

Europeiska gemenskapernas officiella tidning

ISSN 1024-3054

L 178

trettioåttonde årgången

28 juli 1995

Svensk utgåva

Lagstiftning

Innehållsförteckning

I *Rättsakter vilkas publicering är obligatorisk*

- ★ Kommissionens direktiv 95/31/EG av den 5 juli 1995 om särskilda renhetskriterier för sötningsmedel som används i livsmedel 1
- ★ Kommissionens sjätte direktiv 95/32/EG av den 7 juli 1995 om analysmetoder för kontroll av kosmetiska produkters sammansättning 20

2

SV

De rättsakter vilkas titlar är tryckta med fin stil är sådana rättsakter som har avseende på den löpande handläggningen av jordbrukspolitiska frågor. De har normalt en begränsad giltighetstid.
Beträffande alla övriga rättsakter gäller att titlarna är tryckta med fetstil och föregås av en asterisk.

I

(Rättsakter vilkas publicering är obligatorisk)

KOMMISSIONENS DIREKTIV 95/31/EG

av den 5 juli 1995

om särskilda renhetskriterier för sötningsmedel som används i livsmedel

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR
ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 89/107/EEG av den 21 december 1988 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om livsmedelstillsatser som är godkända för användning i livsmedel⁽¹⁾, senast ändrat genom direktiv 94/34/EG⁽²⁾ särskilt artikel 3.3 a i detta

efter samråd med vetenskapliga livsmedelskommittén, och

med beaktande av följande:

Det är nödvändigt att fastställa renhetskriterier för alla sötningsmedel som anges i direktiv 94/35/EG⁽³⁾ av den 30 juni 1994 om sötningsmedel för användning i livsmedel.

Det är nödvändigt att beakta de specifikationer och analysmetoder för sötningsmedel som fastställs i Codex Alimentarius och som fastställs av Gemensamma FAO-WHO-expertgruppen för livsmedelstillsatser (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives — JECFA).

Livsmedelstillsatser som har framställts med väsentligen andra metoder eller av andra utgångsmaterial än dem som omfattas av Vetenskapliga livsmedelskommitténs bedömning eller de som nämns i detta direktiv, bör inges till Vetenskapliga livsmedelskommittén för en fullständig bedömning med tonvikt på renhetskriterier.

De åtgärder som avses i detta direktiv är förenliga med yttrandet från Ständiga livsmedelskommittén.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE

Artikel 1

1. De renhetskriterier som avses i artikel 3.3 a i direktiv 89/107/EEG för de sötningsmedel som anges i direktiv 94/35/EG fastställs i bilagan.

2. Renhetskriterierna för E420(i), E420(ii) och E421 i bilagan till detta direktiv går före renhetsskrifterna, för dessa ämnen, som avses i bilagan till rådets direktiv 78/663/EG⁽⁴⁾.

Artikel 2

1. Medlemsstaterna skall senast den 1 juli 1996 sätta i kraft de lagar och författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv. De skall genast underrätta kommissionen om detta.

När en medlemsstat antar dessa bestämmelser skall de innehålla en hänvisning till detta direktiv eller skall åtföljas av en sådan hänvisning när de offentliggörs. Närmare föreskrifter om hur hänvisningen skall göras skall varje medlemsstat själv utfärda.

2. Sådana produkter som släpps ut på marknaden eller märks före nämnda datum och som inte uppfyller kraven

⁽¹⁾ EGT nr L 40, 11.2.1989, s. 27.

⁽²⁾ EGT nr L 237, 10.9.1994, s. 1.

⁽³⁾ EGT nr L 237, 10.9.1994, s. 3.

⁽⁴⁾ EGT nr L 223, 14.8.1978, s. 7.

i detta direktiv får emellertid saluföras till dess att lagren är slutsålda.

Artikel 4

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Artikel 3

Utfärdat i Bryssel den 5 juli 1995

Detta direktiv träder i kraft den tjugonde dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska gemenskapernas officiella tidning*.

På kommissionens vägnar
Martin BANGEMANN
Ledamot av kommissionen

BILAGA

E420(i) — SORBITOL

Synonymer	D-glucitol, D-sorbitol
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	D-glucitol
<i>EINECS-nummer</i>	200-061-5
<i>E-nummer</i>	E420(i)
<i>Kemisk formel</i>	$C_6H_{14}O_6$
<i>Relativ molekylmassa</i>	182,17
<i>Innehåll</i>	Minst 97 % glycitoler och minst 91 % D-sorbitol beräknat på torrsubstans Glycitoler är föreningar med strukturformeln $CH_2OH-(CHOH)_n-CH_2OH$ där n är ett heltal.
Beskrivning	Ett vitt hygroskopiskt pulver, ett vitt kristallinskt pulver, vita flingor eller granulat med söt smak
Identifiering	
A. <i>Löslighet</i>	Lättlöslig i vatten Något löslig i etanol
B. <i>Smältintervall</i>	88 °C–102 °C
C. <i>Sorbitolmonobensylidenderivat</i>	Väg upp 5 g av provet och tillsätt 7 ml metanol, 1 ml bensaldehyd och 1 ml saltsyra. Blanda och skaka i en mekanisk skakapparat tills kristaller bildas. Sugfiltrera och lös därefter kristallerna i 20 ml kokande vatten, till vilket 1 g natriumbikarbonat tillsatts. Filtrera medan vätskan är varm. Kyl filtratet, sugfiltrera och skölj det med 5 ml av en blandning av metanol och vatten (1:2) och låt lufttorka. De sålunda erhållna kristallerna smälter mellan 173 °C–179 °C.
Renhetsgrad	
<i>Vattenhalt</i>	Högst 1 % (Karl Fischer-metoden)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,1 % beräknat på torrsubstans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 0,3 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Sockerarter, totalt</i>	Högst 1 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Klorider</i>	Högst 50 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Sulfater</i>	Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans

<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
E420(ii) — SORBITOLSIRAP	
Synonymer	D-glucitolsirap
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Sorbitolsirap, framställd genom hydrogenering av glukossirap, består av D-sorbitol, D-mannitol och hydrogenerade sackarider. Den del av produkten som inte är D-sorbitol består huvudsakligen av hydrogenerade oligosackarider som bildats genom hydrogenering av utgångsmaterialet glukossirap (i vilket fall sirapen är ickekristalliserande) eller mannitol. Mindre mängder glycitoler med $n4$ kan förekomma. Glycitoler är föreningar med strukturformeln $\text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_n-\text{CH}_2\text{OH}$ där n är ett heltal.
<i>EINECS-nummer</i>	270-337-8
<i>E-nummer</i>	E420(ii)
<i>Innehåll</i>	Minst 69 % torrsubstans totalt och minst 50 % D-sorbitol beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	En klar, färglös vattenlösning med söt smak
Identifiering	
<i>A. Löslighet</i>	Blandbar med vatten, glycerol och propan-1,2-diol
<i>B. Sorbitolmonobensylidenderivat</i>	Väg upp 5 g av provet och tillsätt 7 ml metanol, 1 ml bensaldehyd och 1 ml saltsyra. Blanda och skaka i en mekanisk skakapparat tills kristaller bildas. Sugfiltrera och lös därefter kristallerna i 20 ml kokande vatten, till vilket 1 g natriumbikarbonat tillsatts. Filtrera medan vätskan är varm. Kyl filtratet, sugfiltrera och skölj det med 5 ml av en blandning av metanol och vatten (1:2) och låt lufttorka. De sålunda erhållna kristallerna smälter mellan 173 °C–179 °C.
Renhetsgrad	
<i>Vattenhalt</i>	Högst 31 % (Karl Fischer-metoden)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,1 % beräknat på torrsubstans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 0,3 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Klorider</i>	Högst 50 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Sulfater</i>	Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

E421 — MANNITOL

Synonymer	D-mannitol
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	D-mannitol
<i>EINECS-nummer</i>	200-711-8
<i>E-nummer</i>	E421
<i>Kemisk formel</i>	C ₆ H ₁₄ O ₆
<i>Relativ molekylmassa</i>	182,2
<i>Innehåll</i>	Minst 96,0 % D-mannitol beräknat på torrsubstans
Beskrivning	Ett vitt, luktlöst, kristallinskt pulver med söt smak
Identifiering	
A. Löslighet	Löslig i vatten. Mycket låg löslighet i etanol, praktiskt taget olöslig i kloroform och i eter.
B. Smältintervall	165 °C–169 °C, men börjar mjukna vid lägre temperatur
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 0,3 % (105 °C, 4 timmar)
<i>pH</i>	5–8 Tillsätt 0,5 ml mättad kaliumkloridlösning till 10 ml av en 10 %-ig lösning (volymvikt) av provet och mät därefter pH-värdet.
<i>Specifik rotation</i>	(α) _D ²⁰ specifik rotation i boratlösning beräknad på grundval av vattenfri substans ligger mellan +23° och +25°.
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,1 % beräknat på torrsubstans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 0,3 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Sockerarter, totalt</i>	Högst 1,0 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Klorider</i>	Högst 70 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Sulfater</i>	Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

