

382L0434

30.6.82

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING

Nr L 185/1

KOMMISSIONENS ANDRA DIREKTIV

av den 14 maj 1982

om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om analysmetoder för kontroll av kosmetiska
produkters sammansättning

(82/434/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR
ANTAGIT DETTA DIREKTIV

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska
ekonomiska gemenskapen,med beaktande av rådets direktiv 76/768/EEG av den 27 juli
1976 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om
kosmetiska produkter⁽¹⁾, senast ändrat genom direktiv
79/661/EEG⁽²⁾, särskilt artikel 8.1 i detta, och

med beaktande av följande:

Enligt direktiv 76/768/EEG skall kosmetiska produkter kon-
trolleras officiellt i syfte att säkerställa att de motsvarar kraven
i gemenskapens bestämmelser om kosmetiska produkters
sammansättning.Alla nödvändiga analysmetoder bör utarbetas snarast möjligt.
Det första steget för att nå detta mål har redan tagits i och med
kommissionens direktiv 80/1335/EEG⁽³⁾ som definierar vissa
metoder; i det andra steget skall metoder definieras för iden-
tifiering av vissa oxidationsmedel och bestämning av väteper-
oxid i kosmetiska hårvårdsprodukter, för identifiering och
semikvantitativ bestämning av vissa oxiderande färgämnen i
hårfärgningsmedel, identifiering och bestämning av nitrit,
identifiering och bestämning av fri formaldehyd, bestämning
av resorcinol i schampon och hårvatten och bestämning av
metanol i förhållande till etanol eller 2-propanol.De åtgärder som fastställs i detta direktiv har tillstyrkts av ytt-
randet från Kommittén för anpassning av direktiv 76/768/
EEG med hänsyn till teknisk utveckling.Medlemsstaterna skall vidta alla nödvändiga åtgärder för att
se till att följande analyser utförs i enlighet med de metoder
som anges i bilagan, vid offentlig kontroll av kosmetiska pro-
dukter:

- identifiering av oxidationsmedel och bestämning av väte-
peroxid i kosmetiska hårvårdsprodukter,
- identifiering och semikvantitativ bestämning av vissa
oxiderande färgämnen i hårfärgningsmedel,
- identifiering och bestämning av nitrit,
- identifiering och bestämning av fri formaldehyd,
- bestämning av resorcinol i schampon och hårvatten,
- bestämning av metanol i förhållande till etanol eller
2-propanol.

Artikel 2

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författ-
ningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den
31 december 1983.

De skall genast underrätta kommissionen om detta.

Artikel 3

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 14 maj 1982.

På kommissionens vägnar

Karl-Heinz NARJES

Ledamot av kommissionen

⁽¹⁾ EGT nr L 262, 27.9.1976, s. 169.⁽²⁾ EGT nr L 192, 31.7.1979, s. 35.⁽³⁾ EGT nr L 383, 31.12.1980, s. 27.

BILAGA

I. IDENTIFIERING AV OXIDATIONSMEDEL OCH BESTÄMNING AV VÄTEPEROXID I KOSMETISKA HÅRVÅRDSPRODUKTER**ÄNDAMÅL OCH OMFATTNING**

Den jodometriska bestämningen av väteperoxid i kosmetiska produkter är endast möjlig i frånvaro av andra oxidationsmedel som bildar jod av jodider. Följaktligen är det nödvändigt att upptäcka och identifiera eventuella andra närvarande oxidationsmedel före den jodometriska bestämningen av väteperoxid. Denna identifiering bryts ned till två steg; det första omfattar persulfater, bromater och väteperoxid och det andra omfattar bariumperoxid.

A. IDENTIFIERING AV PERSULFATER, BROMATER OCH VÄTEPEROXID**1. PRINCIP**

Natriumpersulfat, kalumpersulfat och ammoniumpersulfat; kaliumbromat, natriumbromat och väteperoxid — antingen den härrör från bariumperoxid eller inte — identifieras med fallande papperskromatografi genom att använda två framkallningslösningar.

2. REAGENSER

Alla reagenser bör vara av analytisk renhetsgrad.

2.1 0,5 % (m/v) referensvattenlösningar av följande föreningar:**2.1.1 Natriumpersulfat****2.1.2 Kalumpersulfat****2.1.3 Ammoniumpersulfat****2.1.4 Kaliumbromat****2.1.5 Natriumbromat****2.1.6 Väteperoxid****2.2 Framkallningslösning A, 80 % (v/v) etanol****2.3 Framkallningslösning B, bensen — metanol — 3-metylbutan-1-ol — vatten (i volymförhållande 34:38:18:10)****2.4 Detektionsmedel A, 10 % (m/v) vattenlösning av kaliumjodid****2.5 Detektionsmedel B, 1 % (m/v) vattenlösning av stärkelse****2.6 Detektionsmedel C, 10 % (m/m) saltsyra****2.7 4 N saltsyra****3. APPARATUR OCH UTRUSTNING****3.1 Kromatografipapper (Whatmanpapper nr. 3 och nr. 4 eller motsvarande)****3.2 Mikropipett, 1 µl****3.3 Standardkolvar, 100 ml****3.4 Veckfilter****3.5 Apparatur för fallande papperskromatografi**

4. PREPARERING AV PROV

4.1 Vattenlösliga produkter

Bered två lösningar av varje prov genom att lösa 1 g och 5 g av produkten vardera i 100 ml vatten. Använd 1 μ l av var och en av dessa lösningar för att utföra papperskromatografin beskriven i sektion 5.

4.2 Produkter svårlösliga i vatten

4.2.1 Väg upp 1 g och 5 g av provet och slamma upp i 50 ml vatten, fyll upp till 100 ml med vatten i båda fallen och blanda. Filtrera de två uppslamningarna genom ett veckfilter (3.4) och använd 1 μ l av var och en av filtraten för att utföra papperskromatografin beskriven i Sektion 5.

4.2.2 Bered än en gång två uppslamningar av varje prov genom att slamma upp 1 g och 5 g i 50 ml vatten, surgör med utspädd saltsyra (2.7) fyll på med vatten till 100 ml och blanda. Filtrera uppslamningen genom ett veckfilter (3.4) och använd 1 μ l av de två filtraten för att utföra papperskromatografin beskriven i sektion 5.

4.3 Krämer

Slamma upp 5 g och 20 g av varje produkt i 100 ml vatten och använd uppslamningen för att utföra papperskromatografin beskriven i Sektion 5.

5. METOD

5.1 Lägg en lämplig kvantitet av lösningsmedel A (2.2) och B (2.3) i två separata kromatografivannor för att utföra den fallande papperskromatografin. Mätta kromatografivannorna under minst 24 timmar med lösningsmedelsånga.

5.2 Sätt 1 μ l av en provlösning och en referenslösning beredd enligt Sektion 4 och 2.1 till varje startpunkt på en remsa av kromatografipapper (Whatman nr. 3 eller motsvarande) som är 40 cm långt och 20 cm brett (3.1) eller av ett annat lämpligt format och avdunsta lösningen i luft.

5.3 Placera kromatografiremsan (5.2) i kromatografivannan fylld med framkallningslösning A (5.1) och framkalla tills lösningens front har avancerat 35 cm (omkring 15 timmar).

5.4 Upprepa förfarandet beskrivet i Sektion 5.2 och 5.3 med kromatografipapper (Whatman nr. 4 eller motsvarande) (3.1) och framkallningslösning B. Kromatografera till dess lösningens front har avancerat 35 cm (omkring fem timmar).

5.5 Efter framkallning avlägsna kromatogrammen och torka dem i luft.

5.6 Framkalla fläckarna i kromatogrammet genom att spraya det successivt med följande:

5.6.1 Detektionsmedel A (2.4) följt kort därefter av detektionsmedel B (2.5). Fläckarna av persulfater kommer fram först i kromatogrammet och följs av väteperoxidfläckarna. Markera fläckarna med en penna.

5.6.2 Detektionsmedel C (2.6) på kromatogrammet erhållet enligt Sektion 5.6.1; närvaro av bromater avslöjas härvid genom gråaktiga fläckar i kromatogrammet.

