

385L0490

Nr L 295/30

EUROPEISKA GEMENSKAPERNA OFFICIELLA TIDNING

7.11.85

**KOMMISSIONENS FJÄRDE DIREKTIV**

av den 11 oktober 1985

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

(85/490/EEG)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNA KOMMISSION HAR  
ANTAGIT DETTA DIREKTIV

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

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<sup>(1)</sup>, senast ändrat genom direktiv 85/391/EEG<sup>(2)</sup>, 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 de motsvarar kraven i gemenskapens bestämmelser om kosmetiska produkters sammansättning.

Alla nödvändiga analysmetoder bör fastställas snarast möjligt. Tre steg mot uppnåendet av detta mål har redan tagits i och med att vissa metoder definierats i kommissionens direktiv 80/1335/EEG<sup>(3)</sup>, 82/434/EEG<sup>(4)</sup> och 83/514/EEG<sup>(5)</sup>. I ett fjärde steg skall nu metoder definieras för identifiering och bestämning av glycerol 1-(4-aminobensoat), bestämning av klorbutanol, identifiering och bestämning av kinin, identifiering och bestämning av oorganiska sulfiter och vätesulfiter, identifiering och bestämning av klorater av alkalimetaller och identifiering och bestämning av natriumjodat.

De åtgärder som fastställs i detta direktiv har tillstyrkts av Kommittén för anpassning av direktiv 76/768/EEG med hänsyn till teknisk utveckling.

*Artikel 1*

Medlemsstaterna skall vidta alla nödvändiga åtgärder för att säkerställa att följande analyser utförs i enlighet med de metoder som anges i bilagan, vid offentlig kontroll av kosmetiska produkter:

- identifiering och bestämning av glycerol 1-(4-aminobensoat),
- bestämning av klorbutanol,
- identifiering och bestämning av kinin,
- identifiering och bestämning av oorganiska sulfiter och vätesulfiter,
- identifiering och bestämning av klorater av alkalimetaller,
- identifiering och bestämning av natriumjodat.

*Artikel 2*

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 31 december 1986.

De skall genast underrätta kommissionen om detta.

*Artikel 3*

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 11 oktober 1985

*På kommissionens vägnar*  
Stanley CLINTON-DAVIS  
*Ledamot av kommissionen*

<sup>(1)</sup> EGT nr L 262, 27.9.1976, s. 169.<sup>(2)</sup> EGT nr L 224, 22.8.1985, s. 40.<sup>(3)</sup> EGT nr L 383, 31.12.1980, s. 27.<sup>(4)</sup> EGT nr L 185, 30.6.1982, s. 1.<sup>(5)</sup> EGT nr L 291, 24.10.1983, s. 9.

**BILAGA****IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV GLYCEROL 1-(4-AMINOENSOAT)****A. IDENTIFIERING****1. OMFATTNING OCH TILLÄMPNING**

Denna metod påvisar alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat(glycerol 1-(4-aminobensoat)). Den påvisar även etyl-4-aminobensoat (bensokain) som kan finnas närvarande som förorening.

**2. PRINCIP**

Denna identifiering görs med tunnskiktskromatografi på kiselgel med en fluorescerande indikator och påvisande av den fria primära aminogruppen genom bildning av diazofärg på plattan.

**3. REAGENS**

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

3.1 Lösningsmedelsblandning: cyklohexan/propan-2-ol/stabiliserad diklormetan 48/64/9 (v/v/v).

3.2 Lösningsmedel för framkallning: petroleumeter (40–60)/bensen/acetone/ammoniumhydroxidlösning (minst 25 % NH<sub>3</sub>): 35/35/35/1 (v/v/v/v).

3.3 Framkallningslösning: a) natriumnitrit: 1 g i 100 ml 1 M saltsyra (beredd omedelbart före användning);

b) 2-naftol: 0,2 g i 100 ml 1 M kaliumhydroxid.

3.4 Standardlösningar:

alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat: 0,05 g i 100 ml av lösningsmedelsblandning (3.1);

etyl 4-aminobensoat: 0,05 g i 100 ml av lösningsmedelsblandning (3.1).

3.5 Kiselgel 60 F254 plattor, 0,25 mm tjocka, 200 mm × 200 mm.

**4. APPARATUR**

4.1 Normal apparatur för tunnskiktskromatografi.

4.2 Ultraljudsbad.

4.3 Millipore filter FH 0,5 mikrometer eller motsvarande.

**5. UTFÖRANDE****5.1 Preparering av prov**

Väg upp 1,5 g av produkten som skall analyseras i en 10-ml graderad kolv med propp. Fyll upp till märket med lösningsmedelsblandning (3.1). Sätt på proppen och lämna under en timme vid rumstemperatur i ett ultraljudsbad (4.2). Filtrera genom ett Millipore filter (4.3) och använd filtratet för kromatografi.

**5.2 Tunnskiktskromatografi**

Sätt 10 mikroliter av provlösningen (5.1) och av vardera standardlösningarna (3.4) på plattan (3.5).

Framkalla kromatogrammet till en höjd på 150 mm i vanna förut mättad med lösningsmedel (3.2). Låt plattan torka vid omgivande temperatur.

**5.3 Framkallning**

5.3.1 Undersök plattan under 254 nm UV-ljus.

5.3.2 Spraya den fullständigt torra plattan med lösningen 3.3 a.

Låt torka i rumstemperatur i en minut och spraya omedelbart med lösningen 3.3 b.

Torka plattan i ugn vid 60 °C. Fläckarna uppvisar en orange färg. Alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat: R<sub>F</sub> 0,07; etyl 4-aminobensoat: R<sub>F</sub> 0,55.

## B. BESTÄMNING

## 1. OMFATTNING OCH TILLÄMPNING

Denna metod bestämmer alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat. Den kan också bestämma etyl 4-aminobensoat. Den kan inte bestämma mer än 5% (m/m) alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat och 1% (m/m) etyl 4-aminobensoat.

