

Publikatieblad

van de Europese Gemeenschappen

ISSN 0378-7087

L 185

25e jaargang

30 juni 1982

Uitgave
in de Nederlandse taal

Wetgeving

Inhoud

I *Besluiten waarvan de publikatie voorwaarde is voor de toepassing*

.....

II *Besluiten waarvan de publikatie niet voorwaarde is voor de toepassing*

Commissie

82/434/EEG:

- ★ Tweede richtlijn van de Commissie van 14 mei 1982 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake analysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetische produkten te controleren 1

II

(Besluiten waarvan de publikatie niet voorwaarde is voor de toepassing)

COMMISSIE

TWEEDE RICHTLIJN VAN DE COMMISSIE

van 14 mei 1982

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

(82/434/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-Staten inzake cosmetische producten ⁽¹⁾, gewijzigd bij Richtlijn 79/661/EEG ⁽²⁾, en in het bijzonder op artikel 8, lid 1,

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

Overwegende dat alle noodzakelijke analysemethoden zo spoedig mogelijk dienen te worden vastgesteld en dat, aangezien de eerste stap voor het bereiken van dit doel is verwezenlijkt door het vaststellen van bepaalde methoden in Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie ⁽³⁾, het vaststellen van methoden voor de identificatie van oxidatiemiddelen en de kwantitatieve bepaling van waterstofperoxide in haarverzorgingsproducten, voor

de identificatie en semi-kwantitatieve bepaling van enkele oxidatiekleurstoffen in haarkleurmiddelen, voor de identificatie en de kwantitatieve bepaling van nitriet, voor de identificatie en de kwantitatieve bepaling van vrij formaldehyde, voor de kwantitatieve bepaling van resorcinol in shampoos en haarlotions en voor de kwantitatieve bepaling van methanol in verhouding tot ethanol of 2-propanol een tweede stap in deze richting zijn;

Overwegende dat de in de 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-Staten nemen alle nodige maatregelen opdat bij de officiële controles van cosmetische producten

- de identificatie van oxidatiemiddelen en de kwantitatieve bepaling van waterstofperoxide in producten voor de haarverzorging,
- de identificatie en semi-kwantitatieve bepaling van enkele oxidatiekleurstoffen in haarkleurmiddelen,
- de identificatie en de kwantitatieve bepaling van nitriet,
- de identificatie en kwantitatieve bepaling van vrij formaldehyde,

⁽¹⁾ PB nr. L 262 van 27. 9. 1976, blz. 169.

⁽²⁾ PB nr. L 192 van 31. 7. 1979, blz. 35.

⁽³⁾ BP nr. L 383 van 31. 12. 1980, blz. 27.

- de kwantitatieve bepaling van resorcinol in shampoo's en haarlotions,
- de kwantitatieve bepaling van methanol in verhouding tot ethanol of 2-propanol,

worden uitgevoerd volgens de in de bijlage beschreven methoden.

Artikel 2

De Lid-Staten doen de wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 31 decem-

ber 1983 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, 14 mei 1982.

Voor de Commissie

Karl-Heinz NARJES

Lid van de Commissie

BIJLAGE

I. DE IDENTIFICATIE VAN ENKELE OXIDATIEMIDDELEN EN DE KWANTITATIEVE
BEPALING VAN WATERSTOFFEROXIDE IN PRODUCTEN VOOR DE HAARVERZORGING

DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De jodometrische bepaling van waterstofperoxide in cosmetica is mogelijk bij afwezigheid van andere oxidatiemiddelen die uit jodiden jodium vrij maken. Voorafgaande aan de jodometrische bepaling van waterstofperoxide is het dan ook noodzakelijk eventueel aanwezige andere oxidatiemiddelen op te sporen en te identificeren. Deze identificatie valt uiteen in twee delen; het eerste deel omvat de persulfaten, de bromaten en waterstofperoxide en het tweede deel bariumperoxide.

A. DE IDENTIFICATIE VAN PERSULFATEN, BROMATEN ALSMEDE WATERSTOFFEROXIDE

1. BEGINSSEL

Natrium-, kalium- en ammoniumpersulfaat, kalium- en natriumbromaat alsmede waterstofperoxide — al dan niet afkomstig van bariumperoxide — worden geïdentificeerd met behulp van dalende papierchromatografie waarbij gebruik gemaakt wordt van twee loopvloeistoffen.

2. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

2.1. Referentieoplossingen 0,5 % (m/v) in water van de volgende verbindingen:

2.1.1. Natriumpersulfaat

2.1.2. Kaliumpersulfaat

2.1.3. Ammoniumpersulfaat

2.1.4. Kaliumbromaat

2.1.5. Natriumbromaat

2.1.6. Waterstofperoxide.

2.2. Loopvloeistof A, ethanol 80 % (v/v).

2.3. Loopvloeistof B, benzeen-mathanol-isoamylalcohol-water (34+38+18+10, v).

2.4. Detectiemiddel A, kaliumjodideoplossing 10 % (m/v) in water.

2.5. Detectiemiddel B, zetmeeloplossing 1 % (m/v) in water.

2.6. Detectiemiddel C, zoutzuur 10 % (m/m).

2.7. Zoutzuur 4 N.

3. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

3.1. Papier voor chromatografie (Whatman nr. 3 en nr. 4 of gelijkwaardig).

3.2. Micropipet van 1 µl.

3.3. Maatkolven van 100 ml.

3.4. Vouwfilters.

3.5. Gebruikelijke uitrusting voor het uitvoeren van dalende papierchromatografie.

4. MONSTERVOORBEREIDING

4.1. In water oplosbare produkten

Maak van elk monster een tweetal oplossingen door respectievelijk 1 en 5 gram produkt op te lossen in 100 ml water. Gebruik van elk van deze oplossingen 1 µl voor het uitvoeren van de onder 5 beschreven papierchromatografie.

4.2. Gedeeltelijk in water oplosbare produkten

4.2.1. Weeg respectievelijk 1 en 5 gram monster af en suspendeer in 50 ml water, vul beide suspensies met water aan tot 100 ml en meng. Filtreer beide suspensies over een vouwfilter (3.4) en gebruik van elk van de filtraten 1 µl voor het uitvoeren van de onder 5 beschreven papierchromatografie.

4.2.2. Bereid nogmaals van elk monster een tweetal suspensies door respectievelijk 1 en 5 gram te suspenderen in 50 ml water, zuur met verdund zoutzuur (2.7) aan, vul met water aan tot 100 ml en meng. Filtreer de suspensies door een vouwfilter (3.4) en gebruik 1 µl van beide filtraten voor het uitvoeren van de onder 5 beschreven papierchromatografie.

4.3. Crèmes

Homogeniseer respectievelijk 5 en 20 gram van elk produkt in 100 ml water en gebruik de suspensies voor het uitvoeren van de onder 5 beschreven papierchromatografie.

5. WERKWIJZE

5.1. Breng in een tweetal chromatografiebakken voor het uitvoeren van dalende papierchromatografie een geschikte hoeveelheid van de loopvloeistoffen A (2.2) respectievelijk B (2.3). Verzadig de chromatografiebakken gedurende ten minste 24 uur met dampen van de loopvloeistoffen.

5.2. Breng op een strook papier voor chromatografie (Whatman nr. 3 of gelijkwaardig (3.1)) van 40 cm lang en 20 cm breed of een ander geschikt formaat per startpunt 1 µl van één der onder 4 en 2.1 bereide monster- en referentieoplossingen en laat het oplosmiddel aan de lucht verdampen.

5.3. Plaats het papier (5.2) in de chromatografiebak gevuld met loopvloeistof A (5.1) en chromatografeer tot de loopafstand van het front 35 cm bedraagt (ongeveer 15 uren).

5.4. Herhaal de bewerkingen onder 5.2 en 5.3 met geschikt papier voor chromatografie (Whatman nr. 4 of gelijkwaardig (3.1)) en loopvloeistof B (2.3). Chromatografeer tot de loopafstand van het front 35 cm bedraagt (ongeveer 5 uren).

5.5. Neem na het ontwikkelen de papierstroken uit de bakken en droog deze aan de lucht.

5.6. Maak de vlekken in het chromatogram zichtbaar door de papierstroken achtereenvolgens als volgt te bespuiten:

5.6.1. Met detectiemiddel A (2.4) kort daarna gevolgd door detectiemiddel B (2.5). Eerst verschijnen nu de vlekken van de persulfaten en vervolgens die van waterstofperoxide in het chromatogram. Markeer de vlekken met een potlood.

5.6.2. Met detectiemiddel C (2.6) de chromatogrammen verkregen onder 5.6.1. Aanwezige bromaten worden nu in het chromatogram als grijsblauwe vlekken zichtbaar.

5.7. De Rf-waarden van de referentiestoffen (2.1) bedragen onder de hiervoor beschreven omstandigheden van de loopvloeistoffen A (2.2) en B (2.3):

	<i>loopvloeistof A (2.2)</i>	<i>loopvloeistof B (2.3)</i>
Natriumpersulfaat	0,40	0,10
Kaliumpersulfaat	0,40	0,02 + 0,05
Ammoniumpersulfaat	0,50	0,10 + 0,20
Natriumbromaat	0,40	0,20
Kaliumbromaat	0,40	0,10 + 0,20
Waterstofperoxide	0,80	0,80

B. DE IDENTIFICATIE VAN BARIUMPEROXIDE

1. **BEGINSEL**

De aanwezigheid van bariumperoxide wordt enerzijds middels papierchromatografie aangetoond via het gevormde waterstofperoxide na aanzuren van het monster (methode A, 4.2) en anderzijds door een identificatiereactie op het bariumion.