E953 — ISOMALT

Synonymer	Hydrerad isomaltos, hydrerad palatinos
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Isomalt är en ungefärligt ekvimolar blandning av D-glukopyranosyl-1,6-D-glucitol och D-glukopyranosyl-1,1-D-mannitoldihydrat
<i>EINECS-nummer</i>	
<i>E-nummer</i>	E953
<i>Kemisk formel</i>	D-glukopyranosyl-1,6-D-glucitol: $C_{12}H_{24}O_{11}$ D-glukopyranosyl-1,1-D-mannitoldihydrat: $C_{12}H_{24}O_{11} \cdot 2H_2O$
<i>Relativ molekylmassa</i>	D-glukopyranosyl-1,6-D-glucitol: 344,32 D-glukopyranosyl-1,1-D-mannitoldihydrat: 380,32
<i>Innehåll</i>	Minst 95 % av en blandning av D-glukopyranosyl-1,6-D-glucitol och D-glukopyranosyl-1,1-D-mannitoldihydrat beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	En vit, luktlös, kristallinsk, svagt hygroskopisk substans med söt smak
Identifiering	
A. <i>Löslighet</i>	Något löslig i vatten Olöslig i etanol
B. <i>Specifik rotation</i>	$(\alpha)_D^{20} +90^\circ \rightarrow +92^\circ$ (4 %-ig lösning (volymvikt))
C. <i>Smältintervall</i>	145 °C–150 °C
Renhetsgrad	
<i>Vattenhalt</i>	Högst 7 % (Karl Fischer-metoden)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,05 % beräknat på torrsubstans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 1,5 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

E965(i) — MALTITOL

Synonymer	D-maltitol, hydrerad maltos
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	(α)-D-glukopyranosyl-1,4-D-glucitol

<i>EINECS-nummer</i>	209-567-0
<i>E-nummer</i>	E965(i)
<i>Kemisk formel</i>	$C_{12}H_{24}O_{11}$
<i>Relativ molekylmassa</i>	344,31
<i>Innehåll</i>	Minst 98,0 % D-maltitol $C_{12}H_{24}O_{11}$ beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Ett vitt, kristallinskt pulver med söt smak
Identifiering	
A. <i>Löslighet</i>	Lättlöslig i vatten, något löslig i etanol
B. <i>Smältintervall</i>	148 °C–151 °C
C. <i>Specifik rotation</i>	$(\alpha)_D^{20} = +105,5^\circ \text{--} +108,5^\circ$ (5 %-ig lösning (volymvikt))
Renhetsgrad	
<i>Vattenhalt</i>	Högst 1 % (Karl Fischer-metoden)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,1 % beräknat på torrs substans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 0,1 % uttryckt som glukos beräknat på torrs substans
<i>Klorider</i>	Högst 50 mg/kg beräknat på torrs substans
<i>Sulfater</i>	Högst 100 mg/kg beräknat på torrs substans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrs substans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrs substans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrs substans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrs substans

E965(ii) — MALTITOLSIRAP

Synonymer	Hydrerad glukosirap med hög maltoshalt, hydrerad glukosirap.
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	En blandning som huvudsakligen består av maltitol med sorbitol och hydrogenerade oligo- och polysackarider. Blandningen framställs genom katalytisk hydrogenering av glukosirap med hög maltoshalt. Handelsvaran levereras både som sirap och i fast form.
<i>EINECS-nummer</i>	270-337-8

Beskrivning	Ett kristallinsk pulver eller en färglös lösning med söt smak. Kristallinska produkter förekommer både i vattenfri form och som monohydrat och dihydrat.
Identifiering	
A. Löslighet	Lättlöslig i vatten
B. Specifik rotation	$(\alpha)_D^{25} = +13^{\circ}-+16^{\circ}$ beräknad på torrsubstansen (10 % vattenlösning (volymvikt))
Renhetsgrad	
Vattenhalt	Kristallinska produkter: Högst 10,5 % (Karl Fischer-metoden)
Andra polyoler	Högst 2,5 % beräknat på vattenfri substans
Reducerande sockerarter	Högst 0,2 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
Klorider	Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans
Sulfater	Högst 200 mg/kg beräknat på torrsubstans
Sulfataska	Högst 0,1 % beräknat på torrsubstans
Nickel	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
Arsenik	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
Bly	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
Tungmetaller	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

E967 — XYLITOL

Synonymer	Xylitol
Definition	
Kemiskt namn	D-xylitol
EINECS-nummer	201-788-0
E-nummer	E967
Kemisk formel	$C_5H_{12}O_5$
Relativ molekylmassa	152,15
Innehåll	Minst 98,5 % uttryckt som xylitol beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Ett vitt, kristallinskt, praktiskt taget luktlöst pulver med mycket söt smak
Identifiering	
A. Löslighet	Lättlöslig i vatten, svårlöslig i etanol
B. Smältintervall	92 °C–96 °C
C. pH	5,0–7,0 (10 %-ig vattenlösning (volymvikt))

Renhetsgrad

<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 0,5 %. Torka 0,5 g av provet i vakuum över fosfor (60 °C) i 4 timmar.
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,1 % beräknat på torrsubstans
<i>Reducerande sockerarter</i>	Högst 0,2 % uttryckt som glukos beräknat på torrsubstans
<i>Andra polyhydratalkoholer</i>	Högst 1 % beräknat på torrsubstans
<i>Nickel</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Klorider</i>	Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Sulfater</i>	Högst 200 mg/kg beräknat på torrsubstans

E950 — ACESULFAMKALIUM**Synonymer**

Acesulfam K, acesulfamkalium, acesulfam, kaliumsalt av 3,4-dihydro-6-methyl-1,2,3-oxatiazin-4-on-2,2-dioxid

Definition

<i>Kemiskt namn</i>	Kalium 6-methyl-1,2,3-oxatiazin-4(3H)-on-2,2-dioxid
<i>EINECS-nummer</i>	259-715-3
<i>E-nummer</i>	E950
<i>Kemisk formel</i>	$C_4H_4NO_4SK$
<i>Relativ molekylmassa</i>	201,24
<i>Innehåll</i>	Minst 99 %, $C_4H_4NO_4SK$ beräknat på vattenfri substans

Beskrivning

Ett vitt, luktlöst, kristallinskt pulver med mycket söt smak. Ungefär 200 gånger sötare än sackaros.

Identifiering

A. <i>Löslighet</i>	Lättlösligt i vatten, mycket låg löslighet i etanol
B. <i>Ultraviolet absorption</i>	Högst $227 \pm 2nm$ i en lösning på 10 mg i 1 000 ml vatten

Renhetsgrad

<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 1 % (105 °C, 2 timmar)
-----------------------------	------------------------------

<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Fluorid</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
E951 — ASPARTAM	
Synonymer	Aspartylfenylalaninmetylester
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	N-L- α -(aspartyl-L-fenylalanin-1-metylester, 3-amino-N(α -karbometoxi-fenetyl)-succinimid-syra-N-metylester
<i>EINECS-nummer</i>	245-261-3
<i>E-nummer</i>	E951
<i>Kemisk formel</i>	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
<i>Relativ molekylmassa</i>	294,31
<i>Innehåll</i>	Minst 98 % och högst 102 % $C_{14}H_{18}N_2O_5$ beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Ett vitt, luktlöst, kristallinskt pulver med mycket söt smak. Ungefär 200 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Något lösligt i vatten och i etanol
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 4,5 % (105 °C, 4 timmar)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,2 % beräknat på torrsubstans
<i>pH</i>	4,5–6,0 (1:125-lösning)
<i>Transmittering</i>	Minst 0,95, motsvarande en absorbans på högst ca 0,022 för en 1 %-ig lösning i 2 N saltsyra, bestämd med en lämplig spektrofotometer vid 430 nm i en 1 cm kuvett med 2 N saltsyra som standard.
<i>Specifik rotation</i>	$(\alpha)_D^{20} = +14,5^\circ \text{--} +16,5^\circ$ Bestäms i en 4 %-ig lösning i 15 N myrsyra inom 30 minuter efter det att lösningen beretts.
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans

<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>5-bensyl-3,6-dioxo-2-piperazinättiksyra</i>	Högst 1,5 % beräknat på torrsubstans

E952 — CYKLAMSYRA OCH DESS Na- OCH Ca-SALTER

(I) CYKLAMSYRA

Synonymer	Cyklohexylsulfaminsyra, cyklam
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Cyklohexansulfaminsyra, cyklohexylaminosulfonsyra
<i>EINECS-nummer</i>	202-898-1
<i>E-nummer</i>	E952
<i>Kemisk formel</i>	$C_6H_{13}NO_3S$
<i>Relativ molekylmassa</i>	179,24
<i>Innehåll</i>	Cyklohexylsulfaminsyra innehåller minst 98 % och högst motsvarande 102 % $C_6H_{13}NO_3S$ beräknat på vattenfri substans.
Beskrivning	Ett praktiskt taget färglöst, vitt kristallinskt pulver med sötsur smak. Ungefär 40 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
A. <i>Löslighet</i>	Löslig i vatten och i etanol
B. <i>Fällningsprov</i>	Surgör en 2 %-ig lösning med saltsyra, tillsätt 1 ml av en ca 1-molar lösning av bariumklorid i vatten och filtrera eventuell grumling eller fällning. Tillsätt 1 ml 10 %-ig natriumnitritlösning för att klara lösningen. En vit fällning bildas.
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 1 % (105 °C, 1 timme)
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg uttryckt som selen beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Cyklohexylamin</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Dicyklohexylamin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Anilin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans

(II) E952 — NATRIUMCYKLAMAT

Synonymer	Cyklamat, natriumsalt av cyklamsyra
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Natriumcyklohexansulfamat, natriumcyklohexylsulfamat
<i>EINECS-nummer</i>	205-348-9
<i>E-nummer</i>	E952
<i>Kemisk formel</i>	$C_6H_{12}NNaO_3S$ och dihydratformen $C_6H_{12}NNaO_3S \cdot 2H_2O$
<i>Relativ molekylmassa</i>	Anhydridformen: 201,22 Dihydratformen: 237,22
<i>Innehåll</i>	Minst 98 % och högst 102 % beräknat på torrsubstans Dihydratformen: Minst 84 % beräknat på torrsubstans
Beskrivning	Vita, luktlösa kristaller eller ett vitt, luktlöst kristallinskt pulver. Ungefär 30 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Lösligt i vatten, praktiskt taget olösligt i etanol.
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 1 % (105 °C, 1 timme) Högst 15,2 % (105 °C, 2 timmar) för dihydratformen
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg uttryckt som selen beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Cyklohexylamin</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Dicyklohexylamin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Anilin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans

(III) KALCIUMCYKLAMAT

Synonymer	Cyklamat, kalciumsalt av cyklamsyra
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Kalciumcyklohexansulfamat, kalciumcyklohexylsulfamat
<i>EINECS-nummer</i>	205-349-4
<i>E-nummer</i>	E952
<i>Kemisk formel</i>	$C_{12}H_{24}CaN_2O_6S_2 \cdot 2H_2O$

<i>Relativ molekylmassa</i>	432,57
<i>Innehåll</i>	Minst 98 % och högst 101 % beräknat på torrsubstans
Beskrivning	Vita, luktlösa kristaller eller ett vitt luktlöst kristallinskt pulver. Ungefär 30 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Lösligt i vatten, svårslösligt i etanol
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 1 % (105 °C, 1 timme) Högst 8,5 % (140 °C, 4 timmar) för dihydratformen
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg uttryckt som selen beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Cyklohexylamin</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Dicyklohexylamin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Anilin</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans

E954 — SACKARIN OCH DESS Na-, K- OCH Ca-SALTER

(I) SACKARIN

Definition

<i>Kemiskt namn</i>	3-oxo-2,3-dihydrobenso(d)isotiazol-1,1-dioxid
<i>EINECS-nummer</i>	201-321-0
<i>E-nummer</i>	E954
<i>Kemisk formel</i>	C ₇ H ₅ NO ₃ S
<i>Relativ molekylmassa</i>	183,18
<i>Innehåll</i>	Minst 99 % och högst 101 % C ₇ H ₅ NO ₃ S beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Vita kristaller eller ett vitt kristallinskt pulver, luktlöst, eller med svag aromatisk doft, och med söt smak, även i mycket utspädda lösningar. Ungefär 300–500 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Något lösligt i vatten, lösligt i basiska lösningar, svårslösligt i etanol.

Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 1 % (105 °C, 2 timmar)
<i>Smältintervall</i>	226 °C–230 °C
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg, beräknat på torrsubstans
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,2 % beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra och salicylsyra</i>	Mät upp 10 ml av en 1:20-lösning, surgör med 5 droppar ättiksyra och tillsätt 3 droppar av en ca 1-molar lösning av järn(III)klorid i vatten. Ingen fällning eller violett färg framträder.
<i>o-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>p-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra-p-sulfonamid</i>	Högst 25 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Direkt pyrolyserbara substanser</i>	Saknas
(II) NATRIUMSACKARIN	
Synonymer	Sackarin, natriumsalt av sackarin
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Natrium-o-bensosulfimid, natriumsalt av 2,3-dihydro-3-oxobensisosulfonanzol, natriumsaltdihydrat av 1,2-bensisotiazolin-3-on-1,1-dioxid
<i>EINECS-nummer</i>	204-886-1
<i>E-nummer</i>	E954
<i>Kemisk formel</i>	C ₇ H ₄ NNaO ₃ S ₂ H ₂ O
<i>Relativ molekylmassa</i>	241,19
<i>Innehåll</i>	Minst 99 % och högst 101 % C ₇ H ₄ NNaO ₃ S beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Vita kristaller eller ett vitt kristallinskt efflorescerande pulver, luktlöst, eller med svag doft, och med mycket söt smak, även i mycket utspädda lösningar. Ungefär 300–500 gånger sötare än sackaros i utspädda lösningar.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Lättlösligt i vatten, svårlösligt i etanol.
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 15 % (120 °C, 4 timmar)

<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra och salicylsyra</i>	Mät upp 10 ml av en 1:20-lösning, surgör med 5 droppar ättiksyra och tillsätt 3 droppar av en ca 1-molar lösning av järn(III)klorid i vatten. Ingen fällning eller violett färg framträder.
<i>o-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>p-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra-p-sulfonamid</i>	Högst 25 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Direkt pyrolyserbara substanser</i>	Saknas
(III) KALCIUMSACKARIN	
Synonymer	Sackarin, kalciumsalt av sackarin
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Kalcium-o-bensosulfimid, kalciumsalt av 2,3-dihydro-3-oxobensisosulfonazol, kalciumsalhydrat av 1,2-bensisotiazolin-3-on-1,1-dioxid (2:7)
<i>EINECS-nummer</i>	229-349-9
<i>E-nummer</i>	E954
<i>Kemisk formel</i>	$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$
<i>Relativ molekylmassa</i>	467,48
<i>Innehåll</i>	Minst 95 % $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2$ beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Vita kristaller eller ett vitt kristallinskt pulver, luktlöst, eller med svag doft, och med mycket söt smak, även i mycket utspädda lösningar. Ungefär 300–500 gånger sötare än sackaros i utspädda lösningar.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Lättlösligt i vatten, lösligt i etanol.
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 13,5 % (120 °C, 4 timmar)
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

<i>Bensoesyra och salicylsyra</i>	Mät upp 10 ml av en 1:20-lösning, som surgjorts med 5 droppar ättiksyra och tillsatt 3 droppar av en ca 1-molar lösning av järn(III)klorid i vatten. Ingen fällning eller violett färg framträder.
<i>o-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>p-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra-p-sulfonamid</i>	Högst 25 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Direkt pyrolyserbara substanser</i>	Saknas
(IV) KALIUMSACKARIN	
Synonymer	Sackarin, kaliumsalt av sackarin
Definition	
<i>Kemiskt namn</i>	Kalium-o-besosulfimid, kaliumsalt av 2,3-dihydro-3-oxobensisosulfonazol, kaliumsalt-monohydrat av 1,2-bensisotiazolin-3-on-1,1-dioxid
<i>EINECS-nummer</i>	
<i>E-nummer</i>	E954
<i>Kemisk formel</i>	$C_7H_4KNO_3SH_2O$
<i>Relativ molekylmassa</i>	239,77
<i>Innehåll</i>	Minst 99 % och högst 101 % $C_7H_4KNO_3S$ beräknat på vattenfri substans
Beskrivning	Vita kristaller eller ett vitt kristallinskt pulver, luktlöst, eller med svag lukt, och med mycket söt smak, även i mycket utspädda lösningar. Ungefär 300–500 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>Löslighet</i>	Lättlösligt i vatten, svårlösligt i etanol
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 8 % (120 °C, 4 timmar)
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Selen</i>	Högst 30 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 1 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans
<i>Bensoesyra och salicylsyra</i>	Mät upp 10 ml av en 1:20-lösning, surgör med 5 droppar ättiksyra och tillsatt 3 droppar av en ca 1-molar lösning av järn(III)klorid i vatten. Ingen fällning eller violett färg framträder.
<i>o-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>p-toluensulfonamid</i>	Högst 10 mg/kg beräknat på torrsubstans

Bensoesyra-p-sulfonamid

Högst 25 mg/kg beräknat på torrsubstans

Direkt pyrolyserbara

Saknas

E957 — TAUMATIN**Synonymer****Definition***Kemiskt namn*

Taumatins framställs genom extraktion i vatten (pH 2,5–4,0) ur fröhylllet hos frukten av den naturliga sorten av *Thaumatococcus daniellii* (Benth) och består huvudsakligen av proteinerna taumatins I och taumatins II tillsammans med mindre mängder växtbeståndsdelar från ursprungsmaterialet.

EINECS-nummer

258-822-2

E-nummer

E957

Kemisk formel

Polypeptid av 207 aminosyror

Relativ molekylmassa

Taumatins I 22209
Taumatins II 22293

Innehåll

Minst 16 % kväve beräknat på torrsubstans, motsvarande minst 94 % proteiner (N x 5,8)

Beskrivning

Ett luktlöst, gräddgult pulver med en intensivt söt smak. Ungefär 2 000–3 000 gånger sötare än sackaros.

Identifiering*Löslighet*

Lättlösligt i vatten, olösligt i aceton.

Renhetsgrad*Förlust vid torkning*

Högst 9 % (105 °C till konstant vikt)

Kolhydrater

Högst 3,0 % beräknat på torrsubstans

Sulfataska

Högst 2,0 % beräknat på torrsubstans

Aluminium

Högst 100 mg/kg beräknat på torrsubstans

Arsenik

Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans

Bly

Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans

Mikrobiologiska kriterier

Fullständig räkning av aeroba mikrober: Högst 1 000/g
Escherichia coli: Saknas i 1 g

E959 — NEOHESPERIDIN DC**Synonymer**

Neohesperidindihydrochalkon, NHDC, hesperetindihydrochalkon-4'- β -neohesperidosid, neohesperidin Dihydrochalkon

Definition*Kemiskt namn*

2-O- α -L-ramnopyranosyl-4'- β -D-glukopyranosylhesperetindihydrochalkon, framställs genom katalytisk hydrogenering av neohesperidin.