## 2. DEFINITION

Innehållet av alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat och etyl 4-aminobensoat som mäts enligt denna metod uttrycks i viktprocent (% m/m) av produkten.

## 3. PRINCIP

Produkten som skall analyseras uppslmmas i metanol och efter lämplig behandling av provet bedöms den med högpresterande vätskekromatografi (HPLC).

## 4. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad och bör vara lämpade för HPLC vid behov.

## 4.1 Metanol.

4.2 Kaliumdiväteortofosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).4.3 Zinkdi(acetat) ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).4.4 Ättiksyra ( $d \frac{20}{4} = 1,05$ ).4.5 Tetrakaliumhexacyanoferrat, ( $\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ).

## 4.6 Etyl 4-hydroxibensoat.

## 4.7 Alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat.

## 4.8 Etyl 4-aminobensoat.

## 4.9 Fosfatbuffertlösning (0,02 M): lös upp 2,72 g kaliumdiväteortofosfat (4.2) i en liter vatten.

## 4.10 Elueringsmedel: fosfatbuffertlösning (4.9)/metanol (4.1) 61/39 (v/v)

Sammansättningen av den mobila fasen kan ändras för att erhålla en upplösningsfaktor  $R \geq 1,5$ .

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

där:

$R_1$  och  $R_2$  = topparnas retentionstider i minuter,

$W_1$  och  $W_2$  = toppbredd vid halv höjd i millimeter,

$d'$  = skrivarhastigheten i millimeter per minut.

## 4.11 Stamlösning av alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat: Väg noggrant upp omkring 40 mg alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat för in det i en 100-ml graderad kolv. Lös upp i 40 ml metanol (4.1). Fyll upp till märket med buffertlösning (4.9) och blanda.

## 4.12 Stamlösning av etyl 4-aminobensoat: Väg noggrant upp omkring 40 mg etyl 4-aminobensoat och för ned i en 100-ml graderad kolv. Lös upp i 40 ml metanol (4.1). Fyll upp till märket med buffertlösningen (4.9) och blanda.

## 4.13 Intern standardlösning: Väg noggrant upp omkring 50 mg etyl 4-hydroxibensoat (4.6), överför till en 100-ml standardkolv, lös upp i 40 ml metanol (4.1), fyll upp till märket med buffertlösning (4.9) och blanda.

## 4.14 Standardlösningar: Bered fyra standardlösningar genom att upplösa i 100 ml elueringsmedel (4.10) enligt följande tabell:

Standard lösning	Alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat		Etyl 4-aminobensoat		Etyl 4-hydroxibensoat	
	( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )*	ml (4.11)	( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )*	ml (4.12)	( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )*	ml (4.13)
I	8	2	8	2	50	10
II	16	4	12	3	50	10
III	24	6	16	4	50	10
IV	40	10	20	5	50	10

\* Dessa värden ges som indikation och motsvarar de exakta vikterna av 4.11, 4.12 och 4.13.

Observera: Dessa lösningar kan beredas på annat sätt.

- 4.15 Carrez I lösning: lös upp 26,5 g tetrakaliumhexacyanoferrat (4.5) i vatten och fyll upp till 250 ml.
- 4.16 Carrez II lösning: lös upp 54,9 g zinkdi(acetat) (4.3) och 7,5 ml ättiksyra (4.4) i vatten och fyll upp till 250 ml.
- 4.17 Merck Lichrosorb RP-18 eller motsvarande med genomsnittlig partikelstorlek på 5 mikrometer.

## 5. APPARATUR

- 5.1 Vanlig laboratorieutrustning.
- 5.2 Högpresterande kromatografiutrustning (HPLC) med UV-detektor med varierbar våglängd och med termostaterad kammare inställd på 45° C.
- 5.3 Rostfristål-kolonn: längd: 250 mm; intern diameter: 4,6 mm; packning: Lichrosorb RP-18 (4.17).
- 5.4 Ultraljudsbad.

## 6. UTFÖRANDE

### 6.1 Preparering av prov

- 6.1.1 Väg noggrant upp omkring 1 g av provet i en 100-milliliters bägare och tillsätt 10 ml metanol (4.1).
- 6.1.2 Placera bägaren i ultraljudsbadet (5.4) i 20 minuter för erhållande av en suspension. Överför suspensionen erhållen på detta sätt kvantitativt till en 100-milliliters standardkolv med inte mer än 75 ml elueringsmedel (4.10).

Tillsätt successivt 1 ml Carrez I-lösning (4.15) och 1 ml Carrez II-lösning (4.16) och blanda efter varje tillsats. Fyll upp till märket med elueringsmedlet (4.10), blanda åter och filtrera genom ett veckfilter.

- 6.1.3 Med en pipett överförs 3,0 ml av filtratet erhållet i 6.1.2 och 5,0 ml av den interna standardlösningen (4.13) i en 50-milliliters standardkolv. Fyll upp till märket med elueringsmedel (4.10) och blanda. Använd den sålunda erhållna lösningen till utförande av den kromatografiska analysen beskriven i 6.2.

### 6.2 Kromatografi

- 6.2.1 Justera flödes hastigheten hos den mobila fasen (4.10) till 1,2 ml/min och sätt kolonn temperaturen till 45° C.
- 6.2.2 Sätt detektorn (5.2) på 274 nm.
- 6.2.3 Med en mikrospruta injiceras minst två gånger 20 mikroliter av lösning (6.1.3) i kromatografen och toppytorna mäts.

### 6.3 Standardkurva

- 6.3.1 Injicera 20 mikroliter av var och en av standardlösningarna (4.14) och mät toppytan.
- 6.3.2 För varje koncentration beräknas förhållandet mellan toppytorna för alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat och toppytorna för den interna standarden. Rita upp detta förhållande på abskissan och förhållandet av de motsvarande vikterna på ordinatan.
- 6.3.3 Förfar på samma sätt med etyl 4-hydroxibensoat.