5.7 Under ovan nämnda förhållanden med framkallningslösningarna A (2.2) och B (2.3) är R_f värdena hos referensämnen (2.1) ungefär följande:

	<i>Framkallningslösning A (2.2)</i>	<i>Framkallningslösning B (2.3)</i>
Natriumpersulfat	0,40	0,10
Kaliumpersulfat	0,40	0,02 + 0,05
Ammomiumpersulfat	0,50	0,10 + 0,20
Natriumbromat	0,40	0,20
Kaliumbromat	0,40	0,10 + 0,20
Väteperoxid	0,80	0,80

B. IDENTIFIERING AV BARIUMPEROXID

1. PRINCIP

Bariumperoxid identifieras genom bildning av väteperoxid efter surgörande av provet (A.4.2) och genom närvaro av bariumjoner.

— Vid frånvaro av persulfater (A) bildas vid tillsats av svavelsyra till en del av den surgjorda provlösningen (B.4.1) som resultat en vit fällning av bariumsulfat. Närvaron av bariumjoner i provet (B.4.1) fastställs åter med papperskromatografi på sätt som beskrivs nedan i punkt 5.

— Då bariumperoxid och persulfat finns samtidigt närvarande (B.4.2) genom att smälta återstoden från lösningen (B.4.2) i en bas; efter upplösning i saltsyra fastställs närvaron av bariumjoner i lösningen av smältan (B.4.2.3) med papperskromatografi och/eller genom fällning av bariumsulfat.

2. REAGENS

2.1 Metanol

2.2 36 % (m/m) koncentrerad saltsyra

2.3 6 N saltsyra

2.4 4 N svavelsyra

2.5 Dinatriumsalt av rodizonsyra

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

2.7 Vattenfritt natriumkarbonat

2.8 1 % (m/v) vattenlösning av bariumklorid

2.9 Framkallningslösning bestående av metanol, koncentrerad saltsyra (koncentration 36 %) och vatten (80:10:10 i volymförhållande)

2.10 Detektionsmedel, 0,1 % (m/v) vattenlösning av rodizonsyrans dinatriumsalt, gjord omedelbart före användning.

3. APPARATUR OCH UTRUSTNING

3.1 Mikropipett, 5 μl

3.2 Platinadeglar

3.3 Standardkolvar, 100 ml

3.4 Kromatografipapper Schleicher och Schull 2043 b eller motsvarande. Rensa pappret genom framkallning under natten i en vanna för fallande kromatografi (A.3.5) innehållande framkallningslösning (B.2.9) och torka sedan.

3.5 Veckfilter

3.6 Normal apparatur för utförande av stigande papperskromatografi

4. PREPARERING AV PROV

4.1 Produkter i vilka persulfater är frånvarande

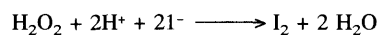
4.1.1 Slamma upp 2 g av produkten i 50 ml vatten och justera uppslamningens pH till omkring 1 med saltsyra (B.2.3).

- 4.1.2 Överför uppslamningen med vatten i en 100-ml standardkolv, fyll upp till märket med vatten och blanda. Använd denna uppslamning för papperskromatografianalysen beskriven i Sektion 5 för identifiering av barium genom fällning av sulfatet.
- 4.2 **Produkter i vilka persulfater är närvarande**
- 4.2.1 Slamma upp 2 g av produkten i 100 ml vatten och filtrera.
- 4.2.2 Tillsätt till den torkade återstoden 7 till 10 gånger dess vikt natriumkarbonat (B.2.7), blanda och smält blandningen i en platinadegel (B.3.2) under en halvtimme.
- 4.2.3 Kyl till rumstemperatur, lös upp smältan i 50 ml vatten och filtrera (B.3.5).
- 4.2.4 Lös upp återstoden från smältan i saltsyra (B.2.3) och fyll upp till 100 ml vatten. Använd denna lösning för papperskromatografianalysen beskriven i sektion 5 och för identifiering av barium genom fällning av sulfatet.
5. **METOD**
- 5.1 Placera en lämplig kvantitet framkallningslösning (B.2.9) i vinnan för stigande papperskromatografi och mätta vinnan under åtminstone 15 timmar.
- 5.2 På ett stycke kromatografipapper — förbehandlad som beskrivet i Sektion B.3.4 -sätt 5 µl av var och en av lösningarna beredda enligt Sektion B.4.1.2 och B.4.2.4 och referenslösning B.2.8 vid tre startpunkter.
- 5.3 Torka provet och refenspunkterna i luft. Framkalla kromatogrammet tills lösningens front har stigit 30 cm.
- 5.4 Avlägsna kromatogrammet från vinnan och lufttorka.
- 5.5 Framkalla fläckarna på kromatogrammet genom att spraya pappret med detektionmedel B.2.10. Vid närvaro av barium, syns röda fläckar med ett RF värde på omkring 0,10 på kromatogrammet.

C. BESTÄMNING AV VÄTEPEROXID

1. PRINCIP

Jodometrisk bestämningen av väteperoxid bygger på följande reaktion:



Omvandlingen sker långsamt men kan påskyndas genom tillsats av ammoniakmolybdat. Bildad jod bestäms genom titrering mot natriumtiosulfat och är ett mått på väteperoxidinnehåll.

2. DEFINITION

Innehållet av väteperoxid uppmätt på det sätt som beskrivs nedan uttrycks i viktprocent (% m/m) av produkten.

3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytiskt renhetsgrad.

- 3.1 2 N svavelsyra
- 3.2 Kaliumjodid
- 3.3 Ammoniummolybdat
- 3.4 0,1 N natriumtiosulfat

3.5 10 % (m/v) kaliumjodidlösning, skall vara beredd omedelbart före användning

3.6 20 % (m/v) ammoniummolybdatlösning

3.7 1 % (m/v) stärkelselösning

4. APPARATUR OCH UTRUSTNING

4.1 Bägare, 100 ml

4.2 Byrett, 50 ml

4.3 Standardkolvar, 250 ml

4.4 Mätcylindrar, 25 och 100 ml

4.5 Pipetter med markering, 10 ml

4.6 Koniska kolvar, 250 ml

5. METOD

5.1 Väg upp 10 g (m gram) av produkten, innehållande omkring 0,6 g väteperoxid, i en 100-ml bägare. Överför innehållet med vatten till en 250-ml standardkolv, fyll upp till märket med vatten och blanda.

5.2 Pipettera 10 ml av provlösningen (5.1) i en 250 ml konisk kolv (4.6) och tillsätt successivt 100 ml 2 N svavelsyra (3.1), 20 ml kaliumjodidlösning (3.5) och tre droppar ammoniummolybdatlösning (3.6).

5.3 Titra bildad jod omedelbart mot 0,1 N natriumtiosulfatlösning (3.4) och precis innan ändpunkten uppnås tillsätts några få milliliter stärkelselösning som indikator (3.7). Registrera åtgången 0,1 N natriumtiosulfat (3.4) i milliliter (V).

5.4 Utför en blank bestämning på det sätt som beskrivs i Sektion 5.2 och 5.3, varvid 10 ml provlösning ersätts med 10 ml vatten. Registrera åtgången 0,1 N natriumtiosulfat i blankbestämningen (V₀ ml).

6. BERÄKNING

Beräkna produktens väteperoxidinnehåll som viktprocent (% m/m) med hjälp av följande formel:

$$\begin{aligned}\% \text{ väteperoxid} &= \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1\,000} \\ &= \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m}\end{aligned}$$

i vilken:

m = kvantiteten i gram av den analyserade produkten (5.1),

V₀ = åtgången i milliliter av 0,1 N tiosulfatlösning i det bestämda blankprovet (5.4),

V = åtgången i milliliter av 0,1 N tiosulfatlösning vid titreringen av provlösningen (5.3).

7. REPRODUCERBARHET⁽¹⁾

För en produkt som innehåller omkring 6 % väteperoxid bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar utförda parallellt på samma prov inte överstiga ett absolut värde på 0,2 %.

⁽¹⁾ Se ISO Norm 5725.

