500 omw. per min. Decanteer de vloeibare fase in een scheidrechter en voeg 25 ml zwavelzuur (2.1) toe. Voer de nu volgende bewerkingen separaat doch tegelijkertijd uit met de verkregen vloeistof en met 20 ml van elk der standaardoplossingen van 2.6, waaraan 25,0 ml zwavelzuur (2.1) zijn toegevoegd.
- 4.1.3. Extraheer meerdere malen elk der bovengenoemde oplossingen met 2 ml dithizonoplossing (2.2) tot de onderste fase groen blijft.
- 4.1.4. Filtreer de verkregen organische fasen met een fasescheidend filter (3.3).
- 4.1.5. Damp de verzamelde filtraten droog in een stikstof (2.3) atmosfeer.
- 4.1.6. Los elk der residu's op in 0,5 ml tetrachloorkoolstof (2.4) en gebruik de verkregen oplossingen zo snel mogelijk voor de dunnelaagchromatografie (4.2.1).

4.2. **Dunnelaagchromatografie**

4.2.1. Breng zo snel mogelijk na de bereiding 50 µl van elk der onder 4.1.6 verkregen oplossingen op de startplaats van een dunnelaagplaat (2.7).

Behandel gelijktijdig zoals aangegeven in 4.1, 10 ml van de standaardoplossing (2.6) en breng 50 microliter van de verkregen oplossingen aan op dezelfde plaat (4.1.6).

4.2.2. Ontwikkel de plaat met loopvloeistof (2.5) tot een hoogte van 15 cm is bereikt.

De verkregen dithizonaten zijn reeds gekleurd. De oranjekleur is alleen stabiel als de plaat onmiddellijk na de verdamping van de loopvloeistof met een glazen plaat wordt afgedekt.

De volgende tabel van verkregen Rf-waarden kan nuttig zijn voor de identificatie der dithizonaatvlekken:

	Rf-waarden	Kleur
thiomersal	0,33	oranje
ethylkwikchloride	0,29	oranje
methylkwikchloride	0,29	oranje
fenylkwikzouten	0,21	oranje
kwikdichloride	0,10	oranje
kwikdi(acetaat)	0,10	oranje
1,5-difenyl-3-thiocarbazon	0,09	rose

**B. BEPALING**

1. **DEFINITIE**

Het gehalte aan organisch kwikverbinding in een produkt bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in % (m/m) kwik (Hg).

2. **BEGINSEL**

De methode bestaat uit de bepaling van totaal kwik. Het is daarom noodzakelijk om vooraf aan te tonen, dat anorganisch kwik afwezig is in het monster (zie onder A. Identificatie). Na natte mineralisatie wordt het kwik bepaald volgens de koude vlamloze atoomabsorptiemethode.

3. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

3.1. Salpeterzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,41$ ).

3.2. Zwavelzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,84$ ).

3.3. Water, gebidestilleerd.

3.4. Kaliumpermanganaat: 7 % (m/v) in water.

3.5. Hydroxylamoniumchloride: 1,5 % (m/v) in water.

3.6. Dikaliumperoxodisulfaat: 5 % (m/v) in water.

- 3.7. Tindichloride: 10 % (m/v) in water.
- 3.8. Zoutzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,18$ ).
- 3.9. Glaswol, geïmpregneerd met 1 % (m/v) palladiumdichloride in water en vervolgens gedroogd.
4. APPARATEN EN HULPMIDDELEN
- 4.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 4.2. Apparaat voor koude vlamloze atoomabsorptie en het benodigde glaswerk. Minimumweglengte van de meetcel 10 cm.
5. WERKWIJZE
- Neem de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor de microbepaling van kwik.
- 5.1. *Mineralisatie*
- 5.1.1. Weeg nauwkeurig ca. 150 mg (m) van het monster. Voeg 10 ml salpeterzuur (3.1) toe en verwarm het mengsel gedurende 3 uren in een waterbad van 55 °C in een hermetisch afgesloten vat en onder regelmatig omzwenken. Voer parallel een blanco bepaling uit.
- 5.1.2. Koel af en voeg 10 ml zwavelzuur (3.2) toe. Verwarm het mengsel nogmaals gedurende 30 minuten op een waterbad van 55 °C.
- 5.1.3. Plaats het vat op een witte glazen plaat en voeg voorzichtig 20 ml water (3.3) toe.
- 5.1.4. Voeg in hoeveelheden van ca. 2 ml kaliumpermanganaat (3.4) toe tot een blijvende paarse kleur. Verwarm dan de oplossing gedurende 15 minuten op een waterbad van 55 °C.
- 5.1.5. Voeg 4 ml dikaliumperoxodisulfaat (3.6) toe en verwarm dan gedurende 30 minuten op het waterbad van 55 °C.
- 5.1.6. Koel af en breng de inhoud van het vat over in een maatkolf van 100 ml. Spoel na met 5 ml hydroxylammoniumchloride (3.5) en vervolgens nog met 4 × 10 ml water (3.3). De aldus verkregen oplossing moet kleurloos zijn. Vul aan tot de merkstreep met water (3.3). Homogeniseer.
- 5.2. *Bepaling*
- 5.2.1. Breng 10 ml van de verkregen oplossing (5.1.6) in het vat dat bestemd is voor de koude vlamloze atoomabsorptiemethode (4.2). Verdun met 100 ml water (3.3) en vervolgens met 5 ml zwavelzuur (3.2) en 5 ml tindichloride (3.7). Meng na iedere toevoeging. Na 30 seconden zijn  $Hg^{2+}$  ionen gereduceerd tot metallisch kwik. Voer dan de bepaling uit en noteer de aflezing op het instrument.
- 5.2.2. Plaats het met palladiumdichloride geïmpregneerde glaswol (3.9) tussen het reductievat en de meetcel van het instrument (4.2). Herhaal de meting zoals beschreven onder 5.2.1. Indien de aflezing  $n$  op het instrument niet gelijk is aan 0, dan is de mineralisatie (5.1) niet volledig en dient de bepaling opnieuw te worden uitgevoerd.

**6. BEREKENING**

Het gehalte aan kwik in het monster uitgedrukt in massaprocenten wordt berekend met de volgende formule:

$$\% \text{ Hg} = n/m$$

waarbij:

n: hoeveelheid kwik in  $\mu\text{g}$  bij de bepaling onder 5.2.1,

m: massa van de monsterinweeg (5.1.1) in mg.

**7. OPMERKINGEN**

7.1. Om de mineralisatie te vergemakkelijken is het soms nodig het monster vooraf te verdunnen.

7.2. Indien het vermoeden bestaat, dat het kwik door absorptie aan het substraat is gebonden, is het noodzakelijk een standaard additiebepaling (bepaling onder toevoeging) uit te voeren.

**8. HERHAALBAARHEID (1)**

Voor een kwikgehalte van 0,007 % mag het verschil tussen de uitkomsten van twee naast elkaar op hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer bedragen dan 0,00035 %.

**KWANTITATIEVE BEPALING VAN ALKALI- EN AARDALKALISULFIDEN****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de bepaling van sulfide in cosmetische produkten. De aanwezigheid van thiolen en andere reducerende stoffen (sulfieten inbegrepen) storen de bepaling niet.

**2. DEFINITIE**

Het gehalte aan sulfide bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten zwavel.

**3. BEGINSSEL**

Na aanzuren wordt het gevormde waterstofsulfide met behulp van een stikstofstroom uit de oplossing verdreven en gefixeerd als cadmiumsulfide. Na filtratie en uitwassen van het gevormde cadmiumsulfide wordt deze stof iodometrisch bepaald.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

(1) Bepaald volgens ISO 5725 norm.