— Indien persulfaten (A) afwezig zijn wordt aan een deel van de zure monsteroplossing (B, 4.1) verdund zwavelzuur toegevoegd waardoor een wit neerslag van bariumsulfaat ontstaat. De aanwezigheid van bariumionen in de monsteroplossing (B, 4.1) wordt middels papierchromatografie op de hierna beschreven wijze (B, 5) nogmaals bevestigd.

— Indien echter bariumperoxide en persulfaten gelijktijdig aanwezig zijn (B, 4.2) moet het residu van de oplossing alkalisch worden ontsloten en vervolgens in het residu van de smelt (B, 4.2.3), na oplossen in zoutzuur, de aanwezigheid van bariumionen zowel papierchromatografisch als via bariumsulfaat bevestigd worden.

2. **REAGENTIA**

2.1. Methanol.

2.2. Zoutzuur gec. 36 % (m/m).

2.3. Zoutzuur 6 N.

2.4. Zwavelzuur 4 N.

2.5. Dinatriumrhodizonaat.

2.6. Bariumchloride ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).

2.7. Natriumcarbonaat, watervrij.

2.8. Bariumchloride oplossing 1 % (m/v) in water.

2.9. Loopvloeistof methanol-zoutzuur gec. (36 %-ig)-water (80+10+10, v).

2.10. Detectiemiddel, dinatriumrhodizonaatoplossing 0,1 % (m/v) in water; bereid de oplossing vlak voor het gebruik.

3. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**3.1. Micropipet 5 μl .

3.2. Platina kroezen.

3.3. Maatkolven van 100 ml.

3.4. Chromatografiepapier (Schleicher en Schüll 2043 b of gelijkwaardig). Reinig het papier door dit gedurende één nacht in de chromatografiebak voor dalende chromatografie (A, 3.5) te ontwikkelen in de loopvloeistof (B, 2.9) en vervolgens te drogen.

3.5. Vouwfilters.

3.6. Gebruikelijke uitrusting voor het uitvoeren van stijgende papierchromatografie.

4. **MONSTERVOORBEREIDING**4.1. **Produkten zonder persulfaten**

4.1.1. Homogeniseer 2 gram product in 50 ml water en breng de pH van de oplossing door middel van zoutzuur (B, 2.3) ongeveer op 1.

- 4.1.2. Breng de oplossing of suspensie met water over in een maatkolf van 100 ml, vul met water tot de maatstreep aan en meng. Gebruik deze oplossing voor het onder B, 5 beschreven papierchromatografisch onderzoek en voor de identificatie van het bariumion door het als bariumsulfaat neer te slaan.
- 4.2. **Produkten met persulfaten**
- 4.2.1. Homogeniseer 2 gram produkt in 100 ml water en filtreer.
- 4.2.2. Voeg aan het gedroogde residu 7 tot 10 maal de massa aan natriumcarbonaat toe (B, 2.7). Meng en verhit het mengsel in een platinakroes (B, 3.2) gedurende een half uur.
- 4.2.3. Koel af tot kamertemperatuur, suspendeer de smelt in 50 ml water en filtreer (B, 3.5).
- 4.2.4. Los het residu van de smelt op in zoutzuur 6 N (B, 2.3) en vul met water aan tot 100 ml. Gebruik deze oplossing voor het onder B, 5 beschreven papierchromatografisch onderzoek.

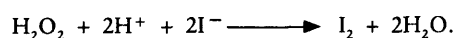
5. WERKWIJZE

- 5.1. Breng in een chromatografiebak voor stijgende papierchromatografie (B, 3.6) een geschikte hoeveelheid loopvloeistof (B, 2.9) en verzadig de bak gedurende ten minste 15 uren.
- 5.2. Breng op een stuk chromatografiepapier — voorbehandeld als aangegeven onder B, 3.4 — verdeeld over een drietal startpunten respectievelijk 5 µl van elk der onder B, 4.1.2 en B, 4.2.4 bereide oplossingen en de referentieoplossing (B, 2.8).
- 5.3. Laat het oplosmiddel aan de lucht verdampen en chromatografeer verticaal over een loopafstand van 30 cm.
- 5.4. Neem het chromatografiepapier uit de chromatografiebak en droog het aan de lucht.
- 5.5. Maak de vlekken in het chromatogram zichtbaar door het chromatografiepapier te bespuiten met het detectiemiddel (B, 2.10). Bij aanwezigheid van barium ontstaan rode vlekken met een Rf-waarde van ongeveer 0,10.

C. DE BEPALING VAN WATERSTOFPEROXIDE

1. BEGINSEL

De jodometrische bepaling van waterstofperoxide berust op de volgende reactie:



Deze omzetting verloopt traag maar kan door toevoeging van ammoniummolybdaat worden versneld. Het gevormde jodium wordt met natriumthiosulfaatoplossing titrimetrisch bepaald en is een maat voor het gehalte aan waterstofperoxide.

2. DEFINITIE

Het gehalte aan waterstofperoxide bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) van de waar.

3. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

- 3.1. Zwavelzuur 2 N.
- 3.2. Kaliumjodide.
- 3.3. Ammoniummolybdaat.
- 3.4. Natriumthiosulfaatoplossing 0,1 N.

- 3.5. Kaliumjodideoplossing 10 % (m/v). Bereid deze oplossing vlak voor het gebruik.
- 3.6. Ammoniummolybdaatoplossing 20 % (m/v).
- 3.7. Zetmeeloplossing 1 % (m/v).

4. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- 4.1. Bekerglazen van 100 ml.
- 4.2. Buret van 50 ml.
- 4.3. Maatkolven van 250 ml.
- 4.4. Maatcilinders van 25 en 100 ml.
- 4.5. Volpipetten van 10 ml.
- 4.6. Konische kolven van 250 ml.

5. WERKWIJZE

- 5.1. Weeg nauwkeurig in een bekersglas van 100 ml een hoeveelheid van het produkt af (m gram), die overeenkomt met 0,6 gram waterstofperoxide. Breng dit kwantitatief met water over in een maatkolf van 250 ml. Vul met water tot de maatstreep aan en meng.
- 5.2. Pipetteer 10 ml van deze oplossing (C, 5.1) in een 250 ml konische kolf (C, 4.6) en voeg achtereenvolgens toe 100 ml zwavelzuur 2 N (C, 3.1), 20 ml kaliumjodideoplossing (C, 3.5) evenals drie druppels ammoniummolybdaatoplossing (C, 3.6).
- 5.3. Titreer onmiddellijk het gevormde jodium met 0,1 N natriumthiosulfaatoplossing (C, 3.4). Voeg vlak voor het bereiken van het equivalentiepunt enkele milliliters zetmeeloplossing (C, 3.7) toe als indicator. Noteer het verbruik van natriumthiosulfaat 0,1 N in ml (V ml).
- 5.4. Voer op de wijze als onder C, 5.2 en C, 5.3 beschreven een blancobepaling uit waarbij de 10 ml monsteroplossing zijn vervangen door 10 ml water. Noteer het verbruik van natriumthiosulfaat 0,1 N van de blancobepaling (V₀ ml).

6. BEREKENING

Bereken het gehalte aan waterstofperoxide van de waar in massaprocenten (m/m) met behulp van de formule:

$$\% \text{ waterstofperoxide} = \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1000} \text{ of}$$

$$\% \text{ waterstofperoxide} = \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m}$$

waarin:

m = de hoeveelheid in onderzoek genomen monster in grammen (C, 5.1)

V₀ = het verbruik in ml 0,1 N thiosulfaatoplossing van de blancobepaling (C, 5.4)

V = het verbruik in ml 0,1 N thiosulfaatoplossing van de titratie van de monsteroplossing (C, 5.3).

7. HERHAALBAARHEID ⁽¹⁾

Voor monsters met een waterstofperoxidegehalte van 6 % (m/m) 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 bedragen dan 0,2 %.

⁽¹⁾ Bepaald vlg. ISO 5725.

II. DE IDENTIFICATIE EN SEMI-KWANTITATIEVE BEPALING VAN ENKELE OXIDATIEKLEURSTOFFEN IN HAARKLEURMIDDELEN

1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de identificatie en semi-kwantitatieve bepaling van de navolgende verbindingen aanwezig in crèmevormige of vloeibare haarkleurmiddelen.