II. IDENTIFIERING OCH SEMIKVANTITATIV BESTÄMNING AV VISSA OXIDERANDE FÄRGÄMMEN I HÅRFÄRGNINGSMEDEL

1. SYFTE OCH OMFATTNING

Denna metod lämpar sig för identifiering och semikvantitativ bestämning av följande ämnen i hårfärgningsmedel i kräm eller flytande form:

Ämne	Symbol
<i>Fenylendiaminer</i>	
o-Fenylendiamin	(OPD)
m-Fenylendiamin	(MPD)
p-Fenylendiamin (Bilaga V)	(PPD)
<i>Metylfenylendiaminer</i>	
4-Metyl-1,2-fenylendiamin (toluen-3,4-diamin)	(OTD)
4-Metyl-1,3-fenylendiamin (toluen-2,4-diamin)	(MTD)
2-Metyl-1,4-fenylendiamin (toluen-2,5-diamin)	(PTD)
<i>Diaminofenoler</i>	
2,4-diaminofenol	(DAP)
<i>Hydrokinon</i>	
1,4-Bensendiol	(H)
<i>α-Naftol</i>	(α -N)
<i>Pyrogallol</i>	
1,2,3-trihydroxibensen	(P)
<i>Resorcinol</i>	
1,3-dihydroxibensen	(R)

2. PRINCIP

Oxiderande färgämnen extraheras vid pH 10 med 96 % etanol från färgpreparat i form av kräm eller i flytande form.

Vid semikvantitativ bestämning av dessa ämnen jämförs provens och referensämnenas kromatogram i fyra framkallningssystem samtidigt och under så lika villkor som möjligt.

3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

3.1 Etanol, vattenfri

3.2 Aceton

3.3 Etanol, 96 % v/v

3.4 Ammoniaklösning, 25 % ($d_4^{20} = 0,91$)

- 3.5 L (+)-askorbinsyra
- 3.6 Kloroform
- 3.7 Cyklohexan
- 3.8 Kväve, teknisk kvalitet
- 3.9 Toluen
- 3.10 Bensen
- 3.11 n-Butanol
- 3.12 Butan-2-ol
- 3.13 Hypofosforsyra, 50 % v/v lösning
- 3.14 Diazoreagens. Antingen:
- 3-Nitro-1-bensendiazoniumklorbensensulfonat (i form av stabiliserat salt) som i Red 2 JN — Francolor,
 - 2-Kloro-4-nitro-1-bensendiazonnaftalenbensoat (i form av stabiliserat salt) som i NNCD Reagens — referens nr 74150 FLUKA,
- eller motsvarande.
- 3.15 Silverniträt
- 3.16 p-Dimetylaminobensaldehyd
- 3.17 2,5-Dimetylfenol
- 3.18 Ferrikloridhexahydrat
- 3.19 Saltsyra, 10 % m/v lösning
- 3.20 **Referensämnen**
- Referensämnena är de som upptas i punkt 1 "Syfte och omfattning". Vad beträffar aminföreningar måste referensämnet vara antingen hydrokloriden (mono eller di) eller den fria basen.
- 3.21 **Referenslösningar 0,5 % (m/v)**
- A 0,5 % (m/v) lösning bereds av var och en av referensämnena i punkt 3.20.
- Väg upp 50 mg $\pm$ 1 mg av referensämnet i en standard 10 ml kolv.
- Tillsätt 5 ml 96 % etanol (3.3) och 250 mg askorbinsyra (3.5).
- Gör lösningen alkalisk genom att tillsätta ammoniaklösningen (3.4) för att ge ett pH på 10 (prova med indikatorpapper).
- Fyll upp till 10 ml med 96 % etanol (3.3) och blanda. Lösningarna kan förvaras under en vecka på sval plats skyddade från ljus.
- I vissa fall kan en fällning uppkomma efter tillsats av askorbinsyran och ammoniaken. Den bör då få sätta sig före utförandet.
- 3.22 **Framkallningslösningar**
- 3.22.1 Aceton – kloroform – toluen (35:25:40 i volymförhållande)
- 3.22.2 Kloroform – cyklohexan – absolut etanol – 25 % ammoniak (80:10:10:1 i volymförhållande)
- 3.22.3 Bensen – butan-2-ol – vatten (50:25:25 i volymförhållande). Skaka väl och använd den övre fasen efter separering vid rumstemperatur (20 till 25 °C).
- 3.22.4 n-Butanol – kloroform – reagens M (7:70:23 i volymförhållande). Separera noggrant vid rumstemperatur (20 till 25 °C) och använd den undre fasen.

Preparering av reagens M

Ammoniaklösning, 25 % (v/v)	24 volymer
Hypofosforsyra, 50 % (3.13)	1 volym
Vatten	75 volymer

Observera

Framkallningslösningar innehållande ammoniak måste skakas väl omedelbart före användning.

3.23 Indikatorsprayer**3.23.1 Diazoreagens**

Bered en 5 % (m/v) vattenlösning av den valda reagensen (3.14). Denna lösning måste vara gjord just före användning.

3.23.2 Ehrlichs reagens

Lös upp 2 g p-dimetylaminobensaldehyd (3.16) i 100 ml saltsyra 10 % (m/v) vattenlösning (3.19).

3.23.3 2,5-dimetylphenol - ferrikloridhexahydrat

Lösning 1: Lös upp 1 g dimetylphenol (3.17) i 100 ml 96 % etanol (3.3).

Lösning 2: Lös upp 4 g ferriklorid hexahydrat (3.18) i 100 ml 96 % etanol (3.3).

Vid framkallning sprayas dessa lösningar separat, först lösning 1 sedan lösning 2.

3.23.4 Ammoniakalisk silvernitrat

25 %-ig ammoniak (3.4) tillsätts 5 %-ig (m/v) vattenlösning av silvernitrat (3.15) tills fällningen precis är upplöst. Detta reagens måste beredas omedelbart före användning. Spara inte.

4. APPARATUR**4.1 Normal laboratorieutrustning för tunnskiktskromatografi.**

4.1.1 Plast eller glasskydd så konstruerat att kromatografiplattan kan omges med kvävgas vid applicering av fläckarna och under torkning. Denna försiktighetsåtgärd är nödvändig på grund av oxidationskänsligheten hos vissa färger.

4.1.2 Mikrospruta, 10 µl, graderad i 0,2 µl med en tvärsuren nål, eller hellre en 50-mikroliterdispenser uppsatt på en klämsättning på sådant sätt att plattan kan hållas under kväve.

4.1.3 Tunnskiktspaltor av kiselgel, färdiga att använda, 0,25 mm tjocka av formatet 20 × 20 cm (Macherey och Nagel, Silica G-HR, som är plaststödda, eller motsvarande).

4.2 Centrifug, 4 000 varv/min.

4.3 Centrifugrör, 10 ml med PTFE-fodrade skruvkorkar eller motsvarande.

5. UTFÖRANDE**5.1 Behandling av proverna**

Kassera de första 2 eller 3 cm kräm som trycks ut från tuben.

Sätt följande i ett centrifugrör (4.3) som sköljs ur innan med kväve: 300 mg askorbinsyra med 3 g kräm eller homogeniserad vätska.

Tillsätt 25 %-ig ammoniak droppvis (3.4) tills pH är 10. Fyll upp till 10 ml med 96 %-ig etanol (3.3).

Homogenisera under kväve (3.8), sätt på kork och centrifugera vid 4 000 varv/minut under 10 minuter.

Använd supernatanten.

5.2 Kromatografi

5.2.1 Applicering av fläckar på plattorna

I en atmosfär av kväve (3.8) appliceras på en kromatografiplatta (4.1.3) 1 µl av vardera ovan beskrivna referenslösningar vid nio punkter belägna ungefär 1,5 cm från varandra på en linje omkring 1,5 cm från plattans kant.

Dessa referenslösningspunkter arrangeras enligt följande:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	α-N							

Tillsätt ytterligare 2 µl av provlösningen erhållen enligt Sektion 5.1 vid punkt 10 och 11.

Förvara plattan under kväve (3.8) till dess den skall kromatograferas.

5.2.2 Framkallning

Placera plattan i en vanna ursköljd med kväve (3.8), mättad med en av de fyra lösningarna (3.22) och låt framkalla i rumstemperatur (20 till 25 grader C) i mörker tills lösningens front har rört sig omkring 15 cm från baslinjen.

Avlägsna plattan och torka under kväve (3.8) vid rumstemperatur.

5.2.3 Sprutning

Spruta plattan omedelbart med en av de fyra lösningarna specificerade i 3.23.

5.2.4 Identifiering

Jämför R_f värdet och färgen erhållen från provet med de kromatograferade referensämnena.

Tabell I ger som exempel R_f värdena och färgerna för varje ämne beroende av använd lösning och indikator.

Vid tveksam identifiering kan ibland bekräftelse erhållas med en dubbningsmetod då referensämne tillsätts provextraktet.