<i>EINECS-nummer</i>	243-978-6
<i>E-nummer</i>	E959
<i>Kemisk formel</i>	$C_{28}H_{36}O_{15}$
<i>Relativ molekylmassa</i>	612,6
<i>Innehåll</i>	Minst 96 % beräknat på torrsubstans
Beskrivning	Naturvitt, luktlöst kristallinskt pulver med en karakteristisk, mycket söt smak. Ungefär 1 000–1 800 gånger sötare än sackaros.
Identifiering	
<i>A. Löslighet</i>	Lättlösligt i varmt vatten, mycket låg löslighet i kallt vatten, praktiskt taget olösligt i eter och bensen.
<i>B. Ultraviolet absorption</i>	Högst 282–283 nm i en lösning av 2 mg i 100 ml metanol.
<i>C. Neus prov</i>	Lös ca 10 mg neohesperidin DC i 1 ml metanol, tillsätt 1 ml 1%-ig lösning av 2-aminoetyldifenylboratmetanol. En ljusgul färg framträder.
Renhetsgrad	
<i>Förlust vid torkning</i>	Högst 11 % (105 °C, 3 timmar)
<i>Sulfataska</i>	Högst 0,2 % beräknat på torrsubstans
<i>Arsenik</i>	Högst 3 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Bly</i>	Högst 2 mg/kg beräknat på torrsubstans
<i>Tungmetaller</i>	Högst 10 mg/kg uttryckt som Pb beräknat på torrsubstans

KOMMISSIONENS SJÄTTE DIREKTIV 95/32/EG

av den 7 juli 1995

om analysmetoder för kontroll av kosmetiska produkters sammansättning

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR
ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska 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 kommissionens direktiv 94/32/EG⁽²⁾, särskilt artikel 8.1 i detta, och

med beaktande av följande:

Enligt direktiv 76/768/EEG skall kosmetiska produkter kontrolleras officiellt i syfte att säkerställa att villkoren i gemenskapens bestämmelser om kosmetiska produkters sammansättning uppfylls.

Alla nödvändiga analysmetoder bör fastställas så snart som möjligt. Vissa metoder har redan antagits genom kommissionens direktiv 80/1335/EEG⁽³⁾, ändrat genom direktiv 87/143/EEG⁽⁴⁾, kommissionens direktiv 82/434/EEG⁽⁵⁾, ändrat genom direktiv 90/207/EEG⁽⁶⁾, och kommissionens direktiv 83/514/EEG⁽⁷⁾, 85/490/EEG⁽⁸⁾ och 93/73/EEG⁽⁹⁾.

Identifiering och bestämning av bensoesyra, 4-hydroxibensoesyra, sorbinsyra, salicylsyra och propionsyra i kosmetiska produkter samt identifiering och bestämning av hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyler och hydrokinonmonobensyleter i kosmetiska produkter utgör ett sjätte steg.

De åtgärder som fastställs i detta direktiv är förenliga med yttrandet från kommittén för anpassning av direktiv 76/768/EEG med hänsyn till teknisk utveckling.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Medlemsstaterna skall vidta alla nödvändiga åtgärder för att säkerställa att, vid offentlig kontroll av kosmetiska produkter,

— identifiering och bestämning av bensoesyra, 4-hydroxibensoesyra, sorbinsyra, salicylsyra och propionsyra,

— identifiering bestämning av hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyler och hydrokinonmonobensyleter, utförs i enlighet med de metoder som anges i bilagan.

Artikel 2

1. Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 30 september 1996. De skall genast underrätta kommissionen om detta.

När en medlemsstat antar dessa bestämmelser skall de innehålla en hänvisning till detta direktiv eller åtföljas av en sådan hänvisning när de offentliggörs. Närmare föreskrifter om hur hänvisningen skall göras skall varje medlemsstat själv utfärda.

2. Medlemsstaterna skall till kommissionen överlämna texterna till de bestämmelser i nationell lagstiftning som de antar inom det område som omfattas av detta direktiv.

Artikel 3

Detta direktiv träder i kraft den tjugonde dagen efter det att det har offentliggjorts i *Europeiska gemenskapernas officiella tidning*.

Artikel 4

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 7 juli 1995.

På kommissionens vägnar

Emma BONINO

Ledamot av kommissionen

⁽¹⁾ EGT nr L 262, 29.9.1976, s. 169.

⁽²⁾ EGT nr L 181, 15.7.1994, s. 31.

⁽³⁾ EGT nr L 383, 31.12.1980, s. 27.

⁽⁴⁾ EGT nr L 57, 27.2.1987, s. 56.

⁽⁵⁾ EGT nr L 185, 30.6.1982, s. 1.

⁽⁶⁾ EGT nr L 108, 28.4.1990, s. 92.

⁽⁷⁾ EGT nr L 291, 24.10.1983, s. 9.

⁽⁸⁾ EGT nr L 295, 7.11.1985, s. 30.

⁽⁹⁾ EGT nr L 231, 14.9.1993, s. 34.

BILAGA

I. IDENTIFIKATION OCH BESTÄMNING AV BENZOESYRA, 4-HYDROXYBENZOESYRA, SORBINSYRA, SALICYLSYRA OCH PROPINSYRA I KOSMETISKA PRODUKTER**1. Omfång och tillämpningsområde**

Denna metod är lämplig för identifikation och bestämning av benzoesyra, 4-hydroxybenzoesyra, sorbinsyra, salicylsyra och propinsyra i kosmetiska produkter. I de olika förfarandena beskrivs identifikationen av dessa konserveringsmedel, bestämningen av propinsyra och bestämningen av 4-hydroxybenzoesyra, salicylsyra, sorbinsyra och benzoesyra.

2. Definition

De mängder benzoesyra, 4-hydroxybenzoesyra, salicylsyra, sorbinsyra och propinsyra som bestäms med denna metod uttrycks som en andel av de fria syrornas massa.

A. IDENTIFIKATION**1. Princip**

Efter syra/basextrahering från konserveringsmedlen analyseras extraktet med TLC med derivation på plattan. Beroende på resultatet bekräftas identifikationen med HPLC eller, när det gäller propinsyra, med GC.

2. Reagenser**2.1 Allmänt**

Alla reagenser måste vara av analytisk renhetsgrad. Vatten som används måste vara destillerat vatten eller vatten av motsvarande renhetsgrad.

2.2 Aceton**2.3 Dietyleter****2.4 Acetonitril****2.5 Toluén****2.6 n-hexan****2.7 Paraffin, flytande****2.8 Saltsyra 4M****2.9 Kaliumhydroklorid, vattenhaltig 4M****2.10 Kalciumklorid, CaCl₂ 2H₂O****2.11 Litiumkarbonat, Li₂CO₃****2.12 2-brom-2'-acetonafton****2.13 4-hydroxybenzoesyra****2.14 Salicylsyra****2.15 Benzoesyra****2.16 Sorbinsyra****2.17 Propinsyra**

- 2.18 Referenslösningar:
Bered 0,1 % (m/v) lösningar (100 mg/100 ml) av de fem konserveringsmedlen (2.13–2.17) i dietyleter.
- 2.19 Derivationsreagens:
0,5 % (m/v) lösning av 2-brom-2'-acetonafon (2.12) i acetonitril (2.4) (50 mg/10 ml). Denna lösning bör beredas varje vecka och förvaras i kylskåp.
- 2.20 Katalyslösning:
0,3 % (m/v) lösning av litiumkarbonat (2.11) i vatten (300 mg/100 ml). Denna lösning bör vara nyss beredd.
- 2.21 Framkallningslösning:
Toluen (2.5)/aceton (2.2) (20:0,5, v/v)
- 2.22 Flytande paraffin (2.7)n-hexan (2.6) (1:2, v/v).

3. Apparatur

Vanlig laboratorieutrustning

- 3.1 Vattenbad som kan hålla en temperatur på 60 °C
- 3.2 Framkallningstank
- 3.3 Ultraviolet ljuskälla, 244 och 366 nm
- 3.4 Tunnskiktspaltor, kiselgel 60, utan fluorescensindikator, 20 × 20 cm, skiktjocklek 0,25 mm med koncentrationszon 2,5 × 20 cm (Merck 11845 eller motsvarande)
- 3.5 Mikrospruta 10 µl
- 3.6 Mikrospruta 25 µl
- 3.7 Ugn som kan hålla en temperatur på 105 °C
- 3.8 Provrör med skruvkork
- 3.9 Filterpapper, diameter 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband nr 5892, eller motsvarande
- 3.10 Universalindikatorpapper, pH 1–11
- 3.11 5-ml provglas
- 3.12 Roterande filmevaporatör (Rotavapor eller motsvarande)
- 3.13 Värmeplatta

4. Förfarande

4.1 Provberedning

Väg in ca 1 g av provet till ett 50 ml provrör med skruvkork (3.8). Sätt till 4 droppar saltsyra 4M (2.8) och 40 ml aceton (2.2). För starkt basiska varor som toalettvål, bör 20 droppar saltsyra 4M (2.8) tillsättas. Kontrollera med hjälp av indikatorpapper (3.10) att pH är ca 2. Tillslut röret och skaka kraftigt i en minut.