## 7. BERÄKNING

- 7.1 Från standardkurvan erhållen i 6.3 avläses vikt förhållandena ( $RP_1$ ,  $RP_2$ ) motsvarande förhållandena mellan toppytorna beräknade i 6.2.3 där

$RP_1$  = vikten av alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat/vikten av etyl 4-hydroxibensoat,

$RP_2$  = vikten av etyl 4-aminobensoat/vikten av 4-hydroxibensoat.

- 7.2 Från viktförhållandena erhållna på detta sätt beräknas innehållet av alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat och etyl 4-aminobensoat som viktprocent (% m/m) med formeln:

$$R_p \% \text{ (m/m) alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat} = RP_1 \times \frac{q}{6 p}$$

$$R_p \% \text{ (m/m) etyl 4-aminobensoat} = RP_2 \times \frac{q}{6 p}$$

q = mängden etyl 4-hydroxibensoat (intern standard) vägd i milligram i 4.12,

p = mängd prov i gram vägd i 6.1.1.

8. REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>
- 8.1 Vid ett innehåll på 5 % (m/m) av alfa-monoglyceryl 4-aminobensoat får skillnaden mellan resultaten av två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte överskrida 0,25 %.
- 8.2 Vid ett innehåll på 1 % (m/m) etyl 4-aminobensoat får skillnaden mellan resultaten av två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte överskrida 0,10 %.
9. ANMÄRKNINGAR
- 9.1 Innan en analys utförs kontrolleras om provet innehåller ämnen som kan tänkas överlappa toppen hos den interna standarden (etyl 4-aminobensoat) på kromatogrammet.
- 9.2 För att kontrollera frånvaro av störning upprepas bestämningen genom att ändra den relativa proportionen metanol i den mobila fasen med 10 %.

## BESTÄMNING AV KLORBUTANOL

1. OMFATTNING OCH TILLÄMPNINGSOMRÅDE
- Denna metod lämpar sig för bestämning av klorbutanol upp till en maximal koncentration på 0,5 % (m/m) i alla kosmetiska produkter utom aerosoler.
2. DEFINITION
- Innehållet klorbutanol uppmätt med denna metod uttrycks i viktprocent (% m/m) av produkten.
3. PRINCIP
- Efter lämplig behandling av produkten som skall analyseras, görs bestämningen gaskromatografiskt med 2,2,2-triklorethanol som intern standard.
4. REAGENS
- Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.
- 4.1 Klorbutanol (1,1,1-triklor-2-metylpropan-2-ol)
- 4.2 2,2,2-triklorethanol.
- 4.3 Absolut etanol.
- 4.4 Standardlösning av klorbutanol : 0,025 g i 100 ml etanol (4.3) (m/v).
- 4.5 Standardlösning av 2,2,2-triklorethanol: 4 mg i 100 ml etanol (4.3) (m/v).
5. APPARATUR
- 5.1 Vanlig laboratorieutrustning.
- 5.2 Gaskromatograf med elektrondetektor, Ni 63.
6. UTFÖRANDE
- 6.1 **Preparering av prov**
- Väg noggrant upp mellan 0,1 och 0,3 g (p g) av provet. Placera i en 100-milliliters volumetrisk kolv. Lös upp det i etanol (4.3) och tillsätt 1 ml av den interna standardlösningen (4.5) och fyll upp till märket med etanol (4.3).

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

6.2 **Gaskromatografiska förhållanden**6.2.1 Utförandeförhållandena måste ge en upplösningsfaktor  $R \geq 1,5$ .

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

där:

 $R_1$  och  $R_2$  = retentionstider i minuter av topparna, $W_1$  och  $W_2$  = toppbredderna vid halv höjd i millimeter, $d'$  = skrivarhastigheten i millimeter per minut.

6.2.2 Som exempel kan nämnas att följande utförandeförhållanden ger den erforderliga upplösningen:

Kolonn	I	II
Material	Glas	Rostfritt stål
Längd	1,80 m	3 m
Diameter	3 mm	3 mm
Stationär fas	10 % Carbowax 20 M TPA på Gaschrom Q 80–100 mesh	5 % OV 17 på Cromosorb WAW DMCS 80–100 mesh
Förbehandling:	2 till 3 dagar vid 190°C	
Temperatur:		
— injektor	200° C	150° C
— kolonn	150° C	100° C
— detektor	200° C	150° C
Bärargas	Nitrogen	Argon/metan (95/5 v/v)
Flödes hastighet	35 ml/min	35 ml/min

6.3 **Standardkurva**

I fem 100-milliliters volumetriska kolvar hålls 1 ml av standardlösningen (4.5) och respektive 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 och 0,6 ml av lösning 4.4. Därefter fylls upp till märket med etanol (4.3) och blandas. 1 µl av var och en av dessa lösningar injiceras i kromatografen enligt utförandeförhållandena beskrivna i 6.2.2 och en standardkurva upprättas med abskissan som förhållandet av vikten klorbutol till vikten 2,2,2-trikloretnol och med ordinatan som förhållandet av de motsvarande toppytorna.

6.4 Injicera 1 µl av lösningen erhållen i 6.1 och fortsätt enligt förhållandena beskrivna i 6.2.2.

7. **BERÄKNING**

7.1 Beräkna från standardkurvan (6.3) kvantiteten 'a' uttryckt i µg klorbutanol i lösningen 6.1.

7.2 Innehållet klorbutanol i provet beräknas enligt formeln:

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

8. **REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>**

Vid ett innehåll av 0,5 % (m/m) klorbutanol bör skillnaden mellan resultaten av två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte överskrida 0,01 %.

*Observera*

Om resultatet är lika med eller överskrider den högsta tillåtna koncentrationen är det nödvändigt att kontrollera frånvaro av störningar.