5.2.5 Semikvantitativ skattning

Jämför visuellt intensiteten av fläckarna för varje ämne identifierat enligt 5.2.4 med varierande koncentrationer av referensämnena.

Om koncentrationen för en eller flera av ämnena som finns i provet är allt för hög, späd provextraktet och upprepa mätningen.

TABELL 1

R_f-värden och färger erhållna omedelbart efter sprutning

Referens ämne (3.20)	Framkallningslösningar				Indikatorsprayer			
	R _f värden				Resluterande sprayer			
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Diazo (3.23.1)	Ehrlich (3.23.2)	Dimetylphenol (3.23.3)	AgNO ₃ (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	blekbrun	—	—	blekbrun
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	violett-brun *	gul	blekbrun	blekbrun
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	brun	ljus röd *	violett	grå
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	brun *	blek orange	blekbrun	gråaktig brun
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	rödbrun *	gul	brun	svart
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	brun	orange	violett *	grå
DAP	0,07	—	0	0,05	brun *	orange	violett	brun
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	orange	violett	svart *
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	orangebrun	—	violett *	svart
P	0,37	—	0,67	0,05	brun	mycket blek violett	mycket blek brun	brun*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	orange *	blek violett	mycket blek brun	blekbrun

Anmärkning 1. OPD visas endast svagt; lösningen (3.22.3) måste användas för att klart separera den från OTD.

2. Tecknet * anger den bästa färgutvecklingen.

6. UNDERSÖKNING GENOM TVÅDIMENSIONELL TUNNSKIKTSKROMATOGRAFI

Detta utförande med tvådimensionell kromatografi kräver användning av ytterligare standarder och reagens.

6.1 Ytterligare referenslösningar och ämnen

6.1.1 β-naftol (β-N)

6.1.2 2-aminofenol (OAP)

6.1.3 3-aminofenol (MAP)

6.1.4 4-aminofenol (PAP)

6.1.5 2-nitro-1,4-fenylendiamin (2-NPPD)

6.1.6 4-nitro-1,2-fenylendiamin (4-NOPD)

Bered en 0,5 %-ig m/v lösning av vardera av de ytterligare referensämnena enligt beskrivning i 3.21.

6.2 Ytterligare framkallningslösning

6.2.1 Etylacetat-cyklohexan-ammoniaklösning, 25 % (65:30:0,5 i volymförhållande)

6.3 Ytterligare indikatorsystem

Placera ett glaskärl i en framkallningsvanna för tunnskiktsskromatografi, tillsätt omkring 2 g kristallinisk jod och slut behållaren med ett passande lock.

6.4 Kromatografi

- 6.4.1 Drag två linjer, som visas i Figur 1, på den absorberande ytan av en tunnskiktspatta (4.1.3).
- 6.4.2 Sätt i kväveatmosfär (4.1.1) 1 till 4 μl extrakt (5.1) vid baspunkt 1 (Bild 1) som ligger 2 cm från de två sidorna. Kvantiteten extrakt beror på intensiteten hos fläckarna på kromatogrammen (5.2).
- 6.4.3 Dela mellan punkterna 2 och 3 (Figur 1) de identifierade eller troligen identifierade oxiderande färgämnen enligt 5.2 (avstånd mellan punkter 1,5 cm). Sätt 2 μl av vardera referenslösningen — utom av DAP av vilken 6 μl måste appliceras. Utför proceduren under kväve (6.4.2).
- 6.4.4 Upprepa proceduren i 6.4.3 vid baspunkterna 4 och 5 (Bild 1) och förvara plattan under kväve till dess den skall kromatograferas (avstånd mellan punkterna 1,5 cm).
- 6.4.5 Spola ur kromatografivannan med kväve (3.8) och håll i en lämplig kvantitet framkallningslösning 3.22.2. Placera plattan (6.4.4) i vannan och framkalla den i mörker i den första elueringsriktningen (Bild 1). Fortsätt tills lösningens front når linjen markerad på plattan (omkring 13 cm).
- 6.4.6 Tag ut plattan ur vannan och placera den i en ny kromatografivanna som sköljts ur med kväve och låt elueringsvätskan avdunsta i minst 60 minuter.
- 6.4.7 Placera en lämplig kvantitet av elueringslösningen (6.2) med ett graderat provrör i en vanna urblåst med kväve (3.8), placera plattan vriden 90 grader i vannan (6.4.6) och kromatografera i den andra riktningen (också i mörker) tills lösningens front når linjen dragen på absorptionsytan. Avlägsna plattan från vannan och avdunsta elueringslösningen i luft.
- 6.4.8 Placera plattan under 10 minuter i kromatografivannan med jodånga (6.3) och tolka två-vägs-kromatogrammet genom användning av R_f -och färgvärdena hos referensämnena som kromatograferats samtidigt (Tabell II ger ledning till R_f -värdena och färger).

Observera

För att erhålla maximal färgning av fläckarna lämna kromatogrammet exponerat för luft under en halv timme efter framkallning.

- 6.4.9 Närvaron av oxiderande färgämnen som finns i 6.4.8 kan med säkerhet fastställas genom upprepning av proceduren beskriven i 6.4.1 till 6.4.8 och tillsättning vid baspunkt 1 ovanpå extraktet specificerat i 6.4.2 av 1 μl av referensämnet enligt 6.4.8. Om ingen annan fläck hittas vid jämförelse med kromatogrammet erhållet i 6.4.8 är tolkningen av kromatogram 6.4.8 riktigt.

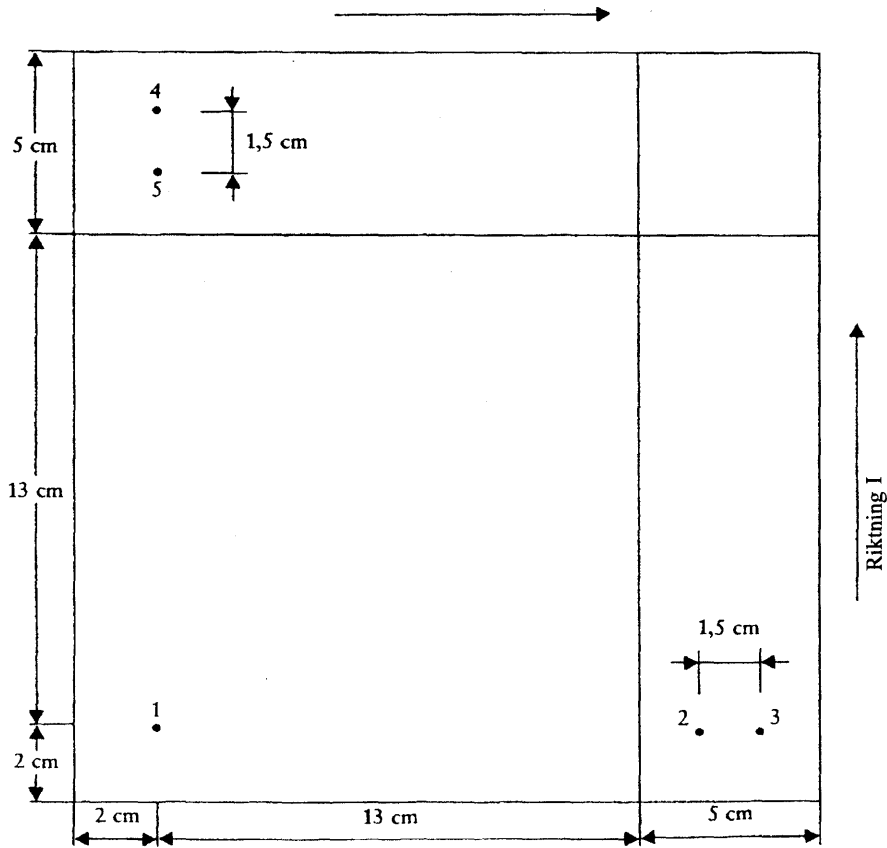
TABELL II

Färgen på referensämnet efter kromatografi och framkallning med jodånga

Referens ämne	Färg efter framkallning med jodånga
R	beige
P	brun
α -N	violett
β -N	blekbrun
H	violettbrun
MPD	gulaktigt brun
PPD	violettbrun
MTD	mörkbrun
PTD	gulaktigt brun
DAP	mörkbrun
OAP	orange
MAP	gulaktigt brun
PAP	violettbrun
2-NPPD	brun
4-NOPD	orange

Figur 1

Riktning II



III. IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV NITRIT

A. IDENTIFIERING

1. SYFTE OCH OMFATTNING

Denna metod är lämplig för identifiering av nitrit i kosmetiska produkter, speciellt i krämer och pastor.

