393L0073

Nr L 231/34 *EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS OFFICIELLA TIDNING* 14.9.93

KOMMISSIONENS FEMTE DIREKTIV 93/73/EEG

av den 9 september 1993

om analysmetoder för kontroll av kosmetiska produkters sammansättning

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska ekonomiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 76/768/EEG av den 27 juli 1976 om tillnärmning av medlemsstaternas lagstiftning om kosmetiska produkter(1), senast ändrat genom direktiv 93/35/EEG(2), särskilt artikel 8.1 i detta, och

med beaktande av följande:

Enligt direktiv 76/768/EEG skall kosmetiska produkter kontrolleras av en offentlig myndighet i syfte att säkerställa att de villkor uppfylls som fastställts med stöd av gemenskapens bestämmelser.

Alla nödvändiga analysmetoder bör fastställas snarast möjligt. De första fyra stegen i denna riktning har redan tagits 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) och 85/490/EEG(8). Det femte steget omfattar identifiering och bestämning av silvernitrat, identifiering och bestämning av selendisulfid i mjällschampon, bestämning av lösligt barium och lösligt strontium i pigment i salt -eller substratpigmentform, identifiering och bestämning av bensylalkohol, identifiering av zirkonium och bestämning av zirkonium, aluminium och klor i antiperspiranter som inte förpackas i aerosolbehållare samt identifiering och bestämning av hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin och klorhexidin.

De åtgärder som beslutas om i detta direktiv har tillstyrkts av 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 silvernitrat,

— identifiering och bestämning av selendisulfid i mjällschampon,

— bestämning av lösligt barium och lösligt strontium i salt- och substratpigmentform,

— identifiering och bestämning av bensylalkohol,

— identifiering av zirkonium och bestämning av zirkonium, aluminium och klor i antiperspiranter som inte förpackas i aerosolbehållare,

— identifiering och bestämning av hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin och klorhexidin

utförs i enlighet med de metoder som anges i bilagan.

(1) EGT nr L 262, 27.9.1976, s. 169.
(2) EGT nr L 151, 23.6.1993, s. 32.
(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.

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 1994. 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 centrala bestämmelser i nationell lagstiftning som de antar inom det område som omfattas av detta direktiv.

Artikel 3

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

Utfärdat i Bryssel den 9 september 1993.

På kommissionens vägnar
Christiane SCRIVENER
Ledamot av kommissionen

BILAGA

IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV SILVERNITRAT I KOSMETISKA PRODUKTER

A. **Identifiering**

1. *Räckvidd och tillämpningsområde*
Denna metod avser identifiering av silvernitrat som silver i vattenhaltiga kosmetiska produkter.

2. *Princip*
Silvret identifieras genom den karakteristiska vita fällning som bildas tillsammans med klorjoner.

3. *Reagens*
Alla reagens skall vara analytiskt rena.

3.1 Saltsyralösning, 2 M

3.2 Ammoniaklösning: späd koncentrerad ammoniumhydroxidlösning (d_{20} = 0,88 g/ml) med samma mängd vatten och blanda.

3.3 Salpetersyralösning, 2 M

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Centrifug

5. *Utförande*

5.1 Tillsätt droppvis 2 M saltsyralösning (3.1) till cirka 1 g av provet i ett centrifugrör tills utfällningen avslutats. Blanda och centrifugera.

5.2 Avskilj supernatanten och skölj fällningen en gång med fem droppar kallt vatten. Avlägsna sköljvätskan.

5.3 Tillsätt en mängd vatten som är lika med fällningens volym till centrifugröret. Koka upp och rör om.

5.4 Centrifugera medan innehållet fortfarande är hett. Avskilj supernatanten.

5.5 Tillsätt några droppar ammoniaklösning (3.2). Blanda och centrifugera.

5.6 Tillsätt några droppar 2 M salpetersyralösning (3.3) till en droppe supernatantvätska på en glasplatta.

5.7 En vit fällning indikerar förekomst av silver.

B. **Bestämning**

1. *Räckvidd och tillämpningsområde*
Denna metod är lämplig för bestämning av silvernitrat som silver i kosmetiska produkter som är avsedda för färgning av ögonfransar eller ögonbryn.