Verbinding	Symbool
<i>diaminobenzenen</i>	
1,2-diaminobenzeen (<i>o</i> -fenyleendiamine)	OFD
1,3-diaminobenzeen (<i>m</i> -fenyleendiamine)	MFD
1,4-diaminobenzeen (<i>p</i> -fenyleendiamine)	PFD
<i>diaminotoluenen</i>	
3,4-diaminotolueen (<i>o</i> -toluyleendiamine)	OTD
2,4-diaminotolueen (<i>m</i> -toluyleendiamine)	MTD
2,5-diaminotolueen (<i>p</i> -toluyleendiamine)	PTD
<i>diaminofenolen</i>	
2,4-diaminofenol	DAF
<i>hydrochinon</i>	
1,4-dihydroxybenzeen	H
<i>α-naftol</i>	
	α -N
<i>pyrogallol</i>	
1,2,3-trihydroxybenzeen	P
<i>resorcinol</i>	
1,3-dihydroxybenzeen	R

2. BEGINSEL

De oxidatiekleurstoffen worden bij pH 10 met behulp van ethanol 96 %-ig uit de crèmevormige of vloeibare haarkleurmiddelen geëxtraheerd en door middel van een- (5) en/of tweedimensionale (6) dunnelaagchromatografie geïdentificeerd.

Om de semi-kwantitatieve bepaling van de stoffen uit te voeren vergelijkt men het chromatogram van de monsters verkregen met behulp van vier loopvloeistoffen met dat van de oplossingen van de gelijktijdig en onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden gechromatografeerde referentiestoffen.

3. REAGENTIA

Indien niet uitdrukkelijk anders vermeld dienen alle reagentia van analytische kwaliteit te zijn.

- 3.1. Ethanol, absoluut.
- 3.2. Aceton.
- 3.3. Ethanol 96 % (v/v).
- 3.4. Ammoniak 25 % ($d_{20}^4 = 0,91$).

- 3.5. L(+)-Ascorbinezuur.
- 3.6. Chloroform.
- 3.7. Cyclohexaan.
- 3.8. Stikstof, kwaliteit technisch.
- 3.9. Toluëen.
- 3.10. Benzeen.
- 3.11. Butanol-1.
- 3.12. Butanol-2.
- 3.13. Onderfosforig zuur, (H₃PO₂) 50 % in water.
- 3.14. Diazoreagens; hiervoor kunnen de volgende produkten worden gebruikt:
- 4-nitro-1-benzeendiazoniumzout gestabiliseerd bij voorbeeld met chloorbenzeensulfonaat (Rood 2 JN van Francolor of equivalent).
 - 2-chloor-4-nitro-1-benzeendiazoniumzout gestabiliseerd bij voorbeeld met naftaleensulfonaat (NNCD Reagent — artikel nr. 74150 van FLUKA of equivalent).
- 3.15. Zilvernitraat.
- 3.16. *p*-Dimethylaminobenzaldehyde.
- 3.17. 2,5-Dimethylfenol.
- 3.18. IJzer(III)chloride, FeCl₃·6H₂O.
- 3.19. Zoutzuur 10 % (m/v).
- 3.20. **Referentiestoffen**
- De referentiestoffen zijn in paragraaf 1 „doel en toepassingsgebied” vermeld.
- Aminoverbindingen kunnen als (mono- of di)chloride of als vrije base worden gebruikt. Gebruik géén sulfaten als referentiestof.
- 3.21. **Referentieoplossingen, 0,5 % (m/v)**
- Bereid een 0,5 %-oplossing (m/v) van elk van de referentiestoffen genoemd in 3.20.
- Weeg hiertoe 50 ± 1 mg referentiestof af, breng deze over in een maatkolf van 10 ml. Voeg 5 ml ethanol 96 % en 250 mg ascorbinezuur (3.5) toe. Breng de pH met ammoniakoplossing (3.4) op pH = 10, vul aan tot 10 ml met ethanol 96 % (3.3) en meng.
- Opmerkingen:*
- De oplossingen zijn, op een koele en donkere plaats bewaard, gedurende één week stabiel.
- In bepaalde gevallen ontstaat bij toevoeging van ascorbinezuur en ammoniak een neerslag. Na het bezinken wordt de bovenstaande vloeistof gebruikt voor het verdere onderzoek.
- 3.22. **Loopvloeistoffen**
- 3.22.1. Aceton-chloroform-toluëen (35+25+40, v).
- 3.22.2. Chloroform-cyclohexaan-ethanol (absoluut)-ammoniak 25 %-ig (80+10+10+1, v).
- 3.22.3. Benzeen-butanol-2-water (50+25+25, v). Schud het mengsel krachtig, laat de fasen scheiden bij kamertemperatuur (20 tot 25 °C) en gebruik de bovenste fase.
- 3.22.4. Butanol-1-chloroform-reagens M (7+70+23, v). Schud het mengsel krachtig. Laat de fasen scheiden bij 20 tot 25 °C en neem de onderste fase.

Bereid reagens M door menging van:

— ammoniak 25 % (3.4)	24 volumedelen
— onderfosforig zuur 50 % (3.13)	1 volumedeel
— H ₂ O	75 volumedelen.

3.23. Detectiemiddelen

3.23.1. Diazoreagens:

Maak een 5 %-oplossing (m/v) van het reagens 3.14 in water. Deze oplossing moet worden bereid op het ogenblik van het gebruik.

3.23.2. Reagens van Ehrlich:

Los 2 g *p*-dimethylaminobenzaldehyde (3.16) op in 100 ml zoutzuur 10 %-oplossing (m/v) in water (3.19).

3.23.3. 2,5-Dimethylfenol/ferrichloridereagens:

Oplossing 1: Los 1 g 2,5-dimethylfenol (3.17) op in 100 ml ethanol 96 % (3.3).

Oplossing 2: Los 4 g ferrichloride · 6H₂O (3.18) op in 100 ml ethanol 96 % (3.3).

Deze oplossingen moeten zonder te worden gemengd in de aangegeven volgorde worden gebruikt. Bij het zichtbaar maken van de vlekken wordt het chromatogram eerst met oplossing 1 en vervolgens met oplossing 2 bespoten.

3.23.4. Ammoniakale zilvernitraatoplossing:

Voeg aan een 5 %-oplossing (m/v) van zilvernitraat (3.15) in water zoveel ammoniak 25 % (3.4) toe tot het neerslag van AgOH is opgelost.

Dit reagens moet worden bereid op het ogenblik van het gebruik. De oplossing kan niet worden bewaard!

4. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

4.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting voor dunnelaagchromatografie evenals:

4.1.1. Plastic of glazen bak waarin de dunnelaagplaat onder stikstof kan worden bewaard. Deze voorzorgsmaatregel is noodzakelijk gezien de grote oxidatiegevoeligheid van sommige kleurstoffen.

4.1.2. Injectiespuit van 10 µl, met een schaalverdeling van 0,2 µl en voorzien van een naald met een recht afgesneden punt of „repeating dispenser” van 50 µl eveneens voorzien van een recht afgesneden punt en zodanig op een statief gemonteerd, dat op de dunnelaagplaat onder stikstof kan worden aangebracht.

4.1.3. Kant en klaar dunnelaagplaten Machery en Nagel silicagel G-HR of gelijkwaardig. Formaat 20 × 20 cm, dikte van de adsorbenslaag 0,25 mm.

4.2. Centrifuge, instelbaar op 4 000 toeren per minuut.

4.3. Centrifugebuizen van 10 ml voorzien van schroefdop met septum.

5. WERKWIJZE

5.1. Voorbereiding van de monsters

Verwijder bij monsters verpakt in tubes de eerste 2 tot 3 cm van de crème. Breng in een vooraf met stikstof gespoelde centrifugebuis (4.3) 300 mg ascorbinezuur (3.5) evenals 3,0 g crème of 3,0 g gehomogeniseerde vloeistof.

Voeg enkele druppels ammoniak 25 % (3.4) toe indien de pH lager is dan 10 en vul aan tot 10 ml met ethanol 96 % (3.3). Sluit de centrifugebuis af met de bijbehorende schroefdop met septum, homogeniseer en centrifugeer gedurende 10 minuten bij 4 000 toeren per minuut. Gebruik de vloeistoffase voor het navolgend beschreven dunnelaagchromatografisch onderzoek.

5.2. Chromatografie**5.2.1. Het opbrengen:**

Breng op een plaat voor dunnelaagchromatografie (4.1.3) op een negental startpunten op ongeveer 1,5 cm van de onderrand van de dunnelaagplaat en met een onderlinge afstand van circa 1,5 cm onder stikstof op 1 µl van elk van de referentieoplossingen (3.21). Verdeel de referentieoplossingen als volgt over de startpunten:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PFD	DAF	PTD	OFD	OTD	MFD
MTD	α-N							

Breng op de startpunten 10 en 11 telkens 2 µl van de onder 5.1 verkregen monsteroplossingen op.

Bewaar de plaat onder stikstof tot aan het moment van chromatograferen.

5.2.2. Het ontwikkelen:

Plaats de plaat (5.2.1) in een vooraf met stikstof gespoelde chromatografiebak waarin zich een passende hoeveelheid van één der onder 3.22 genoemde loopvloeistoffen bevindt en die is verzadigd met de dampen van deze loopvloeistof. Chromatografeer, bij kamertemperatuur (20 tot 25 °C) en op een donkere plaats, tot de loopafstand van het front 15 cm bedraagt.

Neem de plaat uit de chromatografiebak en droog onder stikstof bij kamertemperatuur.

5.2.3. De detectie:

Bespuit onmiddellijk na het drogen (5.2.2) de plaat met een van de onder 3.23 genoemde vier detectiemiddelen.