2. PRINCIP

Närvaro av nitrit indikeras av bildning av färgade derivat med 2-aminobensaldehydfenylhydrazon (Nitrin®).

3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

3.1 Utspädd svavelsyra: späd 2 ml koncentrerad svavelsyra ($d_4^{20} = 1,84$) med 11 ml destillerat vatten.

3.2 Utspädd saltsyra: späd 1 ml koncentrerad saltsyra ($d_4^{20} = 1,19$) med 11 ml destillerat vatten.

3.3 Metanol

3.4 En lösning av 2-aminobensaldehydfenylhydrazon (Nitrin® reagens) i metanol.

Väg upp 2,0 g Nitrin® och överför detta kvantitativt till en 100-ml standardkolv. Tillsätt dropvis 4 ml utspädd saltsyra (3.2) och skaka. Fyll upp till märket med metanol och blanda tills lösningen är fullständigt klar. Förvara lösningen i en brun glasflaska (4.3).

4. APPARATUR

4.1 Bägare, 50 ml

4.2 Standardkolv, 100 ml

4.3 Brun glasflaska, 125 ml

4.4 Glasplatta, 10 × 10 cm

4.5 Plastspatel

4.6 Filterspapper, 10 × 10 cm

5. UTFÖRANDE

5.1 Bred en del av provet som skall undersökas jämnt över glasplattan (4.4) så att den täcker ytan med en tjocklek maximalt 1 cm.

5.2 Vät ett filterpapper (4.6) med destillerat vatten. Lägg det på provet och pressa ned filterpappret med plastspateln (4.5).

5.3 Vänta omkring en minut och sätt på mitten av filterpappret:

— två droppar utspädd svavelsyra (3.1),

— följt av två droppar Nitrin®-lösning (3.4).

5.4 Efter 5 till 10 sekunder avlägsna filterpappret och betrakta det mot dagsljus. Närvaro av nitrit visas som en purpurrod färgning.

Om nitritinnehållet är lågt ändras den purpurroda färgen till gul efter fem till 15 sekunder. Denna färgändring sker efter en till två minuter om stora kvantiteter nitrit finns närvarande.

6. KOMMENTAR

Den purpurroda färgens intensitet och den tid som åtgår före ändringen till gult kan ge en indikation på nitritinnehållet i provet.

B. BESTÄMNING

1. SYFTE

Metoden beskriver bestämning av nitrit i kosmetiska produkter.

2. DEFINITION

Nitritinnehållet i provet, som bestäms enligt denna metod, uttrycks i viktprocent natriumnitrit.

3. PRINCIP

Efter utspädning av provet med vatten och klarning fås det närvarande nitritet att reagera med sulfanilamid och N-1-naftyletylendiamin och den erhållna optiska tätheten av färgen mäts vid 538 nm.

4. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

4.1 Klarningsreagens: dessa reagens får inte användas mer än en vecka efter beredning.

4.1.1 Carrez I reagens:

Lös upp 106 g kaliumferrocyanat (II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, i destillerat vatten och späd med vatten till 1 000 ml.

4.1.2 Carrez II reagens:

Lös upp 219,5 g zinkacetat, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ och 30 ml isättika i destillerat vatten och späd med vatten till 1 000 ml.

4.2 Natriumnitritlösning:

Lös upp 0,500 g natriumnitrit i destillerat vatten i en 1 000-ml volumetrisk kolv och späd med vatten till märket. Späd 10,0 ml av denna standard stamlösning till 500 ml; 1 ml av den senare lösningen = $10 \mu g$ $NaNO_2$.

4.3 1 N natriumhydroxidlösning

4.4 0,2 % sulfanilamidhydrokloridlösning:

Lös upp 2,0 g sulfanilamid i 800 ml vatten genom värmning. Kyl och tillsätt 100 ml koncentrerad saltsyra under omröring. Späd med vatten till 1 000 ml.

4.5 5 N saltsyra

4.6 N-1-naftylreagens:

Denna lösning måste beredas samma dag. Lös upp 0,1 g N-1-naftyletylendiamindihydroklorid i vatten och späd med vatten till 100 ml.

5. APPARATUR

5.1 Analysväg

5.2 Volumetriska kolvar på 100 ml, 250 ml, 500 ml och 1 000 ml

5.3 Volympipetter eller graderade pipetter

- 5.4 Mätcylindrar på 100 ml
- 5.5 Veckfilter, nitritfritt, diameter 15 cm
- 5.6 Vattenbad
- 5.7 Spektrofotometer med optiska celler med 1 cm ljusslaglängd
- 5.8 pH mätare
- 5.9 Mikrobyrett på 10 ml
- 5.10 Bägare på 250 ml

6. UTFÖRANDE

- 6.1 Väg omkring 0,5 g (m gram) med en noggrannhet av 0,1 mg av det homogeniserade provet, överför med hett destillerat vatten kvantitativt till en 250-ml bägare (5.10) och justera volymen till omkring 150 ml med hett destillerat vatten. Placera bägaren (5.10) i vattenbad (5.6) vid 80 grader C i en halvtimme. Skaka innehållet då och då under denna tid.
- 6.2 Kyl till rumstemperatur och tillsätt successivt under omröring 2 ml Carrez I-reagens (4.1.1) och 2 ml Carrez II-reagens (4.1.2).
- 6.3 Tillsätt 1 N natriumhydroxidlösning (4.3) till pH 8,3. [Använd pH-mätaren (5.8)]. Överför innehållet kvantitativt till en 250-ml kolv (5.2) och fyll upp till märket med destillerat vatten.
- 6.4 Blanda innehållet och filtrera genom ett veckfilter (5.5).
- 6.5 Pipettera (5.3) en lämplig del (V ml) av det klara filtratet, men inte mer än 25 ml i en 100-ml volumetrisk kolv (5.2) och tillsätt destillerat vatten till en volym på 60 ml.
- 6.6 Blanda och tillsätt 10,0 ml av sulfanilamidhydrokloridlösningen (4.4) och sedan 6,0 ml 5 N saltsyra (4.5). Blanda och låt stå i fem minuter. Tillsätt 2,0 ml N-1-naftylreagens (4.6), blanda och låt stå i tre minuter. Späd med vatten till märket och blanda.
- 6.7 Bered ett blankt prov genom att upprepa förfarandena 6.5 och 6.6 utan tillsats av N-1-naftylreagens (4.6).
- 6.8 Mät (5.7) den optiska tätheten vid 538 nm av lösningen erhållen enligt 6.6 genom att använda blanklösningen (6.7) som referens.
- 6.9 Avläs från standardkurvan (6.10) natriumnitritinnehållet i μg per 100 ml lösning (m_1 mikrogram) som motsvarar den optiska tätheten uppmätt i 6.8.
- 6.10 Genom användning av 10 μg per ml natriumnitritlösning (4.2) bered en standardkurva för koncentrationerna 0, 20, 40, 60, 80, 100 μg natriumnitrit per 100 ml.

7. BERÄKNING

Beräkna natriumnitritinnehållet av provet i viktprocent med hjälp av följande formel:

$$\% \text{ NaNO}_2 = 20 \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

i vilken:

m = vikten av provet i gram taget för analys (6.1),

m_1 = natriumnitritinnehållet i mikrogram som finns i 6.9,

V = antalet milliliter av filtratet som används för mätningen (6.5).

8. REPRODUCERBARHET⁽¹⁾

Vid ett innehåll av omkring 0,2 % m/m natriumnitrit bör skillnaden mellan resultaten från två bestämningar utförda parallellt på samma prov inte överstiga ett absolut värde på 0,005 %.

IV. IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV FRI FORMALDEHYD

1. SYFTE OCH OMFATTNING

Denna metod beskriver identifiering och bestämning av fri formaldehyd. Den är tillämplig på alla kosmetiska produkter och omfattar tre delar:

1.1 Identifiering

1.2 Bestämning med pentan-2,4-dionkolorimetri

Denna metod är otillräcklig när formaldehyden är kombinerad eller polymeriserad som fallet är med formaldehydagivare. Om resultatet överskrider den maximalt tillåtna koncentrationen måste följande metod användas.