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

## IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV KININ

### A. IDENTIFIERING

#### 1. OMFATTNING OCH TILLÄMPNINGSSOMRÅDE

Denna metod är avsedd för att påvisa närvaro av kinin i schampon och hårlotioner.

#### 2. PRINCIP

Identifieringen görs med tunnskiktskromatografi på kiselgel. Kininet påvisas med blå fluorescens av kinin i sur miljö vid 360 nm.

För ytterligare bekräftelse kan fluorescensen elimineras med bromångor medan ammoniakångor ger upphov till uppkomst av en gulaktig fluorescens.

#### 3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

3.1 Kiselgelplattor utan fluorerescensindikatorer, 0,25 mm tjocka, 200 mm × 200 mm.

3.2 Lösningsmedel för framkallning: toluen/eter/diklormetan/ dietylamin/ 20/20/20/8 (v/v/v/v).

3.3 Metanol

3.4 Svavelsyra (96 %;  $d \frac{20}{4} = 1,84$ ).

3.5 Dietyleter.

3.6 Framkallningsmedel: Tillsätt försiktigt 5 ml svavelsyra (3.4) till 95 ml dietyleter (3.5) i en avkyld behållare.

3.7 Brom.

3.8 Ammoniumhydroxidlösning (28 %;  $d \frac{20}{4} = 0,90$ ).

3.9 Kinin, vattenfri.

3.10 Standardlösning: väg noggrant upp omkring 100,0 mg vattenfri kinin (3.9) i en standardkolv och lös upp i 100 ml metanol (3.3).

#### 4. APPARATUR

4.1 Normal utrustning för tunnskiktscromatografi.

4.2 Ultraljudsbad.

4.3 Millipore filter, FH 0,5  $\mu$ m eller motsvarande med lämplig filtrerutrustning.

#### 5. UTFÖRANDE

##### 5.1 Preparering av provet

Väg noggrant upp en kvantitet av provet som kan antas innehålla omkring 100 mg kinin i en 100-ml standardkolv, lös upp och fyll upp till märket med metanol (3.3).

Sätt propp i kolven och låt stå i en timme vid rumstemperatur i en ultraljudsvibrator (4.2). Filtrera (4.3) och använd filtratet för kromatografi.

##### 5.2 Tunnskiktscromatografi

Sätt 1,0  $\mu$ l av standardlösningen (3.10) och 1,0  $\mu$ l av provlösningen (5.1) på kiselgelplattan (3.1). Framkalla kromatogrammet över en längd på 150 mm genom att använda lösningsmedel 3.2 i en vanna, som tidigare mättats med lösningsmedel (3.2).

##### 5.3 Framkallning

5.3.1 Torka plattan vid rumstemperatur.

5.3.2 Spraya med reagens 3.6.

5.3.3 Låt plattan torka i en timme i rumstemperatur.

5.3.4 Undersök under ljus från en UV lampa justerad till våglängd på 360 nm. Kinin syns som en fluorescerande intensivt blå fläck.

Som exempel ger tabellen nedan RF-värdena av de viktigaste alkaloiderna besläktade med kinin vid framkallning med lösningsmedel 3.2.

Alkaloid	R <sub>F</sub>
Kinin	0,20
Kinidin	0,29
Kinkonin	0,33
Kinkonidin	0,27
Hydrokinidin	0,17

- 5.3.5 För att ytterligare bekräfta att kinin finns närvarande exponeras plattan i ungefär en timme för bromånga (3.7). Fluorescensen försvinner. När samma platta exponeras för ammoniakånga (3.8) återkommer fläckarna brunfärgade, och när plattan åter undersöks under UVljus vid 360 nm kan en gulaktigt fluorescens iakttas.

Gräns för påvisbarhet: 0,1 µg kinin.

## B. BESTÄMNING

### 1. OMFATTNING OCH TILLÄMPNINGSOMRÅDE

Denna metod beskriver bestämning av kinin. Den kan användas för bestämning av den maximalt tillåtna koncentrationen på 0,5 % (m/m) i schampon och 0,2 % i hårlotioner.

### 2. DEFINITION

Kinininnehållet, som bestäms enligt denna metod, uttrycks i viktprocent (% m/m) av produkten.

### 3. PRINCIP

Efter lämplig behandling av produkten, som skall analyseras, görs bestämningen med högpresterande vätskekromatografi (HPLC).

### 4. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad och lämpade för HPLC.

#### 4.1 Acetonitril

#### 4.2 Kaliumdiväteortofosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>).

#### 4.3 Ortofosforsyra (85 %, d<sub>20</sub>/4 = 1,7).

#### 4.4 Tetrametylammoniumbromid.

#### 4.5 Kinin, vattenfri.

#### 4.6 Metanol.

#### 4.7 Ortofosforsyrelösning (0,1 M): väg upp 11,53 g ortofosforsyra (4.3) och lös upp i 1 000 ml vatten i en graderad kolv.

#### 4.8 Kaliumväteortofosfatlösning (0,1 M): väg upp 13,6 g kaliumväteortofosfat (4.2) och lös upp i 1 000 ml vatten i en graderad kolv.

#### 4.9 Tetrametylammoniumbromidlösning: lös upp 15,40 g tetrametylammoniumbromid (4.4) i 1 000 ml vatten i en graderad kolv.

#### 4.10 Elueringsmedel: ortofosforsyra (4.7)/ kaliumdiväteortofosfat (4.8)/ tetrametylammoniumbromid (4.9)/ vatten/ acetonitril (4.1) 10/50/100/340/90 (v/v/v/v/v).

Sammansättningen av denna mobila fas kan ändras för att erhålla en upplösningsfaktor  $R \geq 1.5$ .

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

där:

$R_1$  och  $R_2$  = topparnas retentionstider i minuter,

$W_1$  och  $W_2$  = toppbredderna vid halv höjd i millimeter,

$d'$  = skrivarhastigheten i millimeter per minut.