5.2.4. De identificatie:

Identificeer de oxidatiekleurstoffen aanwezig in het monster met behulp van de Rf-waarden en de kleur van de vlekken in de chromatogrammen verkregen door chromatograferen in de loopvloeistoffen 3.22 en bespuiten met de detectiemiddelen 3.23. Vergelijk hiertoe de Rf-waarden en de kleur van de vlekken in het chromatogram van het monster met die van de gelijktijdig gechromatografeerde referentiestoffen zowel als met de kleuren en Rf-waarden voor de referentiestoffen vermeld in tabel I.

5.2.5. De semi-kwantitatieve bepaling:

Het gehalte van elke oxidatiekleurstof aanwezig in het monster wordt bepaald door visuele vergelijking van de intensiteit van de vlekken in het chromatogram van het monster met die van een reeks van vlekken met bekende concentratie van de geïdentificeerde verbindingen. Verdun de monsteroplossing 5.1 indien de semi-kwantitatieve bepaling wordt bemoeilijkt doordat een (de) verbinding(en) in te hoge concentratie aanwezig zijn. Verdun de monsteroplossing eveneens indien het geschatte gehalte van één van de geïdentificeerde oxidatiekleurstoffen méér dan 0,25 % bedraagt.

TABEL I

Rf-waarden en kleuren na detectie van de referentiestoffen

Referentiestoffen (3.20)	Loopvloeistoffen				Detectiemiddelen			
	Rf-waarde				Kleur			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Diazoreagens (3.23.1)	Ehrlich-reagens (3.23.2)	Dimethylfenol- ferrichloridereagens (3.23.3)	Zilvernitraat- reagens (3.23.4)
OFD	0,62	0,60	0,30	0,57	zwak bruin	—	—	zwak bruin
MFD	0,40	0,60	0,47	0,48	*violetbruin	geel	zwak bruin	zwak bruin
PFD	0,20	0,50	0,30	0,48	bruin	*helrood	violet	grijs
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	*bruin	zwak oranje	zwak bruin	grijsbruin
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	*roodbruin	geel	bruin	zwart
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	bruin	oranje	*violet	grijs
DAF	0,07	—	0	0,05	*bruin	oranje	violet	bruin
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	oranje	violet	*zwart
α -N	0,90	0,80	0,90	0,75	oranjebruin	—	*violet	zwart
P	0,37	—	0,67	0-0,05	bruin	zeer zwak violet	zeer zwak bruin	*bruin
R	0,50	0,37	0,80	0,17	*oranje	zwak violet	zeer zwak bruin	zwak bruin

- Opmerkingen:* 1. De kleur van de OFD-vlek in het chromatogram is zwak; loopvloeistof 3.22.3 moet worden gebruikt om OFD duidelijk van OTD te scheiden.
2. * geeft de beste detectie aan.

6. ONDERZOEK DOOR MIDDEL VAN TWEEDIMENSIONALE DUNNELAAG-CHROMATOGRAPHIE

Voor het uitvoeren van de hier beschreven tweedimensionale dunnelaagchromatografie zijn nog de volgende aanvullende reagentia en hulpstoffen benodigd:

6.1. Extra referentiestoffen en -oplossingen

- 6.1.1. β -Naftol (β -N)
- 6.1.2. 2-Aminofenol (OAF)
- 6.1.3. 3-Aminofenol (MAF)
- 6.1.4. 4-Aminofenol (PAF)
- 6.1.5. 2-Nitro-*p*-fenyleendiamine (2-NPPD)
- 6.1.6. 4-Nitro-*o*-fenyleendiamine (4-NOFD)

Bereid een 0,5 %-oplossing (m/v) van iedere extra referentiestof op de wijze aangegeven in 3.2.1.

6.2. Extra loopvloeistof

- 6.2.1. Ethylacetaat-cyclohexaan-ammoniak 25 % (65+35+0,5, v)

6.3. Extra detectiemiddel

Plaats een glazen schaal waarin ongeveer 2 g gekristalliseerd jodium aanwezig is, in een chromatografiebak en sluit deze goed af met een passend deksel.

6.4. Chromatografie

- 6.4.1. Maak zoals aangegeven in figuur 1, een tweetal groeven in de adsorbenslaag van een plaat voor dunnelaagchromatografie (4.1.3).
- 6.4.2. Breng 1 tot 4 μl extract (5.1) onder stikstof op op startpunt 1 (figuur 1), dat zich op 2 cm van de twee zijden bevindt. De hoeveelheid extract hangt af van de intensiteit van de in het chromatogram (5.2) verkregen vlekken.
- 6.4.3. Breng, verdeeld over de punten 2 en 3 (figuur 1) de in 5.2 geïdentificeerde (of vermeend geïdentificeerde) oxidatiekleurstoffen op. De afstand tussen de punten bedraagt 1,5 cm. Van iedere referentieoplossing wordt 2 μl opgebracht met uitzondering van DAF, waarvan 6 μl nodig is. Breng op onder stikstof.
- 6.4.4. Herhaal de in 6.4.3 beschreven handelingen voor de startpunten 4 en 5 (figuur 1) en bewaar de plaat tot het chromatograferen onder stikstof.
- 6.4.5. Spoel een chromatografiebak met stikstof en breng een passende hoeveelheid loopvloeistof (3.22.2) in de bak. Plaats de dunnelaagplaat 6.4.4 in de bak en chromatografeer op een donkere plaats in de eerste looprichting (figuur 1). Chromatografeer tot het front van de loopvloeistof de onderbreking van de adsorbenslaag heeft bereikt (13 cm).
- 6.4.6. Neem de plaat uit de chromatografiebak en plaats hem ter verdamping van de loopvloeistofresten gedurende ten minste 60 minuten in de bak (4.1) die met stikstof wordt gespoeld.
- 6.4.7. Breng met behulp van een maatcilinder een passende hoeveelheid loopvloeistof (6.2.1) in een met stikstof gespoelde chromatografiebak, plaats de dunnelaagplaat 90° gedraaid ten opzichte van de eerste looprichting (6.4.6) in de bak en chromatografeer (op een donkere plaats) in de tweede looprichting tot het front van de loopvloeistof de onderbreking in de adsorbenslaag bereikt. Neem de plaat uit de chromatografiebak en laat de loopvloeistof aan de lucht verdampen.
- 6.4.8. Plaats de plaat gedurende 10 minuten in de chromatografiebak met jodiumdampen (6.3) en interpreteer het tweedimensionale chromatogram met behulp van de Rf-waarden en de kleur van de gelijktijdig gechromatografeerde referentiestoffen (tabel II).

Opmerking

Ter verkrijging van een zo sterk mogelijke kleuring van de vlekken wordt het chromatogram na de detectie een half uur lang aan de lucht blootgesteld.

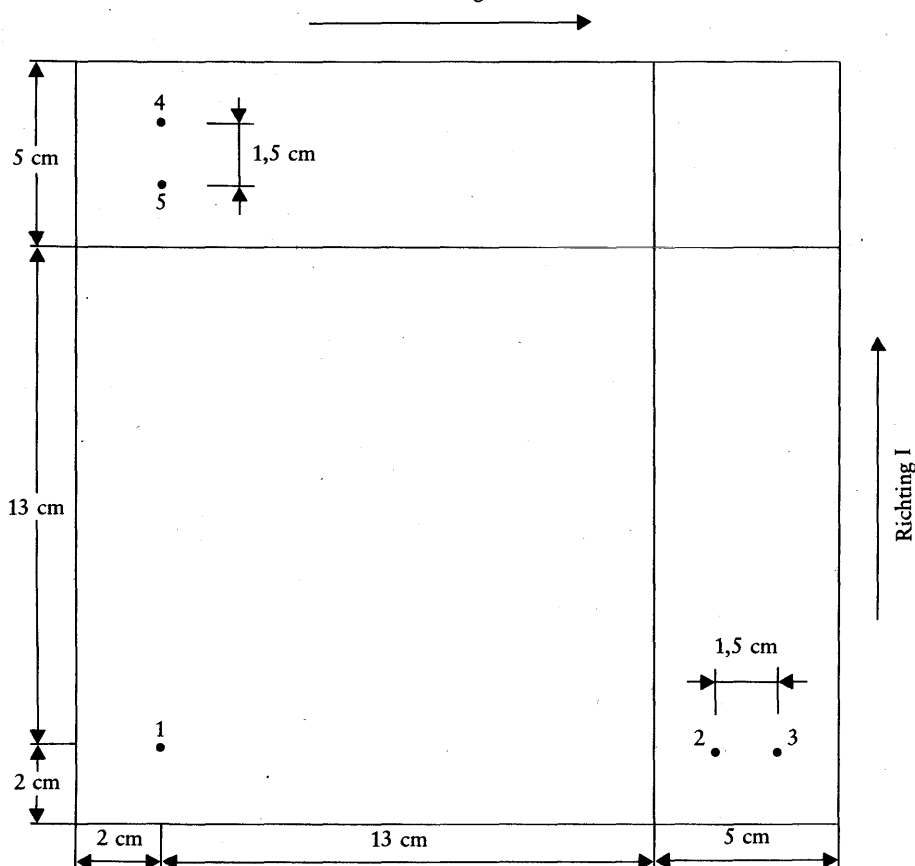
- 6.4.9. De aanwezigheid van de in 6.4.8 gevonden oxidatiekleurstoffen kan op ondubbelzinnige wijze worden bevestigd door de onder 6.4.1 tot en met 6.4.8 beschreven werkwijze opnieuw toe te passen en daarbij op het startpunt 1, behalve de in 6.4.2 voorgeschreven hoeveelheid extract ook 1 μl van de in 6.4.8 geïdentificeerde referentiestoffen op te brengen.
- Als het chromatogram in vergelijking met het in 6.4.8 verkregen beeld geen andere vlekken vertoont, was de interpretatie van het chromatogram 6.4.8 juist.