1.3 Bestämning med bisulfit

Med denna metod tas inte formaldehyd i de flesta kombinerade eller polymera föreningar med i beräkningen. Emellertid bestäms vissa instabila kombinationer (hexametylentetramin t.ex.). Dessutom är alkalinitetsmätningen svår vid närvaro av en buffertlösning.

2. DEFINITION

Det fria formaldehydinnehållet i provet som bestäms enligt denna metod uttrycks i viktprocent.

3. PRINCIP

3.1 Del I — Identifiering

Formaldehyd i ett svavelsyrehaltigt medium gör Schiff's reagens rosa eller malvafärgad.

3.2 Del II — Bestämning av pentan-2,4-dion

Formaldehyd reagerar med pentan-2,4-dion i närvaro av ammoniumacetat och bildar 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin. Denna extraheras med butan-1-ol och extraktets absorption mäts vid 410 nm.

⁽¹⁾ Se ISO Norm 5725.

3.3 Del III — Bestämning med bisulfit

Formaldehyd reagerar med sulfit i surt medium vid 0 °C och bildar en additionsförening. Överskottsprotonerna titreras med natriumhydroxid. De förbrukade protonerna utgör basen för beräkningen vid bestämningen av formaldehydkvantiteten. Ett blankt prov utan sulfit möjliggör mätning av mediets alkalinitet eller surhetsgrad.

4. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

4.1 Isättika**4.2 Vattenfri ammoniumacetat****4.3 Butan-1-ol****4.4 Svavelsyra, omkring 2 N****4.5 Nyberedd 0,1 M natriumsulfitlösning****4.6 Schiff's reagens 100 mg fuchsin vägs i en bägare och löses upp i 75 ml vatten vid 80 °C.**

Efter kylning tillsätt 2,5 g natriumsulfitheptahydrat ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) och 1,5 ml koncentrerad saltsyra ($d_4^{20} = 1,19$). Fyll upp till 100 ml.

(Detta reagens är olämpligt att använda efter två veckor.)

4.7 Pentan-2,4-dionreagens

I en 1 000-ml volumetrisk kolv upplöses:

150 g ammoniumacetat (4.2),

2 ml pentan-2,4-dion (nydestillerat vid reducerat tryck — det bör inte uppvisa någon absorption vid 410 nm),

3 ml isättika (4.1).

Fyll upp till 1 000 ml med vatten (pH på lösningen omkring 6,4)

Detta reagens måste vara nyberett.

4.8 Standard svavelsyrelösning, 0,1 N**4.9 Standard natriumhydroxidlösning, 0,1 N****4.10 Jodlösning, 0,1 N****4.11 Natriumtiosulfat, 0,1 N****4.12 Formaldehydstamlösning**

Häll 5 g 37 till 40 %-ig formaldehydlösning i en 1 000-ml volumetrisk kolv och fyll upp till 1 000 ml.

Bestäm styrkan på denna lösning enligt följande: Avlägsna 10,00 ml; tillsätt 25,00 ml av en standard 0,1 N jodlösning (4.10) och 10 ml av en 1 N natriumhydroxidlösning.

Låt stå i fem minuter.

Tillsätt 11 ml 1 N HCl och titrera överskottet av standard 0,1 N jodlösningen (4.10) med standard 0,1 N natrium tiosulfatlösning (4.11) genom att använda stärkelselösning som indikator.

1 ml 0,1 N jodlösning (4.10) motsvarar 1,5 mg formaldehyd.

4.13 Formaldehydrefenslösning

Pipettera 5,00 ml av stamlösningen (4.12) i en 100-ml graderad kolv och fyll upp till 100 ml med demineraliserat vatten.

Pipettera 5,00 ml av lösningen ovan i en 500-ml kolv och fyll upp till 500 ml med demineraliserat vatten.

1 ml av denna lösning innehåller omkring 1 µg formaldehyd.

Beräkna exakta innehållet.

4.14. Tymolftaleinlösning, 0,1 g/100ml 50 %-ig etanol**4.15. Referensreagenslösning: som reagens 4.7 men utan pentan-2,4-dion**

5. APPARATUR

- 5.1 Standardlaboratorieapparat
- 5.2 Fasseparationsfilter, Whatman 1 PS (eller motsvarande)
- 5.3 Centrifug
- 5.4 Spektrofotometer
- 5.5 Glasceller med en optisk gång på 1 cm
- 5.6 Potentiometer med skrivare
- 5.7 Glas/kalomelelektroder (det rekommenderas att speciella lågtemperaturolektroder används).

6. UTFÖRANDE

6.1 Identifiering

- 6.1.1 Väg 2 g av provet i en 10-ml bägare.
- 6.1.2 Tillsätt två droppar 2 N svavelsyra (4.4) och 2 ml Schiff's reagens (4.6) (detta reagens måste vara helt färglöst vid användningen).

Skaka och låt stå i fem minuter.
- 6.1.3 Om en rosa eller malvafärgad färgning syns inom fem minuter är formaldehyd överstigande 0.01 % närvarande och skall bestämmas enligt utförande 6.2 och om nödvändigt enligt utförande 6.3.

6.2 Bestämning med pentan-2,4-dionkolorimetri

6.2.1 Provlösning

- 6.2.1.1 Väg på 0,001 g när i en 100-ml volumetrisk kolv en kvantitet (m i gram) av provet motsvarande en förmodad kvantitet formaldehyd på omkring 150 µg.

- 6.2.1.2 Fyll upp till 100 ml med demineraliserat vatten och blanda.

- 6.2.1.3 Blanda i en 50-ml Erlenmeyerkol:

10,00 ml lösning från 6.2.1.2.,

5,00 ml pentan-2,4-dion reagens (4.7),

demineraliserat vatten till en slutlig volym på 30 ml.

6.2.2 Referenslösning

Eventuell störning på grund av bakgrundsfärg hos provet elimineras genom användning av denna referenslösning.

Blanda i en 50-ml Erlenmeyerkol:

10,00 ml lösning från 6.2.1.2.,

5,00 ml referensreagenslösning (4.15),

demineraliserat vatten till en slutlig volym på 30 ml.

6.2.3 Blank lösning

Blanda i en 50-ml Erlenmeyerkolv:

5,00 ml pentan-2,4-dionreagens (4.7),

demineraliserat vatten till en slutlig volym på 30 ml.

6.2.4 Bestämning

6.2.4.1 Skaka kolvarna från 6.2.1.3, 6.2.2 och 6.2.3 och sänk ned i vattenbad vid 60 °C under exakt 10 minuter. Tillåt svalna under två minuter i isvattenbad.

6.2.4.2 Överför i 50-ml separertrattar innehållande 10,00 ml butan-1-ol (4.3). Skölj varje kolv med 3 till 5 ml vatten och tillsätt sköljvätskan till trattarna. Skaka blandningen kraftigt under exakt 30 sekunder. Låt den separera.

6.2.4.3 Filtrera i mätceller genom ett fasseparationsfilter. Centrifugering (5 000 varv/min. under fem minuter) är mindre praktiskt och tar längre tid.

6.2.4.4 Mät den optiska tätheten A_1 vid 410 nm på extraktet av provlösningen från 6.2.1.3 mot extraktet av referenslösningen 6.2.2.

6.2.4.5 Mät på samma sätt extraktet av blanklösningen från 6.2.3 mot butan-1-ol (A_2).

Observera

Alla dessa operationer måste utföras inom 25 minuter från det ögonblick när Erlenmeyerkolvarna placerades i vattenbadet på 60 °C.

6.2.5 Standardkurva

6.2.5.1 Blanda i en 50-ml Erlenmeyerkolv:

5,00 ml standardlösning (4.13),

5,00 ml pentan-2,4-dionreagens (4.7),

demineraliserat vatten till en slutvolym på 30 ml.

6.2.5.2 Fortsätt som beskrivet i Sektion 6.2.4.5, mät den optiska tätheten mot butan-1-ol (4.3).

6.2.5.3 Upprepa utförandet med 10, 15, 20, och 25 ml standardlösning.

6.2.5.4 För att erhålla 0-värdet fortsätt som i 6.2.4.5.

6.2.5.5 Konstruera standardkurvan efter subtraktion av 0-värdet (6.2.4.5) från var och en av de optiska tätheterna erhållna i 6.2.5.2 och 6.2.5.3. Beers lag gäller upp till 30 µg formaldehyd.