#### 4.11 Kisel behandlad med oktadecylsilan, 10 µm.

#### 4.12 Standardlösningar: Väg noggrant upp omkring 5,0, 10,0, 15,0 och 20,0 mg vattenfri kinin (4.5) i en uppsättning 100-ml standardkolvar. Fyll upp till märket med metanol (4.6) och skaka innehållet i kolvarna till dess kininet upplöses. Filtrera varje prov genom ett 0,5-mikrometer filter.

### 5. APPARATUR

#### 5.1 Vanlig laboratorieutrustning.

#### 5.2 Ultraljudsbad.

#### 5.3 Högpresterande vätskekromatografiutrustning med varierbar våglängsdetektor.

#### 5.4 Kolonn: längd: 250 mm; intern diameter: 4,6 mm; fyllnad: kisel (4.11).

#### 5.5 Millipore filter FH 0,5 µm, eller motvarande med lämplig filtrerapparat.



6. UTFÖRANDE
- 6.1 **Preparering av prov**  
Väg noggrant upp i en 100-ml standardkolv en tillräcklig kvantitet av produkten för att innehålla 10,0 mg vattenfri kinin, tillsätt 20 ml metanol (4.6) och placera kolven i ett ultraljudsbad (5.2) i 20 minuter. Fyll upp till märket med metanol (4.6). Blanda lösningen och filtrera sedan en provdel (5.5).
- 6.2 **Kromatografi**  
Flödes hastighet: 1,0 ml/min.  
Detektorvåglängd (5.3) : 332 nm.  
Injektionsvolym: 10 µl av filtrerad lösning (6.1).  
Mätning: toppyta.
- 6.3 **Standardkurva**  
Injicera minst tre gånger 10,0 µl av varje referenslösning (4.12), mät toppytorna och beräkna genomsnittsytan vid varje koncentration.  
Framställ standardkurvan och kontrollera att den är rätlinjig.
7. BERÄKNING
- 7.1 Från standardkurvan (6.3) bestäms kvantiteten vattenfri kinin i µg närvarande i den injicerade volymen (6.2).
- 7.2 Koncentrationen av vattenfri kinin i provet i viktprocent (% m/m) erhålles enligt följande formel:  
$$\% \text{ (m/m) vattenfri kinin} = \frac{B}{A}$$
  
där:  
B är kvantiteten vattenfri kinin i mikrogram bestämt i 10-mikroliter av den filtrerade lösningen (6.1),  
A är provets vikt i gram (6.1).
8. REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>  
Vid ett innehåll på 0,5 % (m/m) vattenfri kinin får skillnaden mellan resultaten av två bestämningar, som utförts parallellt på samma prov, inte överskrida 0,02 %.  
Vid ett innehåll på 0,2 % (m/m) av vattenfri kinin får skillnaden mellan resultaten av två bestämningar, som utförts parallellt på samma prov inte överskrida 0,01 %.

## IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV OORGANISKA SULFITER OCH VÄTESULFITER

### OMFATTNING OCH TILLÄMPNINGSOMRÅDE

Metoden beskriver identifiering och bestämning av oorganiska sulfiter och vätesulfiter i kosmetiska produkter. Den är endast tillämplig på produkter som har en vatten- eller alkoholfas och för koncentrationer upp till 0,2 % svaveldioxid.

#### A. IDENTIFIERING

1. PRINCIP  
Provet upphettas i saltsyra och den frigjorda svaveldioxiden identifieras antingen genom sin lukt eller sin verkan på ett indikatorpapper.
2. REAGENS  
Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.
- 2.1 Saltsyra (4 M).
- 2.2 Kaliumjodatstärkelsepapper eller lämpligt alternativ.
3. APPARATUR
- 3.1 Normal laboratorieutrustning.
- 3.2 Kolv (25 ml) försedd med en kort återloppskylare.
4. UTFÖRANDE
- 4.1 Placera omkring 2,5 g av provet i kolven (3.2) med 10 ml saltsyra (2.1).
- 4.2 Blanda och upphetta till kokning.
- 4.3 Prova utsläpp av svaveldioxid antingen genom lukt eller med indikatorpapper (2.2).

(1) ISO 5725.

**B. BESTÄMNING**

## 1. DEFINITION

Sulfit eller vätesulfitinnehållet i provet, som bestäms enligt metoden, uttrycks i viktprocent svaveldioxid.

## 2. PRINCIP

Efter surgörning av provet destilleras den frigjorda svaveldioxiden in i en väteperoxidlösning. Den bildade svavelsyran titreras mot en standard natriumhydroxidlösning.

## 3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

3.1 Väteperoxid, 0,2% (m/v). Bered dagligen.

3.2 Ortofosforsyra (d  $\frac{25}{4} = 1,75$ ).

3.3 Metanol.

3.4 Natriumhydroxid (0,01 M) standardlösning.

3.5 Kväve.

3.6 Indikator: blandning 1:1 (v/v) metylrött (0,03% m/v i etanol) och metylenblått (0,05% m/v i etanol). Filtrera lösningen.

## 4. APPARATUR

4.1 Normal laboratorieutrustning.

4.2 Destillationsapparat (se bild).

## 5. UTFÖRANDE

5.1 Väg noggrant upp omkring 2,5 g av provet i destillationskolv A (se bild).

5.2 Tillsätt 60 ml vatten och 50 ml metanol (3.3) och blanda.

5.3 Placera 10 ml väteperoxid (3.1), 60 ml vatten och några droppar indikator (3.6) i destillationsmottagare D (se bild). Tillsätt några droppar natriumhydroxid (3.4) till dess att indikatorn blir grön.

5.4 Upprepa 5.3. för tvättflaska E (se bild).

5.5 Sätt samman apparaturen och justera kväveflödet (3.5) till omkring 60 bubblor per minut.

5.6 Låt 15 ml ortofosforsyra (3.2) rinna ut ur tratten in i destillationskolven A.

5.7 Upphetta snabbt till kokning och låt sedan sjuda försiktigt i totalt 30 minuter.

5.8 Koppla bort destillationsmottagare D. Skölj röret och titrera sedan med natriumhydroxidlösning (3.4) till dess indikatorn blir grön (3.6).