TABEL II

Kleur van de referentiestoffen na chromatografie en detectie met jodiumdampen

Referentiestoffen	Kleuren na detectie met jodiumdampen
R	beige
P	bruin
α -N	paars
β -N	helder bruin
H	paarsbruin
MFD	geelbruin
PFD	paarsbruin
MTD	donkerbruin
PTD	geelbruin
DAF	donkerbruin
AOF	oranje
MAF	geelbruin
PAF	paarsbruin
2-NPFD	bruin
4-NOFD	oranje

Figuur 1
Richting II



III. DE IDENTIFICATIE EN DE KWANTITATIEVE BEPALING VAN NITRIET

A. DE IDENTIFICATIE

1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode is geschikt voor de identificatie van nitriet in cosmetica.

De methode is in het bijzonder toepasbaar op crèmes en pasta-achtige produkten evenals tandpasta.

2. BEGINSSEL

Het specifiek aantonen van nitriet geschiedt met behulp van het fenyldiazoon van 2-aminobenzaldehyde.

3. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

3.1. Verdund zwavelzuur: Verdun 2 ml geconcentreerd zwavelzuur ($d_4^{20} = 1,84$) met 11 ml gedestilleerd water.

3.2. Verdund zoutzuur: Verdun 1 ml geconcentreerd zoutzuur ($d_4^{20} = 1,19$) met 11 ml gedestilleerd water.

3.3. Methanol.

3.4. Oplossing van 2-aminobenzaldehydfenyldiazoon (nitrinereagens^R) in methanol:

Weeg 2,0 gram 2-aminobenzaldehydfenyldiazoon (nitrine^R Merck of equivalent) af en breng deze kwantitatief over in een maatkolf van 100 ml. Voeg druppelsgewijs 4 ml verdund zoutzuur (3.2) toe en zwenk om. Vul met methanol tot de maatstreep aan en meng tot de oplossing geheel helder is. Bewaar de oplossing in een bruinglazen fles (4.3).

4. HULPMIDDELEN

4.1. Bekerglazen van 50 ml.

4.2. Maatkolf van 100 ml.

4.3. Bruinglazen fles, 125 ml.

4.4. Glasplaat, 10 × 10 cm.

4.5. Spatel van kunststof.

4.6. Filtreerpapier, 10 × 10 cm.

5. WERKWIJZE

5.1. Strijk een deel van het te onderzoeken monster gelijkmatig uit over de glasplaat (4.4). Zorg ervoor, dat de laagdikte ten hoogste 1 cm bedraagt.

5.2. Drink een blad filtreerpapier (4.6) in gedestilleerd water en leg het op het monster; druk het papier met behulp van een spatel (4.5) goed aan.

5.3. Wacht ongeveer één minuut en breng vervolgens in het midden van het filtreerpapier

— 2 druppels verdund zwavelzuur (3.1) en daarna

— 2 druppels nitrinereagens (3.4).

5.4. Neem na 5 tot 10 seconden het filtreerpapier op en bekijk het bij daglicht. Een paarsrode verkleuring wijst op de aanwezigheid van nitriet.

Wanneer het nitrietgehalte laag is verandert de paarsrode kleur reeds na 5 tot 15 seconden in geel. Deze kleuromslag vindt pas na 1 tot 2 minuten plaats wanneer grotere hoeveelheden nitriet aanwezig zijn.

6. OPMERKING

De intensiteit van de paarsrode kleur, evenals de tijd benodigd voor de kleuromslag in geel kan een indicatie geven van het gehalte aan nitriet in het produkt.

B. DE BEPALING

1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Dit voorschrift beschrijft de bepaling van nitriet in cosmetica.

2. DEFINITIE

Het gehalte aan nitriet van het monster bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) natriumnitriet.

3. BEGINSEL

Na verdunning met water en klaring van het monster wordt een kleurreactie op nitriet uitgevoerd. De aldus verkregen kleuring wordt bij 538 nm gemeten.

4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. De volgende klaringsreagentia mogen niet ouder zijn dan een week.

4.1.1. Carrez I-reagens: Los 106 g kaliumhexacyanoferraat (II) ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) op in gedestilleerd water en vul aan tot 1 000 ml.

4.1.2. Carrez II-reagens: Los 219,5 g zinkacetaat ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) en 30 ml ijsazijn op in gedestilleerd water en vul aan tot 1 000 ml.

4.2. Natriumnitrietoplossing: In een maatkolf van 1 000 ml wordt 0,500 g natriumnitriet opgelost en aangevuld tot 1 000 ml. Verdun 10,0 ml van deze stamoplossing tot 500 ml; 1 ml van deze oplossing bevat 10 μ g $NaNO_2$.

4.3. Natriumhydroxideoplossing, 1 N: Los 4,0 g NaOH op in gedestilleerd water en vul aan tot 100 ml.

4.4. Sulfanilamidehydrochlorideoplossing 0,2 %: Los 2,0 g sulfanilamide onder verwarmen op in 800 ml water. Koel af en voeg onder roeren 100 ml geconcentreerd HCl toe. Vul aan tot 1 000 ml.

4.5. Zoutzuur 5 N.

4.6. N-1-Naftyylethyleendiaminedihydrochloridereagens, afgekort N-1-naftylreagens: Los 0,1 g N-1-naftyylethyleendiaminedihydrochloride op in water en vul aan tot 100 ml. Deze oplossing moet op dezelfde dag van de bepaling worden bereid.

5. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN

5.1. Analytische balans.

5.2. Maatkolven van resp. 100, 250, 500 en 1 000 ml.

5.3. Volpipetten van 2, 4, 6, 8, 10 en 25 ml.

- 5.4. Maatcilinders van 100 ml.
- 5.5. Vouwfilter, nitrietvrij, diameter 15 cm.
- 5.6. Waterbad (met verwarming).
- 5.7. Spectrofotometer met cuvetten met een optische weglengte van 1 cm.
- 5.8. pH-meter.
- 5.9. Microburet 10 ml.
- 5.10. Bekerglas, 250 ml.

6. WERKWIJZE

- 6.1. Weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig ongeveer 0,5 g (m gram) van het gehomogeniseerde monster af in een bekerglas van 250 ml. Verdun met warm gedestilleerd water tot ongeveer 150 ml. Plaats het bekerglas gedurende een half uur in een waterbad van 80 °C. Zwenk de inhoud af en toe om.
- 6.2. Koel af tot kamertemperatuur en voeg met een maatpipet en onder zwenken achtereenvolgens 2 ml van het Carrez I- (4.1.1) en II-reagens (4.1.2) toe.
- 6.3. Breng met behulp van een pH-meter en door toevoeging van 1 N Na OH (4.3) de pH op 8,3. Breng de inhoud kwantitatief over in een maatkolf van 250 ml en vul aan tot de maatstreep.
- 6.4. Meng en filtreer over een vouwfilter (5.5).
- 6.5. Breng een passend aliquot (V ml) van het heldere filtraat (echter niet meer dan 25 ml), met behulp van een maatpipet over in een maatkolf van 100 ml en vul aan tot circa 60 ml.
- 6.6. Voeg na menging 10,0 ml sulfanilamidehydrochloride (4.4) en vervolgens 6,0 ml 5 N zoutzuur (4.5) toe. Meng en laat 5 minuten staan.
Voeg 2,0 ml N-1-naftylreagens (4.6) toe, meng en laat 3 minuten staan. Vul aan met water tot 100 ml en meng.
- 6.7. Maak een blanco-meetoplossing door het onder 6.5 en 6.6 gestelde te herhalen, evenwel zonder toevoeging van het N-1-naftylreagens (4.6).
- 6.8. Bepaal de absorptie (5.7) van de volgens 6.6 verkregen oplossing bij 538 nm met als blanco de volgens 6.7 verkregen oplossing.
- 6.9. Bereken met behulp van de ijklijn (6.10) het nitrietgehalte, uitgedrukt als microgrammen natriumnitriet per 100 ml oplossing (m_1), dat overeenkomt met de volgens 6.8 gemeten absorptie.
- 6.10. Ijklijn: Maak een ijklijn voor de absorptie met behulp van de standaard natriumnitrietoplossing (4.1) voor de reeks 0 — 20 — 40 — 60 — 80 — 100 microgram natriumnitriet per 100 ml.

7. BEREKENING

Bereken het gehalte aan natriumnitriet van het monster in massaprocenten met behulp van de volgende formule:

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

waarin:

m = de massa van het in onderzoek genomen monster in g (6.1)

m_1 = het gehalte aan natriumnitriet in μg afgelezen onder 6.9

V = de hoeveelheid filtraat in ml gebruikt voor de meting (6.5).

8. HERHAALBAARHEID ⁽¹⁾

Bij een nitrietgehalte van 0,2 % (m/m) 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 bedragen dan 0,005 %.