- 4.1. Zoutzuur, geconcentreerd,  $d_4^{20} = 1,19$ .
- 4.2. Gestelde thiosulfaatoplossing 0,1 N.
- 4.3. Jodiumoplossing 0,1 N.
- 4.4. Dinatriumsulfide.
- 4.5. Cadmiumdi(acetaat).
- 4.6. Ammonia, geconcentreerd,  $d_4^{20} = 0,90$ .
- 4.7. Ammoniakale cadmiumdi(acetaat)oplossing: los 10 g cadmiumdi(acetaat) (4.5) in ca. 50 ml water op, voeg ammoniak (4.6) toe tot de neerslag is opgelost (ca. 20 ml) en vul aan met water tot een volume van 100 ml.
- 4.8. Stikstof.
- 4.9. Ammoniakoplossing 1 M.
5. HULPMIDDELEN
- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 5.2. Driehalskolf van 100 ml met slijpstukken, bedoeld voor respectievelijk een scheidrecther, een gasinleidbuis en een gasafvoerbuis met bijpassende slijpstukken.
- 5.3. Twee konische kolven van 150 ml met ingeslepen hals, voorzien van een gasinleidbuis met zij-uitgang en een gasafvoerstuk.
- 5.4. Trechter met lange steel.
6. WERKWIJZE
- 6.1. *Verdrijven van zwavelwaterstof*
- 6.1.1. Kies een verpakkingseenheid van het monster uit, dat niet eerder geopend is geweest. Weeg nauwkeurig een hoeveelheid (mg) monster af, dat overeenkomt met ten hoogste 30 mg sulfide (berekend als zwavel), in de driehalskolf (5.2). Voeg 60 ml water toe en twee druppels van een antischuimmiddel.
- 6.1.2. Vul elk der beide konische kolven (5.3) met 50 ml ammoniakale cadmiumacetatoplossing (4.7).
- 6.1.3. Breng de druppeltrechter, de gasinleidbuis en de gasafvoerbuis (5.3) aan op de driehalskolf (5.2). Verbind de gasafvoerbuis ervan met behulp van een PVC-slang met de konische kolven (5.3).

*NB:* Controleer de gasdichtheid van het apparaat door onder de voorgeschreven omstandigheden (6.1.4 tot 6.1.8) de bepaling uit te voeren met 10 ml van een standaard dinatriumsulfide(4.4)-oplossing.

De bij de bepaling gevonden sulfide (jodometrisch bepaald) mag ten hoogste 3 % afwijken van de ingevoerde (eveneens jodometrisch bepaalde) hoeveelheid.

- 6.1.4. Laat gedurende 15 minuten de stikstof (4.8) door het apparaat stromen met een snelheid van ca. 2 bellen per seconde om de lucht te verdrijven.
- 6.1.5. Verwarm de kolf (5.2) op 85 °C (± 5 °C).
- 6.1.6. Stop de stikstofstroom en voeg druppelgewijs 40 ml zoutzuur (4.1) toe.
- 6.1.7. Wanneer de scheitrechter bijna leeg is (de resterende hoeveelheid dient ter afsluiting) wordt de stikstofstroom weer aangezet.
- 6.1.8. Zet de verwarming na 30 minuten af. Laat de kolf afkoelen en leid dan nog gedurende ten minste 90 minuten stikstof door.

## 6.2. *Titratie*

- 6.2.1. Filtreer de cadmiumsulfide met een filter met een lange steel (5.4).
- 6.2.2. Spoel de konische kolven (5.3) met ammoniak (4.9) en giet dit op de filter. Spoel tenslotte nog met water en gebruik dit water om het neerslag op de filter uit te wassen.
- 6.2.3. Was het neerslag nog uit met 100 ml water.
- 6.2.4. Breng het filtreerpapier met neerslag in de eerste konische kolf waar het neerslag is gevormd. Voeg 25,0 ml ( $n_1$ ) jodium (4.3) toe en vervolgens ca. 20 ml zoutzuur (4.1) en 50 ml water. Meng.
- 6.2.5. Titreer de overmaat jodium met thiosulfaat 0,1 N ( $n_2$  ml).

## 7. BEREKENING

Het gehalte aan sulfide (uitgedrukt als zwavel) in het monster wordt berekend met de volgende formule:

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

waarin:

- $n_1$ : ml toegevoegde jodiumoplossing (6.2.4),  
 $x_1$ : normaliteit van die oplossing (4.3),  
 $n_2$ : ml thiosulfaat bij de terugtitratie (6.2.5),  
 $x_2$ : normaliteit thiosulfaatoplossing (4.2),  
 $m$ : monsterinweeg (6.1.1) in gram.

## 8. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>

Voor een sulfidegehalte van ca. 2 % (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer bedragen dan 0,2 %.

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.