2. *Princip*
Silvret i produkten bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagens*
Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Salpetersyralösning (0,02 M)

3.2 Standardsilverlösningar

3.2.1 Stamstandardsilverlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyralösning ("SpectrosoL" eller motsvarande)

3.2.2 Standardsilverlösning, 100 µg/ml: överför med pipett 10 ml av den stamstandardsilverlösningen (3.2.1) till en 100 ml mätkolv. Fyll på 0,02 M salpetersyra (3.1) till full volym och blanda. Denna standardlösning bör vara nyberedd och lagras i mörk glasflaska,

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Atomabsorptionsspektrofotometer med hålkatodlampa för silver

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

Väg noggrant upp cirka 0,1 g (m gram) homogent prov av produkten till en 1 000 ml mätkolv. Överför detta kvantitativt till en enliters mätkolv, fyll på 0,02 M salpetersyralösning (3.1) till full volym och blanda.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri

Våglängd: 338,3 nm

Låga: luft-acetylen

Bakgrundskorrektion: ja

Bränsletillförsel: mager; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel

5.3 Kalibrering

5.3.1 Överför med pipett till en serie 100 ml mätkolvar 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 och 5,0 ml standardsilverlösning (3.2.2). Fyll på salpetersyralösning (3.1) till full volym i varje kolv och blanda. Dessa lösningar innehåller 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, respektive 5,0 µg silver per milliliter.

5.3.2 Mät absorbansen hos en 0,02 M salpetersyralösning (3.1) och använd det erhållna värdet för silverkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardlösning (5.3.1). Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till silverkoncentrationen.

5.4 Bestämning

Mät absorbansen hos provlösningen (5.1). Avläs på kalibreringskurvan den silverkoncentration som motsvarar det absorbansvärde som erhållits för provlösningen.

6. *Beräkning*

Beräkna provets silvernitrathalt i viktprocent (% viktprocent) med formeln:

$$\% \text{ (viktprocent) silvernitrat} = \frac{1{,}5748 \times c}{10 \times m}$$

där:

m = analysprovets (5.1) massa i gram, och

c = silverkoncentrationen i provlösningen (5.1) i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

7. *Repeterbarhet*(1)

Vid en silvernitrathalt på 4 % (viktprocent) får skillnaden mellan två parallellt utförda bestämningar på samma prov inte överstiga 0,05 % (viktprocent).

IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV SELENDISULFID I MJÄLLSCHAMPON

A. **Identifiering**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser identifiering av selendisulfid som selen i mjällschampon.

2. *Princip*

Selenet identifieras genom den karakteristiska färg, gul till orange, som framträder vid reaktion med urinämne och kaliumjodid.

(1) ISO 5725.

3. *Reagens*
Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Salpetersyra, koncentrerad (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2 Urinämne

3.3 Kaliumjodidlösning, 10 % (vikt:vikt): lös 10 g kaliumjodid i 100 ml vatten

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Provrör/Kjeldahlkolv som rymmer 100 ml

4.3 Värmeblock

4.4 Filtrerpapper (Whatman nr 42 eller likvärdigt) eller ett 0,45 µm membranfilter

5. *Utförande*

5.1 Tillsätt 2,5 ml koncentrerad salpetersyra (3.1) till cirka 1 g schampo i provrör/Kjeldahlkolv och koka vid 150 °C under 30 minuter i värmeblocket (4.3).

5.2 Späd det kokade provet med vatten till 25 ml och filtera genom filtrerpapper eller 0,45 µm membranfilter (4.4).

5.3 Tillsätt till 2,5 ml av filtratet 5 ml vatten och 2,5 g urinämne (3.2) och koka upp. Kyl och tillsätt 1 ml kaliumjodidlösning (3.3).

5.4 En gul till orange färg, som snabbt mörknar då provet får stå, indikerar förekomst av selen.

B. **Bestämning**

1. *Räckvidd och användningsområde*
Denna metod är lämplig för bestämning av selendisulfid som selen i mjällschampon som innehåller upp till 4,5 % (viktprocent) selendisulfid.

2. *Princip*
Provet kokas tillsammans med salpetersyra och selenet i den lösning som bildas bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagens*
Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Salpetersyra, koncentrerad (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2 Salpetersyralösning, 5 % (volymprocent): tillsätt 50 ml koncentrerad salpetersyra (3.1) till 500 ml vatten i en bägare under kontinuerlig omrörning. Överför denna lösning till en enliters mätkolv och fyll på vatten till volym.