IV. DE IDENTIFICATIE EN BEPALING VAN VRIJ FORMALDEHYDE

1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van het vrije formaldehyde in cosmetische produkten. De methode is toepasbaar op alle cosmetische produkten en bestaat uit drie gedeelten.

1.1. Identificatie.

1.2. Bepaling met acetylaceton (colorimetrisch)

Deze bepaling is niet goed toepasbaar bij gebonden of gepolymeriseerd formaldehyde, zoals dat het geval is bij de z.g. formaldehydedonoren. In gevallen waarbij deze methode een meetwaarde geeft, die de maximaal toelaatbare concentratie in het eindprodukt overschrijdt, moet de volgende titrimetrische bepaling met bisulfiet worden uitgevoerd.

1.3. Bepaling met bisulfiet (titrimetrisch)

Bij deze bepaling wordt het gebonden formaldehyde (gepolymeriseerd of gebonden, bij de formaldehydedonoren) niet mede bepaald. Sommige labiele formaldehydedonoren, b.v. hexamethyleentetramine, worden echter mede bepaald. Voorts kan door de aanwezigheid van buffers het equivalentiepunt minder scherp worden.

2. DEFINITIE

Het volgens deze methode bepaalde vrije formaldehydegehalte wordt uitgedrukt in massa-percenten (m/m) van de waar.

3. BEGINSEL

3.1. Identificatie

Het formaldehyde geeft een paars-rose verkleuring met het reagens van Schiff, door de reactie met het aanwezige zwaveligzuur.

3.2. Bepalingen met acetylaceton (colorimetrisch)

Het formaldehyde vormt met acetylaceton in aanwezigheid van ammoniumacetaat het gekleurde 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine, dat na extractie in 1-butanol gemeten wordt bij 410 nm.

⁽¹⁾ Bepaald vlg. ISO 5725.

3.3. Bepaling met bisulfiet (titrimetrisch)

Bij 0 °C reageert het formaldehyde in zuur milieu met sulfiet tot een additieve verbinding. De overmaat zuur wordt teruggetitreerd met natriumhydroxide. Tevens wordt de titratie met natriumhydroxide op dezelfde wijze uitgevoerd zonder toevoeging van sulfiet. Uit deze gegevens kan de hoeveelheid vrij formaldehyde in het monster worden berekend.

4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Ijsazijn.**4.2. Ammoniumacetaat, anh.****4.3. 1-Butanol.****4.4. Zwavelzuur 2 N.****4.5. Natriumsulfietoplossing 0,1 M vers bereid.****4.6. Reagens van Schiff:** Los in een maatkolf van 100 ml 100 mg fuchsine op in 75 ml water van 80 °C. Koel af en voeg 2,5 g natriumsulfiet ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en 1,5 ml geconcentreerd zoutzuur ($d_4^{20} = 1,19$) toe. Vul aan tot 100 ml. Dit reagens is twee weken houdbaar en moet kleurloos zijn bij gebruik.**4.7. Acetylaceton reagens:** Los in een maatkolf van 1 000 ml op 150 g ammoniumacetaat (4.2), 2 ml acetylaceton (vers gedestilleerd onder verminderde druk; het mag bij 410 nm geen absorptie vertonen) en 3 ml ijsazijn (4.1). Vul aan tot 1 000 ml (de pH van de oplossing is ca. 6,4). Dit reagens dient vers te worden bereid.**4.8. Gestelde oplossing van H_2SO_4 0,1 N.****4.9. Gestelde oplossing van natriumhydroxide 0,1 N.****4.10. Gestelde oplossing van jodium 0,1 N.****4.11. Gestelde oplossing van natriumthiosulfaat 0,1 N.****4.12. Stokoplossing formaldehyde:** Verdun 5 g formaldehyde 37-40 % met water tot een volume van 1 000 ml. Bepaal de titer van deze stokoplossing op de volgende wijze: Pipetteer 10,00 ml van deze oplossing. Voeg 25,00 ml jodiumoplossing 0,1 N en 10 ml natriumhydroxideoplossing 1 N toe. Meng en laat het mengsel 5 minuten staan. Voeg 11 ml HCl 1 N toe en titreer de overmaat jodium met natriumthiosulfaat 0,1 N met behulp van een zetmeeloplossing als indicator. 1 ml jodium 0,1 N is equivalent met 1,5 mg formaldehyde.**4.13. Referentieoplossing formaldehyde:** Pipetteer 5 ml van de stokoplossing (4.10) in een maatkolf van 100 ml en vul aan tot de maatstreep. Pipetteer vervolgens 5 ml van deze verdunde oplossing in een maatkolf van 500 ml en vul aan met water tot de maatstreep. 1 ml van deze referentieoplossing bevat circa 1 µg formaldehyde. Bereken het exacte gehalte.**4.14. Thymolphaleïneoplossing:** 0,1 g/100 ml ethanol 50 % v/v.**4.15. Referentieoplossing van 4.7, zonder acetylaceton.****5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN****5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.****5.2. „Fase-scheiding-filter”, b.v. Whatman 1 PS of gelijkwaardig.****5.3. Centrifuge.**

- 5.4. Spectrofotometer.
 - 5.5. Glascuvetten met een optische weglengte van 1 cm.
 - 5.6. Potentiograaf.
 - 5.7. Glas/calomel elektroden (het verdient aanbeveling z.g. „lage temperatuur” elektroden te gebruiken).
6. WERKWIJZE
- 6.1. Identificatie
 - 6.1.1. Breng ca. 2 g van het monster over in een bekersglas van 10 ml.
 - 6.1.2. Voeg 2 druppels zwavelzuur 2 N (4.4) en 2 ml reagens van Schiff (4.6) toe. Het reagens van Schiff moet voor de toevoeging kleurloos zijn. Meng door schudden en laat het mengsel 5 minuten staan.
 - 6.1.3. Indien binnen 5 minuten een rose of paars-rose kleur wordt waargenomen, bedraagt de hoeveelheid HCHO meer dan 0,01 %. Bepaal dan kwantitatief volgens 6.2 en indien nodig ook volgens 6.3.
 - 6.2. Bepaling met acetylaceton (colorimetrisch)
 - 6.2.1. *Monsteroplossing*
 - 6.2.1.1. Weeg nauwkeurig een hoeveelheid monster (m gram) af, overeenkomende met circa 150 µg HCHO.
 - 6.2.1.2. Verdun tot 100 ml met gedemineraliseerd water en meng.
 - 6.2.1.3. Pipetteer in een 50 ml erlenmeyerkolf:
10,00 ml van de oplossing 6.2.1.2
5,00 ml acetylacetonreagens (4.7)
15 ml gedemineraliseerd water.
Meng.
 - 6.2.2. *Referentieoplossing* (ter eliminatie van de storing door mogelijke achtergrondkleuring van het monster)
Pipetteer in een 50 ml erlenmeyerkolf:
10,0 ml van de verdunde monsteroplossing (6.2.1.2)
5,0 ml referentieoplossing zonder acetylacetonreagens (4.15)
en 15 ml gedemineraliseerd water.
Meng.
 - 6.2.3. *Blanco-oplossing*
Pipetteer in een 50 ml erlenmeyerkolf:
5,0 ml acetylaceton reagens (4.7)
25 ml gedemineraliseerd water.
Meng.
 - 6.2.4. *Bepaling*
 - 6.2.4.1. De verkregen oplossingen in de erlenmeyerkolven van 6.2.1, 6.2.2 en 6.2.3 worden in een waterbad van 60 °C gedurende precies 10 minuten ondergedompeld. Koel vervolgens in een ijsbad af gedurende 2 minuten.

- 6.2.4.2. Breng de vloeistoffen over in scheitrechters van 50 ml, waarin zich 10,0 ml 1-butanol bevindt. Spoel na met 3 tot 5 ml water. Schud de inhoud goed door gedurende precies 30 seconden. Laat de fasen vervolgens scheiden.
- 6.2.4.3. Filtreer met de „fase-scheiding-filter” (5.2) in de glascuvetten (5.5). Centrifugeren (5 000 omwentelingen per minuut gedurende 5 minuten) is een andere mogelijkheid om de 1-butanol fase te scheiden.
- 6.2.4.4. Meet de absorptie bij 410 nm (A1) van de verkregen monsteroplossing (6.2.1) tegen de verkregen referentieoplossing (6.2.2).
- 6.2.4.5. Meet de absorptie bij 410 nm (A2) van de verkregen blanco-oplossing (6.2.3) tegen 1-butanol (4.3).

Opmerking

Deze spectrofotometrische metingen moeten worden verricht binnen 25 minuten nadat de erlenmeyerkolven in het warmwaterbad zijn gedompeld.