Om så behövs för att under lätta extraherandet av konserveringsmedlen till acetonfasen kan blandningen värmas försiktigt till ca 60 °C för att smälta fettfasen.

Kyl lösningen till rumstemperatur och filtrera genom ett filterpapper (3.9) till en konisk kolv.

Överför 20 ml av filtratet till en 250-ml konisk kolv, sätt till 20 ml vatten och blanda. Justera pH i lösningen till ca 10 med kaliumhydroklorid 4M, med användande av indikatorpapper (3.10) för att kontrollera pH.

Sätt till 1 g kalciumklorid (2.10) och skaka kraftigt. Filtrera genom ett papper (3.9) till en 250-ml separertratt som innehåller 75 ml dietyleter (2.3) och skaka kraftigt i en minut. Låt lösningen separera och slå över det vattenhaltiga skiktet till en 250 ml konisk kolv. Avlägsna eterskiktet.

Justera med indikatorpapper (3.10) pH i den vattenhaltiga lösningen till ca 2 med hjälp av saltsyra 4M (2.8). Sätt till 10 ml dietyleter (2.3). Korka igen kolven och skaka kraftigt i en minut. Låt lösningen separera och överför eterskiktet till en roterande filmevaporatör (3.12) Avlägsna det vattenhaltiga skiktet.

Evaporera eterskiktet tills det är nästan torrt och lös upp återstoden igen i 1 ml dietyleter (2.3) Överför lösningen till ett provglas.

4.2 Tunnskiktskromatografi

För var och en av referenserna och vart och ett av proverna som skall kromatograferas, sätt till ca 3 μ l litiumkarbonatlösning (2.20) med en spruta (3.5) på lika avstånd på startlinjen i koncentrationszonen på en TLC-platta (3.4) och torka i strömmande kall luft.

Överför TLC-plattan till en värmeplatta (3.13), uppvärmd till 40 °C för att hålla punkterna så små som möjligt. Tillsätt med en mikrospruta (3.5) 10 μ l av var och en av referenslösningarna (2.18) och provlösningen (4.1) på plattans startlinje precis på de punkter där litiumkarbonatlösningen har satts till.

Slutlingen tillsätts även 15 μ l derivationsreagens: (2.19) (2-bromo-2'-acetonaftonlösning) precis på de punkter där referens- eller testlösningen och litiumkarbonatlösningen har tillsatts.

Värm TLC-plattan i en ugn (3.7) vid 80 °C i 45 minuter.

Efter kylning framkallas plattan i en tank (3.2) som har utjämnats i 15 minuter (utan infordring med filterpapper) med användande av framkallningslösning (2.21) (toluen/acetone) tills lösningsfronten har nått till ett avstånd av 15 cm (detta kan ta ca 80 minuter).

Torka plattan i strömmande kall luft och undersök de punkter som erhållits under UV-ljus (3.3). För att förstärka fluorescensen hos svaga punkter kan TLC-plattan doppas i flytande paraffin/n-hexan (2.22).

5. Identifikation

Beräkna R_f för varje punkt.

Jämför R_f och det beteende under UV-strålning som erhållits för provet med det som erhållits för referenslösningarna.

Drag en preliminär slutsats angående förekomsten och identiteten av förekommande konserveringsmedel. Utför HPLC som beskrivs i avsnitt B, eller, när det förefaller som om propionsyra finns, GC som beskrivs i avsnitt C. Jämför de retentionstider som erhålls med referenslösningarnas.

Kombinera resultaten från TLC och HPLC eller GC och grunda identifikationen av i provet förekommande konserveringsmedel på de kombinerade resultaten.

B. BESTÄMNING AV BENZOESYRA, 4-HYDROXYBENZOESYRA, SORBINSYRA OCH SALICYLSYRA

1. Princip

Efter identifikation extraheras provet med en blandning av etanol och vatten. Efter filtrering bestäms proverna genom högpresterande vätskekromatografi (HPLC).

2. Reagenser

2.1 Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad och bör vara lämpade för HPLC vid behov. Vatten som används måste vara destillerat vatten eller vatten av motsvarande renhetsgrad.

2.2 Etanol, absolut

2.3 4-hydroxybenzoesyra

- 2.4 Salicylsyra
- 2.5 Benzoesyra
- 2.6 Sorbinsyra
- 2.7 Natriumacetat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- 2.8 Ättiksyra, d 20/4=1,05 g/ml
- 2.9 Acetonitril
- 2.10 Svavelsyra, 2M
- 2.11 Kaliumhydroxid, vattenhaltig, 0,2M
- 2.12 2-metoxybenzoesyra
- 2.13 Etanol/vattenlösning:
Blanda 9 delar etanol (2.2) med 1 del vatten (2.1).
- 2.14 Intern standardlösning:
Bered en lösning innehållande ca 1 g 2-metoxybenzoesyra (2.12) i 500 ml etanol/vattenlösning (2.13).
- 2.15 Mobil fas för HPLC
- 2.15.1 Acetatbuffert: Till 1 l vatten sätt 6,35 g natriumacetat (2.7) och 20,0 ml ättiksyra (2.8) och blanda.
- 2.15.2 Bered den mobila fasen genom att blanda 9 delar acetatbuffert (2.15.1) och en del acetonitril (2.9).
- 2.16 Lagerlösning av konserveringsmedel:
Väg noggrant ca 0,05 g 4-hydroxybenzoesyra (2.3), 0,2 g salicylsyra (2.4), 0,2 g benzoesyra (2.5) och 0,05 g sorbinsyra (2.6) i en 50-ml volymeterkolv och fyll till volym med etanol/vattenlösning (2.13). Lagra denna lösning i kylskåp. Lösningen är stabil i en vecka.
- 2.17 Standardlösning för konserveringsmedel:
Överför 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 respektive 0,50 ml av lagerlösningen (2.16) till en serie 20-ml volymeterkolvar. Sätt till varje kolv 10,00 ml standardlösning (2.14) och 0,5 ml svavelsyra 2M (2.10). Fyll till volym med etanol/vattenlösning (2.13). Dessa lösningar måste vara nyberedda.
3. **Apparatur**
- Vanlig laboratorieutrustning
- 3.1 Vattenbad som kan hålla en temperatur på 60 °C
- 3.2 Högpresterande kromatografiutrustning (HPLC) med UV detektor med varierbar våglängd och 10- μl injektionsslinga
- 3.3 Analyskolonn:
Rostfritt stål, längd: 12,5–25 cm, intern diameter: 4,6 mm; packning: Nucleosil 5C18 eller motsvarande
- 3.4 Filterpapper, diameter 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband nr 5892, eller motsvarande
- 3.5 50 ml provrör med skruvkork

3.6 5 ml provglas

3.7 Kokchips, karborundum, storlek 2–4 mm eller motsvarande

4. Förfarande

4.1 Provberedning

4.1.1 Provberedning utan tillsats av intern standardlösning.

Väg 1 g av provet i ett 50 ml provrör med skruvkork (3.5). Pipettera 1,00 ml svavelsyra 2M (2.10) och 40,0 ml etanol/vattenlösning (2.13) till röret. Sätt till ca 1 g kokchips (3.7), förslut röret och skaka kraftigt under minst en minut tills en homogen suspension erhållits. För att underlätta extraktionen av konserveringsmedel till etanolfasen, placera röret i exakt 5 minuter i ett vattenbad (3.1), vid 60 °C.

Kyl omedelbart röret i strömmande kall luft och lagra i exakt 5 °C i en timme. Filtrera extraktet genom ett filterpapper (3.4). Överför ca 2 ml av extraktet till ett provglas (3.6). Lagra extraktet i 5 °C och utför HPLC-bestämningen inom 24 timmar efter beredningen.

4.1.2 Provberedning med tillsats av intern standardlösning.

Väg till tre decimaler $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ (a-gram) av provet till ett 50 ml provrör med skruvkork (3.5). Pipettera 1,00 ml svavelsyra 2M (2.10) och 30,0 ml etanol/vattenlösning (2.13). Sätt till ca 1 g kokchips (3.7), och 10,00 ml intern standardlösning (2.14), förslut röret och skaka kraftigt under minst en minut tills en homogen suspension erhållits. För att underlätta extraktionen av konserveringsmedel till etanolfasen, placera röret i exakt 5 minuter i ett vattenbad (3.1), vid 60 °C.

Kyl omedelbart röret i strömmande kall luft och lagra i exakt 5 °C i en timme. Filtrera extraktet genom ett filterpapper (3.4). Överför ca 2 ml av extraktet till ett provglas (3.6). Lagra extraktet i 5 °C och utför HPLC-bestämningen inom 24 timmar efter beredningen.

4.2 Högpresterande vätskekromatografi (HPLC)

Mobil fas: Acetonitril/acetatbuffet (2.15)

Justera den mobila fasens flöde igenom kolonnen till 2,0 ml/minut \pm 0,5 ml/minut. Sätt detektorns våglängd till 240 nm.