6.3 Bestämning med bisulfit**6.3.1 Preparering av provet****6.3.1.1 För prov**

Väg i en tarerad bägare till närmaste 0,001 g en kvantitet av provet (m gram) motsvarande den förmodade kvantiteten mellan 3 och 20 mg formaldehyd.

6.3.1.2 Referensprov

Väg på liknande sätt upp ett referensprov (m gram).

6.3.2 *Bestämning*

6.3.2.1 Överför 50,00 ml 0,1 M natriumsulfit (4.5) i en 100-ml bägare och tillsätt 10,00 ml 0,1 N svavelsyra (4.8). Skaka.

6.3.2.2 Sänk ned bägaren i en blandning av is och salt för att hålla temperaturen av det hela vid +2 °C. Håll i prov 6.3.1.1.

6.3.2.3 Titra snabbt med potentiometri med 0,1 N natriumhydroxid (4.9), skaka kontinuerligt och håll temperaturen mellan +2 och +4 °C (den neutrala punkten ligger mellan pH 9 och 11).

Låt V_1 vara volymen av använd 0,1 N (4.9) natriumhydroxid.

6.3.3 *Blankprov*

Nitrera en ytterligare lösning beredd som i 6.3.2.1 enligt förutsättningarna beskrivna i 6.3.2.

Låt V_2 vara volymen av 0,1 N natriumhydroxid (4.9) som tagits.

6.3.4 *Referensprov*

Bestäm provets surhetsgrad eller alkalitet genom potentiometrisk titring med 0,1 N natriumhydroxid (4.9) eller 0,1 N svavelsyra (4.8) i provet m' . Låt v' vara volymen av 0,1 N natriumhydroxid eller svavelsyra 0,1 N som använts.

6.3.5 *Observera*

Strikt iakttagande av villkoren för provningen är viktigt.

Det är möjligt att utföra bestämningen i närvaro av tymoftalein (4.14) som indikator.

7. PRESENTATION AV RESULTATEN

7.1 **Beräkning för den kolorimetriska metoden**

7.1.1 Subtrahera A_2 från A_1 och avläs från standardkurvan (6.2.5.5) mängden C i mikrogram formaldehyd i provlösningen (6.2.1.3).

7.1.2 Beräkna formaldehydinnehållet i provet som viktprocent (% m/m) med hjälp av följande formel:

$$\text{formaldehydinnehåll i \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2 **Beräkning för bisulfittitreringsmetoden**

Relatera volymen 0,1 N natriumhydroxid (4.9) eller 0,1 N svavelsyra (4.8) som tagits i referensprovet till vikten m :

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

För en neutral produkt är v naturligtvis noll.

7.2.1 I händelse av en sur produkt:

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

7.2.2 I händelse av en alkalisk produkt:

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

7.3 **Anmärkning**

Om resultaten från de två metoderna skiljer sig, skall endast den lägre siffran tas.

8. REPRODUCERBARHET⁽¹⁾

Vid ett formaldehydinnehåll på 0,2 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar utförda parallellt på samma prov inte överskrida 0,005 % för den kolorimetriska metoden och 0,05 % för bisulfitmetoden.

V. BESTÄMNING AV RESORCINOL I SCHAMPON OCH HÅRVATTEN

1. SYFTE OCH OMFATTNING

Denna metod specificerar den gaskromatografiska bestämningen av resorcinol i schampion och hårvatten. Metoden lämpar sig för koncentrationer på 0,1 upp till 2,0 viktprocent i provet.

2. DEFINITION

Resorcinolinnehållet i provet, bestämt enligt denna metod, uttrycks i viktprocent.

3. PRINCIP

Resorcinol och 3,5-dihydroxitoluen, (5-metylresorcinol) tillsatt som intern standard, separeras från provet med tunnskiktskromatografi. Båda föreningarna isoleras genom att skrapa fläckarna från tunnskiktspattan och genom att extrahera med metanol. Slutligen torkas de extraherade föreningarna, silyleras och bestäms med gaskromatografi.

4. REAGENS

Alla reagens måste vara av analytisk renhetsgrad.

4.1 Saltsyra 25 % (m/m)

4.2 Metanol

4.3 Etanol 96 % (v/v)

4.4 Färdiga kiselgel TLC plattor (plast eller aluminium) med fluorescerande indikator. Avaktivera enligt följande: spruta vanliga förut täckta kiselgelplattor med vatten tills de glaseras. Låt de besprutade plattorna torka i rumstemperatur i en till tre timmar.

Observera

Om plattorna inte avaktiveras kan förluster av resorcinol förekomma genom irreversibel adsorption på kisel.

4.5 Framkallningslösning: aceton – kloroform – ättiksyra (20:75:5 i volymförhållande).

4.6 Resorcinol standardlösning; lös upp 400 mg resorcinol i 100 ml 96 %-ig etanol (4.3) (1 ml motsvarar 4 000 µg resorcinol).

4.7 Intern standardlösning; lös upp 400 mg 3,5-dihydroxitoluen (DHT) i 100 ml 96 %-ig etanol (4.3) (1 ml motsvarar 4 000 µg DHT).

4.8 Standardlösning; blanda 10 ml av lösning 4.6 och 10 ml av lösning 4.7 i en 100-ml volumetrisk kolv, fyll upp till märket med 96 %-ig etanol (4.3) och blanda (1 ml motsvarar 400 µg resorcinol och 400 µg DHT).

⁽¹⁾ Se ISO Norm 5725.

4.9 Silyleringsmedel

4.9.1 N, O-bis-(trimetylsilyl)trifluoracetamid (BSTFA)

4.9.2 Hexametyldisilazan (HMDS)

4.9.3 Trimetylklorosilan (TMCS)

5. APPARATUR

5.1 Vanlig tunnskikts- och gaskromatografiutrustning

5.2 Glaskärl

6. UTFÖRANDE

6.1 Preparering av provet

6.1.1 Väg noggrant i en 150-ml bägare en provdel (m gram) av produkten som innehåller omkring 20 till 50 mg resorcinol.

6.1.2 Surgör med saltsyra (4.1) tills blandningen är sur (omkring 2 till 4 ml behövs), tillsätt 10 ml (40 mg DHT) av den interna standardlösningen (4.7) och blanda. Överför i en 100-ml volumetrisk kolv med etanol (4.3) fyll upp till märket med etanol och blanda.

6.1.3 Sätt 250 µl av lösningen (6.1.2) på en avaktiverad kiselplatta (4.4) som en kontinuerlig linje omkring 8 cm lång. Försök få linjen så smal som möjligt.

6.1.4 Sätt 250 µl av standardlösningen (4.8) till samma platta på samma sätt (6.1.3).

6.1.5 Sätt fläckar på två punkter av startlinjen med 5 µl av vardera lösningen 4.6 och 4.7 för att hjälpa till med lokaliseringen efter framkallning av plattan.

6.1.6 Framkalla plattan i en ofodrad (omättad) vanna fylld med framkallningslösning 4.5 till dess lösningens front har nått en linje 12 cm från startlinjen; vanligen tar detta omkring 45 minuter. Lufttorka plattan och lokalisera resorcinol/DHT-zonen under kortvåg UV-ljus (254 nm). De två föreningarna har ungefär samma R_f -värden. Markera banden med en penna på 2 mm avstånd från den utsides mörka gränslinjen på banden. Avlägsna dessa zoner och samla upp det adsorberade av vardera bandet i en 10-ml flaska.

6.1.7 Extrahera det adsorberade innehållande provet och det adsorberade innehållande standardlösningen på följande sätt:

Tillsätt 2 ml metanol (4.2) och extrahera under en timme under kontinuerlig omrörning. Filtrera blandningen och upprepa extraktionen under ytterligare 15 minuter med 2 ml metanol.

6.1.8 Kombinera extrakten och avdunsta lösningen genom att torka över natten i en vakuumexsickator med lämpligt torkmedel. Använd inte värme.

6.1.9 Silylera återstoden (6.1.8) som angivet i antingen 6.1.9.1. eller 6.1.9.2.

6.1.9.1 Tillsätt 200 µl BSTFA (4.9.1) med en mikrospruta och lämna blandningen i ett slutet kärl i 12 timmar vid rumstemperatur.

6.1.9.2 Tillsätt successivt 200 µl HMDS (4.9.2) och 100 µl TMCS (4.9.3) med en mikrospruta och upphetta blandningen under 30 minuter vid 60 grader C i ett slutet kärl. Kyl blandningen.