6.2.5. *Ijkkurve*

- 6.2.5.1. Pipetteer in een 50 ml erlenmeyerkolf:
5,00 ml van de referentieoplossing HCHO (4.13)
5,00 ml van de acetylacetonreagens (4.7)
20 ml gedemineraliseerd water.
- 6.2.5.2. Voer de bepaling uit zoals beschreven onder 6.2.4 en meet de absorptie bij 410 nm van de verkregen oplossing tegen 1-butanol (4.3).
- 6.2.5.3. Herhaal de bepaling met respectievelijk de volgende referentie-HCHO-oplossingen:
- | Referentie-HCHO-oplossing (4.13) | | Acetylacetonreagens (4.7) | | Gedemineraliseerd water |
|----------------------------------|---|---------------------------|---|-------------------------|
| 10 ml | + | 5 ml | + | 15 ml |
| 15 ml | + | 5 ml | + | 10 ml |
| 20 ml | + | 5 ml | + | 5 ml |
| 25 ml | + | 5 ml | — | — |
- 6.2.5.4. Gebruik voor de nulwaarde de meting van 6.2.4.5.
- 6.2.5.5. Trek de ijkkurve door de verkregen absorptiewaarden na correctie met de nulwaarde van 6.2.5.4 uit te zetten tegen de hoeveelheid HCHO in μg per 30 ml meetoplossing. De ijkkurve is tot 30 μg HCHO lineair.

6.3. **Bepaling met bisulfiet (titrimetrisch)**6.3.1. *Vorbereiding van het monster*

- 6.3.1.1. Voor de bepaling: Weeg in een getarreerd bekglas tot milligrammen nauwkeurig een hoeveelheid monster af (m gram), die overeenkomt met 3 tot 20 mg HCHO.
- 6.3.1.2. Voor de referentiebepaling: Herhaal de inweeg als beschreven onder 6.3.1.1 (m' gram).

6.3.2. *Bepaling*

- 6.3.2.1. Pipetteer 50,0 ml Na_2SO_3 0,1 M (4.5) in een bekglas van 100 ml en voeg 10,0 ml zwavelzuur 0,1 N (4.8) toe. Meng.
- 6.3.2.2. Plaats de beker in een mengsel van ijs en zout ten einde de temperatuur van de oplossing op 2 °C te houden. Voeg hierbij kwantitatief het ingewogen monster (6.3.1.1) bij. Meng.
- 6.3.2.3. Titreer potentiometrisch snel met NaOH 0,1 N (4.9) onder voortdurend roeren en houd de temperatuur gedurende de titratie tussen 2 en 4 °C. Het neutralisatiepunt ligt bij een pH tussen 9 en 11. De verbruikte hoeveelheid NaOH 0,1 N is V_1 ml.

6.3.3. *Blancowaarde*

Herhaal de potentiometrische bepaling zoals beschreven onder 6.3.2, echter zonder toevoeging van het monster. De verbruikte hoeveelheid NaOH 0,1 N is hier V_2 ml.

6.3.4. *Referentiewaarde*

Herhaal de potentiometrische bepaling zoals beschreven onder 6.3.2, echter alleen met het ingewogen monster onder 6.3.1.2. Titreer hierbij met NaOH 0,1 N (4.9) of met H_2SO_4 0,1 N (4.8). De verbruikte hoeveelheid NaOH of H_2SO_4 is hier v' ml. In vele gevallen is deze waarde 0.

6.3.5. *Opmerking*

De beschreven werkomstandigheden moeten nauwkeurig worden opgevolgd. Het is ook mogelijk om de titratie niet potentiometrisch uit te voeren, doch met behulp van thymolphthaleïne (4.14) als indicator.

7. BEREKENING

7.1. **Bepaling met acetylaceton (colorimetrisch)**

Trek A_2 van A_1 af en lees uit de ijkcurve de hoeveelheid (C μ g) HCHO af, aanwezig in 10 ml van de verdunde monsteroplossing onder 6.2.1.1:

$$\% \text{ HCHO} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

7.2. **Bepaling met bisulfiet (titrimetrisch)**

Reken de voor de neutralisatie van m' gram monster benodigde hoeveelheid zuur of base (v' ml; 6.3.4) om tot de benodigde hoeveelheid (v ml) voor m gram (6.3.1.1) monster met behulp van de formule

$$v = \frac{v' \cdot m}{m'}$$

Voor neutraal reagerende produkten is v vanzelfsprekend nul. In het algemeen gelden voor zure of basische produkten echter de volgende formules

7.2.1. Voor zure produkten:

$$\% \text{ HCHO} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2. Voor basische produkten:

$$\% \text{ HCHO} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3. *Opmerking*

Indien de verkregen cijfers volgens de methode 7.1 en 7.2 verschillen, geldt het laagste cijfer voor de beoordeling.

8. HERHAALBAARHEID ⁽¹⁾

Voor de monsters met een gehalte van ongeveer 0,2 % HCHO mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster voor de colorimetrische methode met acetylaceton niet meer dan 0,005 % en voor de titrimetrische methode met bisulfiet niet meer dan 0,05 % bedragen.

⁽¹⁾ Bepaald vlg. ISO 5725.

V. DE BEPALING VAN RESORCINOL IN SHAMPOOS EN HAARLOTIONS

1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van resorcinol in shampoos en haarlotions door middel van gaschromatografie. De methode is geschikt voor concentraties van 0,1 tot 2,0 massaprocenten van het produkt.

2. DEFINITIE

Het volgens dit voorschrift bepaalde resorcinolgehalte wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) van de waar.

3. BEGINSSEL

Resorcinol en een toegevoegde interne standaard (3,5-dihydroxytolueen) worden door middel van dunnelaagchromatografie uit het monster geïsoleerd. Na extractie uit het silicagel met methanol worden beide stoffen gedroogd, gesilyleerd en vervolgens gaschromatografisch bepaald.

4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Zoutzuur 25 % (m/m).

4.2. Methanol.

4.3. Ethanol 96 % (v/v).

4.4. Kant-en-klare silicaplaten (met fluorescentie-indicator) worden op de volgende wijze gedesactiveerd: Besproei de platen met water tot ze er glazig uitzien. Droog de platen gedurende 1-3 uren bij kamertemperatuur.

Opmerking

Indien de silicaplaten niet gedesactiveerd zijn, is resorcinolverlies door irreversibele adsorptie niet uitgesloten.

4.5. Loopvloeistof: aceton-chloroform-azijnzuur (20+75+5, v).

4.6. Resorcinolstandaardoplossing: Los 400 mg resorcinol op in 100 ml ethanol 96 % (4.3) (1 ml = 4 000 µg resorcinol).

4.7. Interne standaardoplossing: Los 400 mg 3,5-dihydroxytolueen op in 100 ml ethanol 96 % (4.3) (1 ml = 4 000 µg 3,5-dihydroxytolueen).

4.8. Standaardmengsel: Meng 10 ml oplossing 4.6 in een maatkolf van 100 ml met 10 ml oplossing 4.7. Vul aan tot de streep met ethanol 96 %. Meng. (1 ml bevat 400 µg resorcinol en 400 µg 3,5-dihydroxytolueen).

4.9. Silyleermiddelen:

4.9.1. N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoracetamide (BSTFA)

4.9.2. Hexamethyldisilazaan (HMDS)

4.9.3. Trimethylchlorosilaan (TMCS).

5. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN

- 5.1. Gebruikelijke uitrusting voor de dunnelaag- en gaschromatografie.
5.2. Laboratoriumglaswerk.

6. WERKWIJZE

/ 6.1. Voorbereiding van het monster

- 6.1.1. Weeg in een bekglas van 150 ml nauwkeurig af een hoeveelheid monster, dat circa 20-50 mg resorcinol bevat (m gram).
- 6.1.2. Zuur aan met circa 2-4 ml zoutzuur (4.1).
Voeg toe 10 ml interne standaardoplossing (4.7) en meng.
Breng met behulp van wat ethanol 96 % het mengsel kwantitatief over in een maatkolf van 100 ml. Vul aan met ethanol 96 %. Meng.
- 6.1.3. Breng 250 µl van oplossing 6.1.2 op de dunnelaagplaat (4.4) op een denkbeeldige startlijn van circa 8 cm lang. Zorg ervoor dat de band zo smal mogelijk wordt.
- 6.1.4. Breng op dezelfde manier als in 6.1.3 250 µl van het standaardmengsel (4.8) op dezelfde plaat.
- 6.1.5. Breng op dezelfde startlijn nog 2 punten van 5 µl van de oplossingen 4.6 en 4.7. Dit is bedoeld als hulp bij de lokalisatie van het resorcinol en 3,5-dihydroxytolueen op de dunnelaagplaat.
- 6.1.6. Ontwikkel de plaat in een onverzadigde chromatografietank met de loopvloeistof (4.5) over een loopafstand van circa 12 cm. De duur is circa 45 minuten. Droog de plaat aan de lucht en lokaliseer onder kortgolvig UV licht (254 nm). Resorcinol en 3,5-dihydroxytolueen vallen ongeveer samen. Markeer de banden met potlood op circa 2 cm afstand van de buitenrand van de donkere banden. Schraap de gemarkeerde zones af en verzamel de silicagel kwantitatief in flesjes van 10 ml.
- 6.1.7. Extraheer zowel de silicagel van het monster en die van de standaard met elk 2 ml methanol (2.4) onder voortdurend roeren gedurende 1 uur. Filtreer. Herhaal de extractie met 2 ml methanol gedurende 15 minuten. Filtreer.
- 6.1.8. Laat het oplosmiddel van de verzamelde extracten verdampen door deze oplosmiddelen gedurende een nacht onder vacuüm in een exsiccator te plaatsen, welke gevuld is met een geschikt droogmiddel. Verwarm op geen enkele wijze.
- 6.1.9. Silyleer de droogresten zoals beschreven onder 6.1.9.1 of 6.1.9.2.
- 6.1.9.1. Voeg 200 µl BSTFA (4.9.1) met een micro-injectiespuit toe en laat het mengsel in een afgesloten glazen flesje 12 uren bij kamertemperatuur staan.
- 6.1.9.2. Voeg achtereenvolgens met een micro-injectiespuit toe: 200 µl HMDS (4.9.2) en 100 µl TMCS (4.9.3). Verwarm het mengsel in een afgesloten flesje gedurende 30 minuten bij 60 °C. Koel.
- 6.2. Gaschromatografie
- 6.2.1. Kolomvulling OV-17 op Chromosorb WAW 100-120 mesh. De resolutiegraad (R) van deze stationaire fase moet ten minste 1,5 bedragen, waarbij

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

waarbij

R_1 en R_2 = de retentietijden in minuten van de gesilyleerde verbindingen van resorcinol en 3,5-dihydroxytolueen

W_1 en W_2 = de respectievelijke piekbreedte op halve hoogte

d' = papersnelheid in mm per minuut.