## 6. BERÄKNING

Beräkna viktinnehållet sulfit eller vätesulfit i provet genom formeln:

$$\% \text{ m/m svaveldioxid} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

där:

M = molar koncentration natriumhydroxidlösning (3.4),

V = volym natriumhydroxid (3.4) som behövs för titrering (5.8) i milliliter,

m = provets (5.1) vikt i gram.

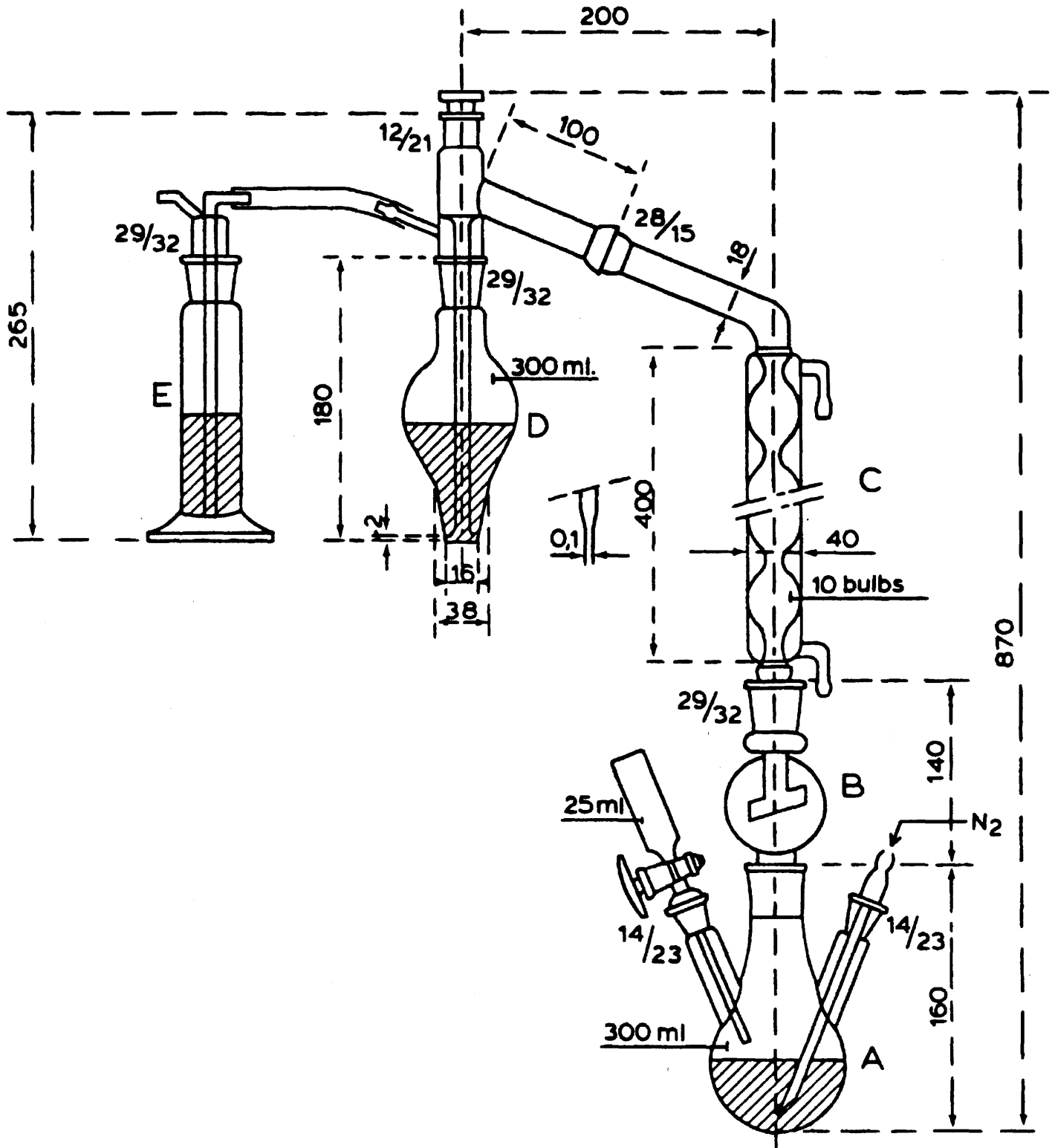
7. REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>

Vid ett innehåll på 0,2% m/m svaveldioxid bör skillnaden mellan två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte vara större än 0,006%.

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

Svaveldioxiddestillationsapparat enligt Tanner

Alla dimensioner i mm



**IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV KlorATER AV ALKALIMETALLER**  
**RÄCKVIDD OCH TILLÄMPNINGSSOMRÅDE**

Metoden beskriver identifiering och bestämning av klorater i tandkrämer och andra kosmetiska produkter.

**A. IDENTIFIERING**

**1. PRINCIP**

Kloraterna separeras från andra halater genom tunnskiktskromatografi och identifieras genom oxidation av jodid för att bilda jod.

**2. REAGENS**

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

2.1 Reagenslösningar: vattenlösningar av kaliumklorat, -bromat och -jodat (0,2% m/v), nygjorda.

2.2 Lösningsmedel för framkallning: ammoniaklösning (28% m/v) aceton/butanol (60/130/30 v/v/v).

2.3 Kaliumjodid, vattenlösning (5% m/v).

2.4 Stärkelselösning (1 till 5% m/v).

2.5 Saltsyra (1 M).

2.6 Färdiga tunnskiktspeltor av cellulosa (0,25 mm).

**3. APPARATUR**

Normal utrustning för tunnskiktskromatografi.