6.2 Gaskromatografi

6.2.1 Kromatografiska förhållanden

Kolonnen måste ge en upplösning, R, motsvarande eller bättre än 1,5, där:

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

i vilken:

R_1 och R_2 = retentionstider i minuter för två toppar,

W_1 och W_2 = samma toppars bredd vid halv höjd i mm,

d' = skrivarhastigheten i mm per minut.

Följande kolonn- och gaskromatografiska förhållanden har befunnits lämpliga:

Kolonn material:	rostfritt stål
längd:	200 cm
intern diameter:	~ 3 mm
fyllnad:	10 % OV-17 på Chromosorb WAW 100 till 120 mesh

Flamjoniseringsdetektor

Temperaturer:	
kolonn:	185 °C (isothermal)
detektor:	250 °C
injektionsport	250 °C
Bärargas:	kväve
flöde:	45 ml/min.

För inställning av väte och luftflöde följ tillverkarens anvisningar.

- 6.2.2 Injicera 1 till 3 μ l av lösningen erhållen enligt 6.1.9 i gaskromatografen. Utför fem injektioner för varje lösning (6.1.9), mät toppytorna, tag medeltalet av dessa och beräkna förhållandet av toppytorna: $S = \text{toppyta resorcinol/toppyta DHT}$.

7. BERÄKNING

Koncentrationen av resorcinol i provet uttryckt i vikt-procent (% m/m) fås genom:

$$\% \text{ resorcinol} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{prov}}}{S_{\text{standardlösning}}}$$

i vilken:

M = provdel i gram (6.1.1),

S_{prov} = medeltalet toppytetförhållande enligt 6.2.2 för provlösningen,

$S_{\text{standardlösning}}$ = medeltalet toppytetförhållande enligt 6.2.2 för standardlösningen.

8. REPRODUCERBARHET⁽¹⁾

Vid ett resorcinolinnehåll på omkring 0,5 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar parallellt utförda på samma prov inte överstiga ett absolut värde på 0,025 %.

VI. BESTÄMNING AV METANOL I RELATION TILL ETANOL ELLER 2-PROPANOL

1. SYFTE OCH OMFATTNING

Denna metod beskriver den gaskromatografiska analysen av metanol i alla typer av kosmetiska produkter (inklusive aerosoler).

Relativa halter på 0 till 10 % kan bestämmas.

2. DEFINITION

Metanolinnehållet som bestäms enligt denna metod uttrycks i viktprocent metanol i relation till etanol eller 2-propanol.

3. PRINCIP

Bestämningen utförs med gaskromatografi.

⁽¹⁾ Se ISO Norm 5725.

4. REAGENS

Använd reagens av analytisk renhetsgrad.

4.1 Metanol

4.2 Absolut etanol

4.3 2-propanol

4.4 Kloroform, befriat från alkoholer genom tvättning med vatten

5. APPARATUR

5.1 Gaskromatograf:

med Katarometerdetektor för aerosolprover.
med flamjoniseringsdetektor för icke-aerosolprover.

5.2 Volumetriska kolvar, 100 ml

5.3 Pipetter, 2 ml, 20 ml, 0 till 1 ml

5.4 Mikrosprutor 0 till 100 μ l och 0 till 5 μ l och (endast för aerosolprover) speciella gastäta sprutor med skjutventil (se provutförande Bild 5)⁽¹⁾.

6. UTFÖRANDE

6.1 Preparering av prov

6.1.1 Provtagning av aerosolprodukter sker enligt kapitel II i bilagan till kommissionens direktiv 80/1335/EEG av den 22 december 1980⁽¹⁾ och analyseras gaskromatografiskt enligt villkoren i 6.2.1.

6.1.2 Prover av icke-aerosolprodukter tagna enligt ovannämnda kapitel II späds med vatten till en halt av 1 till 2 % etanol eller 2-propanol och analyseras sedan gaskromatografiskt enligt villkoren i 6.2.2.

6.2 Gaskromatografi

6.2.1 För aerosolprover används katarometerdetektor.

6.2.1.1 Kolonnen fylls med 10 % Hallcomid M 18 på Chromsorb WAW 100 till 200 mesh.

6.2.1.2 Kolonnen måste ge en upplösning, R, motsvarande eller bättre än 1,5, där

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

i vilken:

R_1 och R_2 = retentionstider i minuter hos två toppar,

W_1 och W_2 = samma toppars bredd vid halv höjd i mm,

d' = skrivarens hastighet i mm per minut.

6.2.1.3 Följande förhållanden tillåter att denna upplösning uppnås:

Kolonn material: rostfritt stål

längd: 3,5 meter

diameter: 3 mm

⁽¹⁾ EGT nr L 383, 31.12.1980, s. 27.

Katarmeters bryggström: 150 mA
 Bärargas: helium — tryck: 2,5 bar; flöde: 45 ml/min.

Temperaturer:
 injektionsport: 150 °C
 detektor: 150 °C
 kolonnugn: 65 °C

6.2.2 För icke-aerosol prover:

6.2.2.1 Kolonnen fylls med Chromosorb 105 eller Porapak QS och flamjoniseringsdetektorn används.

6.2.2.2 Kolonnen måste ge en upplösning, R, motsvarande eller bättre än 1,5, där:

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

i vilken:

R_1 och R_2 = retentionstiderna i minuter av två toppar,
 W_1 och W_2 = samma toppars bredd vid halv höjd i mm,
 d' = skrivarens hastighet i mm per minut.

6.2.2.3 Denna upplösning har erhållits vid användning av följande förhållanden:

Kolonn material: rostfritt stål
 längd: 2 meter
 diameter: 3 mm
 Elektrometerkänslighet: 8×10^{-10} A
 bärare: kväve — tryck: 2,1 bar; flöde: 40 ml/min
 hjälpgas: väte — tryck: 1,5 bar; flöde: 20 ml/min
 Temperaturer:
 injektionsport 150 °C
 detektor: 230 °C
 kolonnugn: 120° till 130 °C

7. STANDARDDIAGRAM

7.1 För gaskromatografiutförande 6.2.1 (Hallcomid M 18 kolonn) används följande standardblandning. Bered dessa blandningar med mätpipetter, men ta reda på den exakta mängden genom att väga pipetten eller kolven omedelbart efter varje tillsats.

Relativ styrka (m/m %)	Metanol (ml)	Etanol eller 2-propanol (ml)	Kloroform tillsatt till en volym på
ungefär 2,5 %	0,5	20	100 ml
ungefär 5,0 %	1,0	20	100 ml
ungefär 7,5 %	1,5	20	100 ml
ungefär 10,0 %	2,0	20	100 ml

Injicera 2 till 3 µl i kromatografen enligt villkoren i 6.2.1.

Beräkna toppytornas förhållande (metanol/etanol) eller (metanol/2-propanol) av varje blandning.

Rita upp standarddiagram genom att använda

X-axel: % metanol i förhållande till etanol eller 2-propanol,

Y-axel: toppytetförhållande (metanol/etanol) eller (metanol/2-propanol).

- 7.2 För gaskromatografiutförandet 6.2.2 (Poropak QS eller Chromosorb 105) används följande standardblandningar. Bered dessa blandningar genom att mäta med mikrospruta och pipett, men ta reda på den exakta mängden genom att väga pipetten eller kolven omedelbart efter varje tillsats.

Relativa styrka (m/m %)	Metanol (μ l)	Etanol eller 2-propanol (ml)	Vatten tillsatt till en volym på
ungefär 2,5 %	50	2	100 ml
ungefär 5,0 %	100	2	100 ml
ungefär 7,5 %	150	2	100 ml
ungefär 10,0 %	200	2	100 ml

Injicera 2 till 3 μ l i kromatografen genom användning av förhållandena i 6.2.2.

Beräkna toppyteförhållandet (metanol/etanol) eller (metanol/2-propanol) av varje blandning.

Rita upp standarddiagram genom att använda

X-axel: % metanol i förhållande till etanol eller 2-propanol,

Y-axel: toppyteförhållande (metanol/etanol) eller (metanol/2-propanol)

- 7.3 Standarddiagrammet måste vara en rät linje.

8. REPRODUCERBARHET⁽¹⁾

Vid metanolinnehåll på 5 % i förhållande till etanol eller 2-propanol bör skillnaden mellan två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga 0,25 %.

⁽¹⁾ Se Norm ISO 5725.