4.2.1 Kalibrering

Injicera 10 μl -doser till var och en av standardlösningarna för konserveringsmedel (2.17) till vätskekromatografen (3.2). För varje lösning bestäms topphöjden för det undersökta konserveringsmedlet i förhållande till höjden av den interna standardtopp som erhålls från kromatogrammen. Rita en graf för varje konserveringsmedel som visar förhållandet mellan toppen och koncentrationen av varje standardlösning.

Se till att en linjär respons erhålls för standardlösningen under kalibreringen.

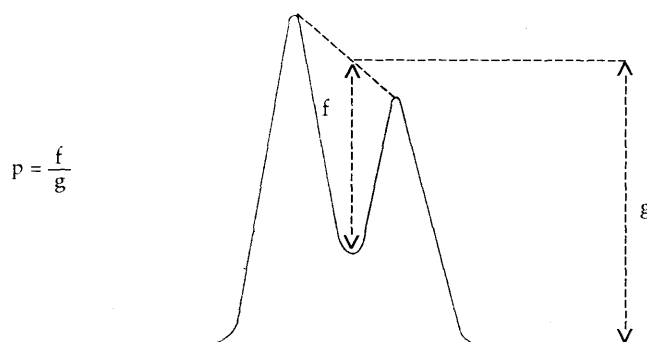
4.2.2 Bestämning

Injicera 10 μl av provextraktet (4.1.1) i vätskekromatografen (3.2) och registrera kromatogrammet. Jämför kromatogrammen. Om provextraktets kromatogram (4.1.1) inte visar någon topp med ungefär samma retentionstid som 2-metoxybenzoesyra (rekommenderad intern standard), injicera 10 μl provextrakt med tillsats av intern standardlösning (4.1.2) i ljuskromatografen och registrera kromatogrammet.

Om en interfererande topp observeras i provextraktets (4.1.1) kromatogram med samma retentionstid som 2-metoxybenzoesyra bör någon annan lämplig intern standardlösning väljas (om något av de undersökta konserveringsmedlen saknas i kromatogrammet, så kan detta konserveringsmedel väljas som intern standardlösning).

Kontrollera om de kromatogram som erhålls för en intern standardlösning och provlösningen motsvarar följande krav:

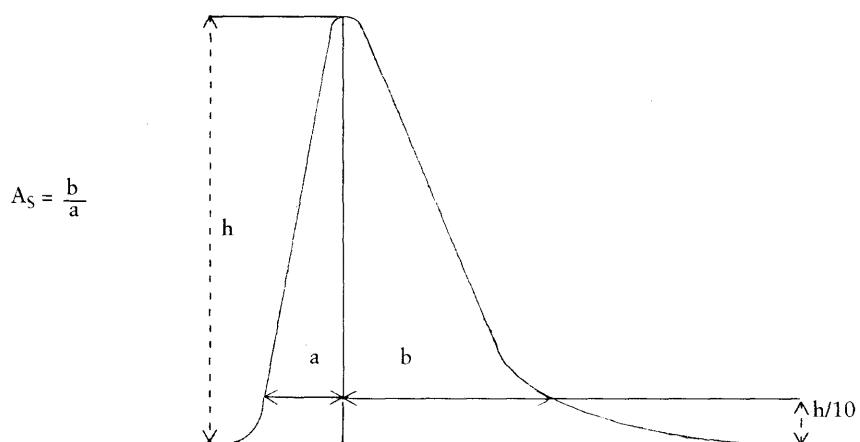
— toppseparationen för det sämst separerade paret skall vara minst 0,90. (För definition av toppseparation, se figur 1).



Figur 1: toppseparation

Om den eftersträvade separationen inte erhålls, bör antingen en mer effektiv kolonn användas eller sammansättningen av den mobila fasen justeras tills separationen erhålls.

- Assymetrifaktorn A_s , för alla toppar skall ligga mellan 0,9 och 1,5. (För definition av assymetrifaktorn, se figur 2). För att registrera ett kromatogram för bestämning av assymetrifaktorn rekommenderas en skrivarhastighet på minst 2 cm/minut.



Figur 2: Toppassymetrifaktor

- En stabil baslinje skall erhållas.

5. **Beräkning** Använd förhållandena mellan topparna för de undersökta konserveringsmedlen och höjden för 2-metoxibenzoesyra (intern standardlösning) -toppen och kalibreringsgrafens för att beräkna koncentrationen av syrahaltiga konserveringsmedel i provlösningen. Beräkna benzoesyra, 4-hydroxybenzoesyra, sorbinsyra eller salicylsyrehalt i provet som en andel av massan (x_i) med formeln

$$x_i \% (m/m) = \frac{100 \cdot 20 \cdot b}{10^6 \cdot a} = \frac{b}{500 \cdot a}$$

där

a = massan (g) av testmängden (4.1.2)

b = koncentrationen ($\mu\text{g/ml}$) av konserveringsmedel i provextraktet (4.1.2) erhållen från kalibreringsgrafens

6. Upprepningsbarhet⁽¹⁾

För en 4-hydroxybenzoesyrehalt av 0,40 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,035 %.

För en benzoesyrehalt av 0,50 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,050 %.

För en salicylsyrehalt av 0,50 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,045 %.

För ett sorbinsyrenehåll på 0,60 % bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,035 %.

7. Anmärkningar

7.1 Resultatet av ett tillförlitlighetstest utfört på metoden visade att mängden svavelsyra som tillsatts för att extrahera syrorna från provet är kritisk och att den bearbetade provmängden bör hållas inom de föreskrivna gränserna.

7.2 Om så önskas kan en lämplig skyddskolonn användas.

C. BESTÄMNING AV PROPIONSRYRA**1. Omfång och tillämpningsområde**

Denna metod är lämplig för bestämning av propionsyra med en maximikoncentration på 2 % (m/m) i kosmetiska produkter.

2. Definition

Koncentrationen av propionsyra som mäts med denna metod uttrycks som andel av produktens massa (% m/m).

3. Princip

Efter extrahering av propionsyra från produkten utförs bestämningen genom gaskromatografi med användning av 2-metoxybenzoesyra som intern standardlösning.

4. Reagenser

Alla reagenser bör vara av analytisk renhetsgrad och bör vara lämpade för HPLC vid behov. Vatten som används måste vara destillerat vatten eller vatten av motsvarande renhetsgrad.

4.1 Etanol, 96 % (v/v)

4.2 Propionsyra

4.3 2-metoxybenzoesyra

4.4 Ortofosforsyra 10 % (v/v)

4.5 Propionsyrelösning:

Väg noggrant ca 1,00 g (p gram) propionsyra till en 50 ml volymeterkolv och fyll till volym med etanol (4.1).

4.6 Intern standardlösning:

Väg noggrant ca 1,00 g (e gram) 2-metoxybenzoesyra till en 50 ml volymeterkolv och fyll till volym med etanol (4.1).

⁽¹⁾ ISO 5725.

5. Apparatur

- 5.1 Vanlig laboratorieutrustning samt:
- 5.2 Gaskromatograf med flamjoniseringsdetektor
- 5.3 20 × 150 mm provrör med skruvkork
- 5.4 Vattenbad som kan hålla en temperatur på 60 °C
- 5.5 10 ml glasspruta med filtermembran (pordiameter 0,45 µm)

6. Förfarande**6.1 Provberedning****6.1.1 Provberedning utan intern standardlösning**

Väg 1 g av provet i ett provrör (5.3). Sätt till 0,5 ml fosforsyra (4.4) och 9,5 ml etanol (4.1).

Förslut röret och skaka kraftigt under minst en minut. Om så behövs, placera röret i ett vattenbad (5.4), vid 60 °C i 5 minuter för att helt upplösa fettfasen. Kyl omedelbart i rinnande vatten.

Filtrera extraktet genom ett membranfilter (5.5). Kromatografera filtratet samma dag.

6.1.2 Provberedning utan intern standardlösning.

Väg till tre decimaler 1 g ± 0,1 g (a gram) av provet i ett provrör (5.3). Sätt till 0,5 ml fosforsyra (4.4), 0,50 ml intern standardlösning (4.6) och 9 ml etanol (4.1).

Förslut röret och skaka kraftigt under minst en minut. Om så behövs, placera röret i ett vattenbad (5.4), vid 60 °C i 5 minuter för att helt upplösa fettfasen. Kyl omedelbart i rinnande vatten. Filtrera extraktet genom ett membranfilter (5.5). Kromatografera filtratet samma dag.

6.2 Villkor för gaskromatografering

Följande arbetsvillkor rekommenderas:

Kolonn

Typ	Rostfritt stål
Längd	2 m
Diameter	1/8" (~ 3 mm)
Packning	10 % SP TM 1000 (eller motsvarande) + 1 % H ₃ PO ₄ på Chroma-sorb WAW 100—120 mesh

Temperatur

Injektor	200 °C
Kolonn	120 °C
Detektor	200 °C

Bärgas

Kväve	
Flödes hastighet	25 ml/minut

6.3 Kromatografering**6.3.1 Kalibrering**

Överför med pipett till en serie volymeterkolvar 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 respektive 4,00 ml propionsyrelösning (4.5). Överför med pipett till varje volymeterkolv 1,00 ml intern standardlösning (4.1) och blanda. De på detta sätt beredda lösningarna innehåller e mg/ml 2-metoxibenzoesyra som intern standardlösning (d.v.s. 1 mg/ml om e = 1,000) och p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml propionsyra (d.v.s. 0,50, 1,00, 2,00 respektive 4,00 mg/ml om p = 1,000).