**4. UTFÖRANDE**

4.1 Extrahera omkring 1 g av provet med vatten, filtrera, och späd till omkring 25 ml.

4.2 Sätt 2 µl av lösningen (4.1) på plattan (2.6) tillsammans med 2 mikroliter av var och en av de tre referenslösningarna (2.1).

4.3 Placera plattan i vattan och framkalla med stigande kromatografi omkring tre fjärdedelar av längden på plattan (2.6) med lösningssmedel 2.2.

4.4 Avlägsna från vattan och låt lösningssmedlet avdunsta. (Observera: Detta kan ta upp till två timmar.)

4.5 Spraya plattan med kaliumjodid (2.3) och låt torka omkring fem minuter.

4.7 Spraya plattan med saltsyra (2.5).

**5. BEDÖMNING**

Om klorat finns närvarande uppträder en blå fläck (eventuellt en brun fläck) efter en halvtimme med  $R_F$  värde på omkring 0,7 till 0,8.

Halater	$R_F$
Jodat	0 till 0,2
Bromat	0,5 till 0,6
Klorat	0,7 till 0,8

Det bör observeras att bromater och jodater ger omedelbar reaktion. Förväxla ej fläckarna från bromater och klorater.

## B. BESTÄMNING

## 1. DEFINITION

Kloratinnehållet i provet bestämt enligt denna metod uttrycks i viktprocent klorat.

## 2. PRINCIP

Kloratet reduceras av zinkpulver i sur miljö. Den bildade kloriden mäts med potentiometrisk titring med användning av silvernitratlösning. En liknande bestämning före reduktion tillåter närvaro av halider.

## 3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

## 3.1 Ättiksyra, 80 % (m/m).

## 3.2 Zinkpulver.

## 3.3 Silvernitrattandardlösning (0,1 M).

## 4. APPARATUR

## 4.1 Normal laboratorietrustning.

## 4.2 Potentiometer utrustad med en silverindikatorelektrod.

## 5. UTFÖRANDE

## 5.1 Preparering av prov

Väg noggrant upp en kvantitet "m" på omkring 2 g i ett centrifugrör. Tillsätt omkring 15 ml ättiksyra (3.1) och blanda noggrant. Vänta 30 minuter och centrifugera under 15 minuter vid 2 000 varv/min. Överför centrifuglösningen (supernatant) till en 50-ml volumetrisk kolv. Upprepa centrifugeringen två gånger genom att tillsätta 15 ml ättiksyra (3.1) till återstoden. Samla lösningen som innehåller klorat i samma volumetriska kolv. Fyll upp till märket med ättiksyra (3.1).

## 5.2 Reduktion av klorat

Tag 20 ml av lösning 5.1. och tillsätt 0,6 g zinkpulver (3.2). Koka upp i en kolv försedd med ett kylrör. Avkyl och filtrera efter 30 minuters kokning. Skölj kolven med vatten. Filtrera och sammanför filtratet med destillatet.

## 5.3 Bestämning av klorid

Titra 20 ml lösning 5.2 med silvernitratt (3.3) genom att använda en potentiometer (4.2). Titra på samma sätt 20 ml av lösning 5.1 med silvernitratt (3.3).

Observera: Om produkten innehåller brom eller jodderivat som kan frigöra bromider eller jodider efter reduktion, kommer titrerkurvan att ha flera brytpunkter. I sådant fall är volymen av den titrerade lösningen (3.3) motsvarande kloriden skillnaden mellan den sista och näst sista brytpunkten.

## 6. BERÄKNING

Kloratinnehållet i provet (% m/m) beräknas enligt formeln:

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

där:

V = volymen i milliliter av silvernitratlösningen (3.3), som använts för titring av lösning 5.2,

V' = volymen i milliliter av silvernitratlösningen (3.3) som använts för titring av 20 milliliter av lösning 5.1,

M = molariteten hos silvernitratt standardlösning (3.3),

m = provets vikt i gram.

7. REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>

Vid ett kloratinnehåll på 3 till 5 % m/m bör skillnaden mellan resultaten av två bestämningar, som utförts parallellt på samma prov, inte överskrida 0,07 % m/m.

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

**IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV NATRIUMJODAT****RÄCKVIDD OCH TILLÄMPNINGSOMRÅDE**

Denna metod beskriver utförandet av identifiering och bestämning av natriumjodat i kosmetiska produkter som sköljs av.

**A. IDENTIFIERING****1. PRINCIP**

Natriumjodatet separeras från andra halater genom tunnskiktskromatografi och identifieras genom oxidation av jodid till jod.

**2. REAGENS**

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad.

- 2.1 Referenslösningar. Vattenlösningar av kaliumklorat, -bromat och jodat (0,01 % m/v), nyberedda.
- 2.2 Lösningsmedel för framkallning. Ammoniaklösning (28 % m/v) / aceton / butanol (60/130/30 v/v/v).
- 2.3 Kaliumjodid vattenlösning (5 % m/v).
- 2.4 Stärkelselösning (1 till 5 % m/v).
- 2.5 Saltsyra (1 M).

**3. APPARATUR**

- 3.1 Färdigberedda tunnskiktskromatografplattor (0,25 mm) av cellulosa.
- 3.2 Normal utrustning för tunnskiktskromatografi.

**4. UTFÖRANDE**

- 4.1 Extrahera omkring 1 g av provet med vatten, filtrera, och späd till omkring 10 ml.
- 4.2 Sätt 2 µl av denna lösning på plattans baslinje (3.1) tillsammans med 2 µl av var och en av de tre referenslösningarna (2.1).
- 4.3 Placera plattan i vannan och framkalla genom stigande kromatografi omkring tre fjärdedelar av längden på plattan med Lösningsmedel (2.2).
- 4.4 Avlägsna plattan från vannan och låt Lösningsmedlet avdunsta vid omgivande temperatur (observera att detta kan ta upp till två timmar).
- 4.5 Spraya plattan med kaliumjodid (2.3) och låt torka i omkring fem minuter.
- 4.6 Spraya med stärkelse (2.4) och låt torka i omkring 5 minuter.
- 4.7 Spraya slutligen med saltsyra (2.5).