De volgende gaschromatografische condities geven bij voorbeeld de gewenste resultaten:

Kolom:

materiaal: roestvrij staal
 lengte: 200 cm
 diameter: - 3 mm (1/8")
 stationaire fase: 10 % OV-17 op Chromosorb WAW 100-120 mesh

Vlamionisatiedetector

Temperatuur :

kolom: 185 °C isotherm
 injector: 250 °C
 detector: 250 °C

Draaggas: stikstof, debiet 45 ml/min.

Hulpgasen: debiet van waterstof en lucht, volgens de aanwijzingen van de fabrikant.

- 6.2.2. Injecteer 1 tot 3 µl van elk der verkregen gesilyleerde oplossingen. Voer 5 injecties uit voor elke oplossing (6.1.9). Meet de verkregen piekoppervlakken en bereken het gemiddelde van de verhouding van de piekoppervlakken van resorcinol/3,5-dihydroxytolueen (S).

7. BEREKENING

De concentratie van het resorcinol in het produkt wordt berekend met de volgende formule

$$\% \text{ resorcinol} = \frac{4}{M} \times \frac{S \text{ monster}}{S \text{ standaard}}$$

waarbij

M = inweeg van het monster (6.1.1)
 S monster = gemiddelde piekoppervlakken-verhouding van het monster (resorcinol/3,5-dihydroxytolueen) (6.2.2)
 S standaard = gemiddelde piekoppervlakken-verhouding van het standaardmengsel (resorcinol/3,5-dihydroxytolueen) (6.2.2).

8. HERHAALBAARHEID ⁽¹⁾

Voor monsters met een resorcinolgehalte van 0,5 % (m/m) 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 0,025 % bedragen.

VI. DE BEPALING VAN METHANOL IN VERHOUDING TOT ETHANOL OF 2-PROPANOL

1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de gaschromatografische bepaling van methanol in verhouding tot ethanol of 2-propanol in cosmetische produkten, aerosolen inbegrepen. De methode is geschikt voor relatieve gehalten van 0 tot 10 %.

2. DEFINITIE

Het gehalte aan methanol bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) methanol in verhouding tot de aanwezige ethanol of 2-propanol.

3. BEGINSSEL

De bepaling gebeurt met behulp van gaschromatografie.

⁽¹⁾ Bepaald vlg. ISO 5725.

4. REAGENTIA
- Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.
- 4.1. Methanol.
- 4.2. Ethanol absoluut.
- 4.3. 2-Propanol.
- 4.4. Chloroform, gewassen ter verwijdering van alcoholen.
5. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Gaschromatograaf met katharometerdetector voor de aerosolmonsters. Gaschromatograaf met vlamionisatiedetector voor de andere monsters.
- 5.2. Maatkolven 100 ml.
- 5.3. Pipetten 2 ml, 20 ml en 0 tot 1,0 ml.
- 5.4. Injectiespuit 0 tot 100 µl en 0 tot 5 µl.
- Voor aerosolmonsters: speciale gasdichte injectiespuit (zie Bemonsteringsdocument figuur 5) ⁽¹⁾.
6. WERKWIJZE
- 6.1. Voorbereiding van het monster
- 6.1.1. Aerosolproducten worden behandeld zoals aangeduid in hoofdstuk II van de bijlage van Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie van 22 december 1980 ⁽¹⁾ waarna zij gaschromatografisch worden geanalyseerd volgens de condities beschreven in 6.2.1.
- 6.1.2. De andere producten, behandeld zoals voorgeschreven in hoofdstuk II voormeld, worden met water verdund tot het ethanol of het 2-propanolgehalte 1 tot 2 % bedraagt.
- De verdunde oplossing wordt dan gaschromatografisch geanalyseerd volgens de condities beschreven in 6.2.2.
- 6.2. Gaschromatografie
- 6.2.1. Aerosolmonsters. Gebruik de gaschromatograaf met katharometerdetector.
- 6.2.1.1. Kolomvulling 10 % Hallcomid M 18 op Chromosorb WAW 100-120 mesh.
- 6.2.1.2. Deze stationaire fase (6.2.1.1) moet een resolutiegraad (R) van ten minste 1,5 kunnen geven, waarbij
- $$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$
- (R₁ en R₂ zijn retentietijden van de stoffen in minuten,
W₁ en W₂ zijn de piekbreedten op halve hoogten in mm,
d' is de papersnelheid in mm/min).
- 6.2.1.3. De volgende condities leiden bij voorbeeld tot de gewenste resultaten:
- Kolom:
- | | |
|---------------------------------|-----------------|
| materiaal: | roestvrij staal |
| lengte: | 350 cm |
| diameter: | 3 mm |
| Brugstroomkatharometerdetector: | 150 mA |

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

Draaggas:	helium
debiet:	45 ml/min
begindruk:	2,5 bar
Temperatuur:	
kolom:	65 °C
detector:	150 °C
injector:	150 °C.

6.2.2. Niet-aerosolmonsters. Gebruik de gaschromatograaf met vlamionisatiedetector.

6.2.2.1. Kolomvulling: Chromosorb 105 of Porapak QS.

6.2.2.2. Deze stationaire fase (6.2.2.1) moet een resolutiegraad (R) van ten minste 1,5 kunnen geven, waarbij

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

(zie 6. 2. 1. 2).

6.2.2.3. De volgende condities leiden bij voorbeeld tot de gewenste resultaten:

Kolom:

materiaal:	roestvrij staal
lengte:	200 cm
diameter:	3 mm
Elektrometergevoeligheid:	8×10^{-10} A
Draaggas:	stikstof
debiet:	40 ml/min
begindruk:	2,1 bar
Hulpgas:	waterstof
debiet:	20 ml/min
begindruk:	1,5 bar
Temperatuur:	
kolom:	120° tot 130 °C
detector:	230 °C
injector:	150 °C.

7. IJKLIJN

7.1. Aerosolmonsters. Maak de volgende reeks standaardmengsels door de vloeistoffen af te meten (met een pipet), gevolgd door nauwkeurige weging na elke toevoeging van methanol, ethanol of 2-propanol.

Concentratie (relatief) % m/m	methanol ml	ethanol of 2-propanol ml	aanvullen met chloroform tot een volume van
2,5 % circa	0,5	20	100 ml
5,0 % circa	1,0	20	100 ml
7,5 % circa	1,5	20	100 ml
10,0 % circa	2,0	20	100 ml

Gebruik de gaschromatografische condities van 6.2.1.

Injecteer 2 tot 3 µl van elk der standaardmengsels.

Bereken de piekoppervlak-verhouding methanol/ethanol of methanol/2-propanol. Teken dan de ijkcurve:

x-as: Gewichtsprocenten relatief van methanol/ethanol of methanol/2-propanol

y-as: Piekoppervlak-verhouding methanol/ethanol of methanol/2-propanol

- 7.2. Niet-aerosolmonsters. Maak de volgende reeks standaardmengsels door de vloeistoffen af te meten (met een pipet), gevolgd door een nauwkeurige weging na elke toevoeging van methanol, ethanol of 2-propanol.

Concentratie (relatief) % m/m	methanol μ l	ethanol of 2-propanol ml	aanvullen met water tot een volume van
2,5 % circa	50	2	100 ml
5,0 % circa	100	2	100 ml
7,5 % circa	150	2	100 ml
10,0 % circa	200	2	100 ml

Gebruik de gaschromatografische condities van 6.2.2.

Injecteer 2 tot 3 μ l van elk der standaardmengsels.

Bereken de piekoppervlak-verhouding methanol/ethanol of methanol/2-propanol. Teken de ijkcurve:

x-as: Gewichtsprocenten relatief van methanol/ethanol of methanol/2-propanol

y-as: Piekoppervlak-verhouding methanol/ethanol of methanol/2-propanol

- 7.3. In beide gevallen (7.1 en 7.2) moet de ijklijn een rechte zijn.

8. HERHAALBAARHEID ⁽¹⁾

Voor monsters met een gehalte van 5 % (m/m) methanol in verhouding tot ethanol of 2-propanol 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 0,25 % bedragen.

⁽¹⁾ Bepaald vlg. ISO 5725.