Injicera 1 μl av var och en av dessa lösningar och erhåll kalibreringskurvan genom att rita ut förhållandet mellan propionsyre- och 2-metoxybenzoesyremassan på x-axeln och förhållandena mellan motsvarande toppareor på y-axeln.

Gör tre inficieringar för varje lösning och beräkna det genomsnittliga toppareförhållandet.

6.3.2 Bestämning

Injicera 1 μl av provfiltratet 6.1.1. Jämför kromatogrammet med en av de interna standardlösningarna (6.3.1). Om en tropp har ungefär samma retentionstid som 2-metoxybenzoesyra, byts intern standardlösning. Om ingen interferens observeras, injicera 1 μl av provfiltratet 6.1.2 och mät areorna för propionsyretoppen och internstandardtoppen.

Gör tre inficieringar för varje lösning och beräkna det genomsnittliga toppareförhållandet.

7. Beräkningar

7.1 Från den kalibreringskurva som erhållits i 6.3.1 erhålls massan (K) motsvarande det toppareförhållande som beräknats i 6.3.2.

7.2 Från de sålunda erhållna massförhållandena beräknas propionsyrehalten i provet (X) som andel av massan (x_1) med formeln

$$x \% \text{ (m/m)} = K \frac{0,5 \cdot 100 \cdot e}{50 \cdot a} = K \frac{e}{500 \cdot a}$$

där

K = det i 7.1 beräknade förhållandet

e = massan i gram för den interna standard som vägts i 4.6

a = massan i gram för det prov som vägts i 6.1.2

Avrunda till en decimal.

8. Upprepningsbarhet⁽¹⁾

För en propionsyrehalt på 2 % (m/m) bör skillnaden mellan resultaten av två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte överstiga 0,12 %.

II. IDENTIFIKATION OCH BESTÄMNING AV HYDROKINON, HYDROKINONMONOMETYLETER, HYDROKINONMONOETYLETER, OCH HYDROKINONMONOBENSYLETER, I KOSMETISKA PRODUKTER

A. IDENTIFIKATION

1. Omfång och tillämpningsområde

Denna metod beskriver detektering och identifikation av hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyleter, och hydrokinonmonobensyleter (monobenson), i kosmetiska produkter för hudblekning.

2. Princip

Hydrokinon och dess estrar identifieras med tunnskiktskromatografi (TLC).

3. Reagens

Alla reagens måste vara av analytisk renhetsgrad.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 3.1 Etanol, 96 % (v/v)
- 3.2 Kloroform (CHCl₃)
- 3.3 Dietyleter
- 3.4 Framkallningslösning:
Kloroform/dietyleter, 66,33 (v/v)
- 3.5 Ammoniak, 25 % (m/m) (d₄²⁰ = 0,91 g/ml)
- 3.6 Askorbinsyra (3.6)
- 3.7 Hydrokinon (3.7)
- 3.8 Hydrokinonmonometyleter
- 3.9 Hydrokinonmonoetyleter
- 3.10 Hydrokinonmonobensyleter (monobenson)
- 3.11 Referenslösningar
- Följande referenslösningar bör vara nyberedda, och är stabila under en dag:
- 3.11.1 Väg 0,05 g hydrokinon (3.7) till ett 10 ml graderat provrör. Sätt till 0,250 g askorbinsyra (3.6) och 5 ml etanol (3.1). Sätt till ammoniak (3.5) tills pH är 10 och fyll med etanol (3.1) till en volym av 10 ml.
- 3.11.2 Väg 0,05 g hydrokinonmonometyleter (3.9) till ett 10 ml graderat provrör. Sätt till 0,250 g askorbinsyra (3.6) och 5 ml etanol (3.1). Sätt till ammoniak (3.5) tills pH är 10 och fyll med etanol (3.1) till en volym av 10 ml.
- 3.11.3 Väg 0,05 g hydrokinonmonoetyleter (3.10) till ett 10 ml graderat provrör. Sätt till 0,250 g askorbinsyra (3.6) och 5 ml etanol (3.1). Sätt till ammoniak (3.5) tills pH är 10 och fyll med etanol (3.1) till en volym av 10 ml.
- 3.11.4 Väg 0,05 g hydrokinomonobensyleter (3.11) till ett 10 ml graderat provrör. Sätt till 0,250 g askorbinsyra (3.6) och 5 ml etanol (3.1). Sätt till ammoniak (3.5) tills pH är 10 och fyll med etanol (3.1) till en volym av 10 ml.
- 3.12 Silverniträt
- 3.13 12-molybdenfosforsyra
- 3.14 Kaliumferricyanidhexahydrat
- 3.15 Järnkloridhexahydrat
- 3.16 Sprayreagens
- 3.16.1 Till en 5 % (m/v) vattenhaltig lösning av silverniträt (3.12) sätts ammoniak (3.5) tills den fällning som bildas återupplöses.
- Varning:
- Lösningen blir explosivt ostabil om den lämnas och skall avlägsnas efter användning.
- 3.16.2 10 % (m/v) lösning 12-molybdenfosforsyra (3.13) i etanol (3.1).

- 3.16.3 Bered en 1 % (m/v) vattenhaltig lösning av kaliumferricyanid (3.14) och en 2 % (m/v) vattenhaltig lösning av järnklorid (3.15). Blanda lika delar av de båda lösningarna direkt innan användning.

4. Apparatur

Normal laboratorieutrustning och:

- 4.1 Vanlig TLC-utrustning.
- 4.2 TLC-plattor, färdiga för användning, silikagel GHR/UV₂₅₄, 20 cm × 20 cm (Machery, Nagel eller motsvarande) skiktjocklek 0,25 mm
- 4.3 Ultraljudsbad
- 4.4 Centrifug
- 4.5 UV-lampa, 254 nm

5. Förfarande

- 5.1 Beredning av provet:

Väg 3,0 g av provet till ett 10 ml graderat provrör. Sätt till 0,250 g askorbinsyra (3.6) och 5 ml etanol (3.1). Justera pH i lösningen till 10 med hjälp av ammoniak (3.5). Fyll till en volym om 10 ml med etanol (3.1). Förslut röret med en kork och homogenisera i ultraljudsbad i 10 minuter. Filtrera genom filterpapper eller centrifugera vid 3 000 varv per minut.

- 5.2 TLC

- 5.2.1 Mätta en kromatografisk tank med framkallarlösning (3.4).

- 5.2.2 Placera 2 μ l av referenslösningarna (3.11) och 2 μ l av provlösningen (5.1) på en platta. Framkalla i mörker vid lufttemperatur tills lösningsfronten har vandrat 15 cm från starten.

- 5.2.3 Avlägsna plattan och låt den torka vid rumstemperatur.

- 5.3 Detektering

- 5.3.1 Observera plattan under UV-ljus vid 254 nm och markera punkternas lägen.

- 5.3.2 Spraya plattan med:

- silvernitratreagens (3.16.1), eller
- 12-molybdenfosforsyreareagens (3.16.2), värm till ca 120 °C, eller
- kaliumferricyanidlösning och järnkloridlösning (3.16.3).

6. Identifikation

Beräkna R_f-värdet för varje punkt.

Jämför punkterna för provlösningen med punkterna för referenslösningen med avseende på R_f-värden, punkternas färg under UV-strålning och punkternas färg sedan de gjorts synliga med sprayreagens.

Utför HPLS som beskrivs i följande avsnitt (B) och jämför de retentionstider som erhålls för provtopparna med dem som erhålls för referenslösningarna.

Lägg samman resultaten från TLC och HPLC för att identifiera förekomst av hydrokinon eller dess etrar.

7. Anmärkningar

Under beskrivna villkor observerades följande R_f-värden:

Hydrokinon	0,32,
Hydrokinonmonometyleter	0,53,
Hydrokinonmonoetyleter	0,55,
Hydrokinonmonobensyleter	0,58.

B. BESTÄMNING

1. Omfång och tillämpningsområde

Denna metod beskriver en metod för bestämning av hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyleter, och hydrokinonmonobensyleter (monobenson), i kosmetiska produkter för hudblekning.

2. Princip

Provet extraheras med en vatten/metanolblandning under försiktig uppvärmning för att smälta alla fetthaltiga material. Bestämning av analysaten i de resulterande lösningarna utförs med fäsvänd västskekromatografi med UV-detektering.

3. Reagens

3.1 Alla reagens måste vara av analytisk renhetsgrad. Vatten som används måste vara destillerat eller av motsvarande renhetsgrad.

3.2 Metanol

3.3 Hydrokinon

3.4 Hydrokinonmonometyleter

3.5 Hydrokinonmonoetyleter

3.6 Hydrokinonmonobensyleter (monobenson)

3.7 Tetrahydrofuran, HPLC-kvalitet

3.8 Vatten/metanolblandning 1:1 (v/v). Blanda 1 del vatten och 1 del metanol (3.2).

3.9 Mobil fas: tetrahydrofuran/vattenlösning 45:55 (v/v). Blanda 45 delar tetrahydrofuran (3.7) och 55 delar vatten.

3.10 Referenslösning

Väg 0,06 g hydrokinon (3.3), 0,08 g hydrokinonmonometyleter (3.4), 0,10 g hydrokinonmonoetyleter (3.5) och 0,12 g hydrokinonmonobensyleter (3.6) till en 50 ml volymeterkolv. Lös upp och fyll till volym med metanol (3.2). Bered referenslösningen genom utspädning av 10,00 ml av denna lösning med 50,00 ml vatten/metanolblandning (3.8). Dessa lösningar måste vara nyberedda.