**5. BEDÖMNING**

Om jodat finns närvarande kommer en blå fläck (färgen kan vara brun eller bli brun när den får stå) att uppträda omedelbart med  $R_F$ -värde omkring 0 till 0,2.

Det bör observeras att bromat ger omedelbara reaktioner vid  $R_F$ -värden på omkring 0,5 till 0,6 och klorater efter 30 minuter vid  $R_F$ -värden på 0,7 till 0,8.

**B. BESTÄMNING****1. DEFINITION**

Natriumjodatinnehållet bestämt enligt denna metod uttrycks i viktprocent natriumjodat.

**2. PRINCIP**

Natriumjodatet upplöses i vatten och bestäms med högpresterande vätskekromatografi genom användning av i serie en motfas C 18 kolonn och en anjonbytkolonn.

### 3. REAGENS

Alla reagens bör vara av analytisk renhetsgrad och speciellt lämpade för högpresterande vätskekromatografi (HPLC).

#### 3.1 Saltsyra (4 M).

#### 3.2 Natriumsulfit vattenlösning 5 % m/v.

#### 3.3 Natriumjodat stamlösning.

Bered en stamlösning innehållande 50 mg natriumjodat per 100 ml vatten.

#### 3.4 Kaliumdiväteortofosfat.

#### 3.5 Dinatriumväteortofosfat • 2H<sub>2</sub>O.

#### 3.6 HPLC mobil fas: lös upp 3,88 g kaliumdiväteortofosfat (3.4) och 1,19 g dinatriumväteortofosfat • 2H<sub>2</sub>O (3.5) i 1 liter vatten.

pH av denna lösning är 6,2.

#### 3.7 Universalindikatorpapper, pH 1–11.

### 4. APPARATUR

Vanlig laboratorieutrustning.

#### 4.1 Runda filtrerpapper, diameter 110 mm, Schleicher och Schüll nr 575 eller motsvarande.

#### 4.2 Högpresterande vätskekromatograf med variabel våglängsdetektor.

#### 4.3 Kolonner: längd: 120 mm; intern diameter: 4,6 mm; antal: två kopplade i serie; första kolonnen — Nucleosil<sup>®</sup> 5 C18 eller motsvarande; andra kolonnen — Vydac<sup>™</sup>-301-SB eller motsvarande.

### 5. UTFÖRANDE

#### 5.1 Preparering av prov

##### 5.1.1 Flytande prover (*schampo*)

Väg noggrant upp en provdel på omkring 1,0 g prov i en 10-ml kalibrerat rör med glaspropp eller en mätkolv.

Fyll upp till märket med vatten och blanda.

Vid behov filtreras lösningen.

Bestäm jodatet i lösningen med HPLC enligt beskrivning i sektion 5.2.

##### 5.1.2 Fasta prover (*tvål*)

Finfördela en del av provet och väg noggrant upp en provdel på omkring 1,0 g i en 100-ml mätcylinder med glaspropp. Fyll upp till 50 ml med vatten och skaka kraftigt i en minut. Centrifugera och filtrera genom ett filtrerpapper (4.1) eller låt blandningen stå under minst en natt.

Skaka den geléliknande lösningen kraftigt och filtrera genom ett filtrerpapper (4.1).

Bestäm jodatet i lösningen med HPLC enligt beskrivning i punkt 5.2.

#### 5.2 Kromatografi

Flödes hastighet: 1 ml/min.

Detektorns våglängd (4.2): 210 nm.

Injektionsvolym: 10 µl.

Mätning: toppyta.

#### 5.3 Kalibrering

Pipettera respektive 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 och 20,0 ml av natriumjodat stamlösningen (3.3) i 50-ml volumetriska kolvar. Fyll upp till märket och blanda.

De så erhållna lösningarna innehåller respektive 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 och 0,20 mg natriumjodat per ml.

Injicera en 10-µl portion av varje standardjodatlösning i vätskekromatografen (4.2) för att erhålla ett kromatogram. Bestäm toppytan för jodat och rita upp en kurva av toppytan i förhållande till natriumjodatkoncentrationen.

**6. BERÄKNING**

Beräkna natriumjodatinnehållet i viktprocent (% m/m) genom att använda följande formel:

$$\% \text{ (m/m) natriumjodat} = \frac{Vc}{10 m}$$

där:

m är provdelens vikt i gram (5.1),

V är provlösningens totala volym i milliliter, erhållen enligt beskrivning i 5.1,

c är koncentrationen av natriumjodat i milligram per milliliter, erhållen från standardkurvan (5.3).

**7. REPRODUCERBARHET<sup>(1)</sup>**

Vid natriumjodatinnehåll på 0,1 % (m/m) får skillnaden mellan resultaten från två bestämningar, som är parallellt utförda på samma prov, inte överskrida 0,002 %.

**8. BEKRÄFTELSE****8.1 Princip**

I en surgjord lösning av en kosmetisk produkt reduceras jodat (IO<sub>3</sub><sup>-</sup>) till jodid (I<sup>-</sup>) med sulfit och den uppkomna lösningen undersöks med HPLC. Om en topp, som har en retentionstid motsvarande jodatets retentionstid försvinner efter behandling med sulfit kan den ursprungliga toppen med största säkerhet anses tillhöra jodatet.

**8.2 Utförande**

Pipettera 5-ml av provlösningen erhållen enligt beskrivning i sektion 5.1 i en konisk kolv. Justera lösningens pH till ett värde på 3 eller lägre med saltsyra (3.1); universalindikatorpapper (3.7). Tillsätt tre droppar natriumsulfitlösning (3.2) och blanda. Injicera en 10- $\mu$ l del av lösningen i vätskekromatografen (4.2). Jämför detta kromatogram med kromatogrammet erhållet enligt beskrivning i punkt 5 för samma prov.

---

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