4. Apparatur

Normal laboratorieutrustning och:

4.1 Vattenbad som kan hålla en temperatur av 60 °C.

4.2 Högpresterande västskekromatograf med UV-detektor med variabel våglängd och 10 µl injektionsslinga.

4.3 Analyskolonn:

Kromatografisk kolonn av rostfritt stål, längd 250 mm, inre diameter 4,6 mm, packad med Zorbax fenyl (kemisk bondad fenetylsilan på Zorbax SIL, ändförsluten med trimetylklorsilan),

partikelstorlek 6 μm , eller motsvarande. Använd ingen skyddskolonn, utom fenylskydd eller motsvarande.

4.4 Filterpapper, diameter 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband nr 5892, eller motsvarande.

5. Förfarande

5.1 Provberedning

Väg med tre decimaler $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ (a gram) av provet till en 50-ml volymeterkolv. Dispersera provet i 25 ml vatten/metanolblandning (3.8). Tillslut kolven och skaka kraftigt tills en homogen suspension erhållits. Skaka i minst en minut. Placera kolven i ett vattenbad (4.1) som hålls vid 60°C för att förstärka extraktionen. Kyl kolven och fyll till volym med vatten/metanolblandning (3.8). Filtrera extraktet med ett filterpapper (4.4). Utför HPLC-bestämningen inom 24 timmar efter det att extraktet preparerats.

5.2 Högpresterande vätskekromatografi

5.2.1 Justera den mobila fasens flöde (3.9) till 1,0 ml/minut och sätt detektorns våglängd till 295 nm.

5.2.2 Injicera 10 μl av den provlösning som erhållits i avsnitt 5.1 och registrera kromatogrammet. Mät toppareorna. Utför en kalibrering som beskrivs under 5.2.3. Jämför de kromatogram som erhållits för proven och de som erhållits för standardlösningarna. Med användande av toppareorna och de responsfaktorer (RF) som beräknats i avsnitt 5.2.3 beräknas koncentrationen av analysaten i provlösningen.

5.2.3 Kalibrering

Injicera 10 μl av referenslösningen (3.10) och registrera kromatogrammet. Injicera flera gånger tills en konstant topparea erhålls.

Bestäm reponsfaktorn RF_i

$$RF_i = \frac{p_i}{c_i}$$

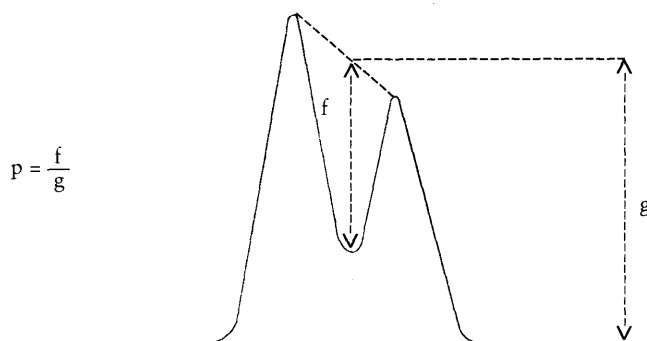
där

p_i = topparean för hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyleter, eller hydrokinonmonobensyleter, och

c_i = koncentrationen (g/50 ml) i referenslösningen (3.10) av hydrokinon, hydrokinonmonometyleter, hydrokinonmonoetyleter, eller hydrokinonmonobensyleter.

Kontrollera om de kromatogram som erhålls för en intern standardlösning och provlösningen motsvarar följande krav:

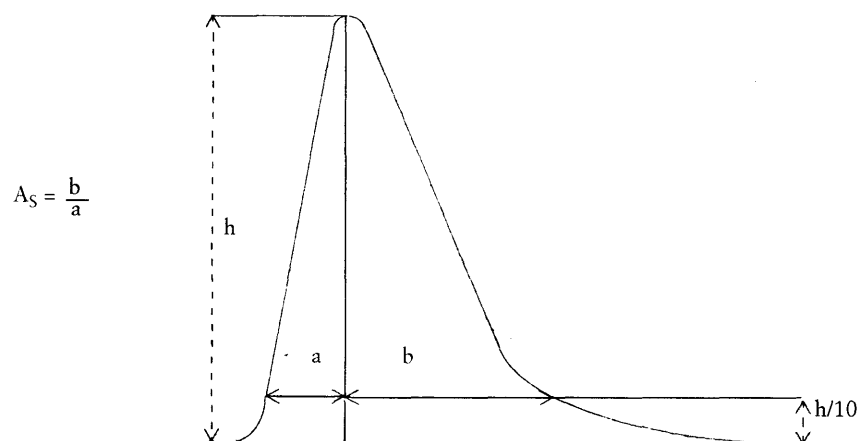
— toppseparationen för det sämst separerade paret skall vara minst 0,90. (För definition av toppseparation, se figur 1).



Figur 1: Toppseparation

Om den eftersträvade separationen inte erhålls, bör antingen en mer effektiv kolonn användas eller sammansättningen av den mobila fasen justeras tills separationen erhålls.

- Assymmetrifaktorn A_s för alla toppar skall ligga mellan 0,9 och 1,5. (För definition av assymmetrifaktorn, se figur 2). För att registrera ett kromatogram för bestämning av assymmetrifaktorn rekommenderas en skrivarhastighet på minst 2 cm/minut.



Figur 2: Toppassymmetrifaktor

- En stabil baslinje skall erhållas

6. Beräkning

Använd areorna hos analystopparna för att beräkna koncentrationen av analysat i provet. Beräkna analysatkoncentrationen i provet som en andel av massan (x_i) med formeln

$$x_i \% (m/m) = \frac{b_i \cdot 100}{RF_i \cdot a}$$

där

a = massan av analysatet i gram, och

b_i = topparean för analysatet i provet.

7. Upprepningsbarhet⁽¹⁾

- 7.1 För en hydrokinonhalt av 2,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,13%.
- 7.2 För en hydrokinonmonometyleterhalt av 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,1%.
- 7.3 För en hydrokinonmonoetyleterhalt av 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,11%.
- 7.4 För en hydrokinonmonobensyleterhalt på 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs parallellt på samma prov inte överstiga ett absolutvärde på 0,11%.

8. Reproducerbarhet⁽¹⁾

- 8.1 För en hydrokinonhalt av 2,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs på samma prov under olika villkor (olika laboratorier, olika laboratorer, olika apparater eller vid olika tidpunkt) inte överstiga ett absolutvärde på 0,37%.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 8.2 För en hydrokinonmonometyleterhalt av 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs på samma prov under olika villkor (olika laboratorier, olika laboratorer, olika apparater eller vid olika tidpunkt) inte överstiga ett absolutvärde på 0,21%.
- 8.3 För en hydrokinonmonoetyleterhalt av 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs på samma prov under olika villkor (olika laboratorier, olika laboratorer, olika apparater eller vid olika tidpunkt) inte överstiga ett absolutvärde på 0,19%.
- 8.4 För en hydrokinonmonobensyleterhalt på 1,0% bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar som utförs på samma prov under olika villkor (olika laboratorier, olika laboratorer, olika apparater eller vid olika tidpunkt) inte överstiga ett absolutvärde på 0,11%.

9. Anmärkningar

- 9.1 Om en hydrokinonhalt på avsevärt mer än 2% hittas och en noggrann uppskattning av halten krävs, bör provextraktet (5.1) spädas till en koncentration liknande den som skulle erhållas från ett prov med 2% hydrokinon och bestämningen upprepas.

(I vissa instrument är absorbensen utanför den linjära skalan för detektorn för höga hydrokinonhalter.)

9.2 Interferenser

Ovan beskriven metod medger bestämning av hydrokinon och dess estrar i en enda isokratisk process. Användningen av fenylkolonnen säkerställer en tillräcklig hydrokinonretention som inte kan garanteras om en C18-kolonn används i den mobila fas som beskrivits.

Dock är denna metod känslig för interferens från ett antal parabener. I dessa fall bör bestämningen upprepas med användande av något annat system för mobil fas/stationär fas. Lämpliga metoder kan återfinnas i hänvisning ⁽¹⁾ och ⁽²⁾, nämligen:

Kolonn: Zorbax ODS, 4,6 mm × 25 cm, eller motsvarande

Temperatur: 36 °C

Flöde: 1,5 ml/minut

Mobil fas: för hydrokinon: metanol/vatten 5/95 (v/v)

för hydrokinonmonometyleter: metanol/vatten 30/70 (v/v)

för hydrokinonmonoetyleter: metanol/vatten 80/20 (v/v) ⁽¹⁾

Kolonn: Spherisorb S5-ODS, eller motsvarande

Mobil fas: vatten/metanol/90/10 (v/v)

Flöde: 1,5 ml/minut

Dessa villkor är lämpliga för hydrokinon⁽²⁾

⁽¹⁾ M. Herpol-Borremans et M.-O. Masse, Identification et dosage de l'hydroquinone et de ses éthers méthylique et benzylique dans les produits cosmétiques pour blanchir la peau. Int. j. Cosmet. Sci. 8 230-214 (1986).

⁽²⁾ J. Firth and I. Rix, Determination of Hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, s. 129.