3.3 Stamstandardselenlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyralösning ("SpectrosoL" eller likvärdig)

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Provrör/Kjeldahlkolv som rymmer 100 ml

4.3 Värmeblock

4.4 Filtrerpapper (Whatman nr 42 eller likvärdigt) eller 0,45 µm membranfilter

4.5 Atomabsorptionsspektrofotometer med hålkatodlampa för selen

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

5.1.1 Väg noggrant upp cirka 0,2 g (m gram) homogent prov av schampot i ett kokningsrör (4.2).

5.1.2 Tillsätt 5 ml koncentrerad salpetersyra (3.1) och koka vid 150 °C under en timme i värmeblocket (4.3).

5.1.3 Låt lösningen svalna och späd med vatten till 100 ml. Filtrera genom filtrerpapper eller 0,45 µm membranfilter (4.4) och spara den filtrerade lösningen för bestämningen.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri

Låga: luft-acetylen

Våglängd: 196 nm

Bakgrundskorrektion: ja

Bränsletillförsel: mager; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel

5.3 Kalibrering

5.3.1 Överför med pipett till en serie 100 ml mätkolvar 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 och 5,0 ml stamstandardselenlösning (3.3). Fyll på 5 % (volymprocent) salpetersyralösning (3.2) till full volym i varje kolv och blanda. Dessa lösningar innehåller 10, 20, 30, 40 respektive 50 µg selen per milliliter.

5.3.2 Mät absorbansen hos en 5 % (volymprocent) salpetersyralösning (3.2) och använd det erhållna värdet för selenkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardlösning (5.3.1). Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till selenkoncentrationen.

5.4 Bestämning

Mät absorbansen hos provlösningen (5.1.3). Avläs på kalibreringskurvan den selenkoncentration som motsvarar det absorbansvärde som erhållits för provlösningen.

6. *Beräkning*

Beräkna provets selendisulfidhalt i viktprocent (% viktprocent) med formeln

$$\% \text{ (victprocent) selendisulfid} = \frac{1{,}812 \times c}{100 \times m}$$

där:

m = analysprovets massa i gram (5.1.1), och

c = provlösningens selenkoncentration i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

7. *Repeterbarhet*[1]

Vid en selendisulfidhalt på 1 % (viktprocent) får skillnaden mellan resultaten av två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,05 % (viktprocent).

BESTÄMNING AV LÖSLIGT BARIUM OCH STRONTIUM I PIGMENT I SALT- ELLER SUBSTRATPIGMENTFORM

A. Bestämning av lösligt barium

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser extraktion och bestämning av lösligt barium i pigment i salt- eller substratpigmentform.

2. *Princip*

Pigmentet extraheras med 0,07 M saltsyralösning under föreskrivna förhållanden och mängden barium i extraktet bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

[1] ISO 5725.

3. *Reagens*
Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Etanol, absolut

3.2 Saltsyralösning, 0,07 M

3.3 Saltsyralösning, 0,5 M

3.4 Kaliumkloridlösning, 8 % (vikt:volym): lös 16 g kaliumklorid i 200 ml 0,07 M saltsyralösning (3.2).

3.5 Standardbariumlösningar

3.5.1 Stamstandardbariumlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyralösning ("Spectroso" eller likvärdigt)

3.5.2 Standardbariumlösning, 200 µg/ml: pipettera 20,0 ml av stamstandardbariumlösningen (3.5.1) till en 100 ml mätkolv. Fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 pH-mätare med en noggrannhet av ± 0,02 enheter

4.3 Skakapparat försedd med sidoarmar och klämmare

4.4 Membranfilter med 0,45 µm porstorlek

4.5 Atomabsorptionsspektrofotometer med bariumhålkatodlampa

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

5.1.1 Väg noggrant upp cirka 0,5 g (m gram) pigment i en E-kolv. För att omskakningen skall kunna ske effektivt krävs en kolv med minst 150 ml volym.

5.1.2 Tillsätt med pipett 1,0 ml etanol (3.1) och vrid kolven så att pigmentet blir genomfuktat. Tillsätt med byrett exakt den mängd 0,07 M saltsyralösning (3.2) som krävs för att förhållandet syravolym/pigmentmassa skall bli exakt 50 milliliter per gram. Beteckna extraktets totala volym inklusive etanolen V ml. Skaka om innehållet i kolven under fem sekunder så att det blandas fullständigt.

5.1.3 Mät med pH-mätare (4.2) pH-värdet hos den suspension som bildats. Om det är över 1,5 tillsätts 0,5 M saltsyralösning (3.3) droppvis, tills värdet ligger inom intervallet 1,4 – 1,5.

5.1.4 Tillslut kolven och skaka den omedelbart därefter under 60 minuter med skakapparat (4.3). Skakapparaten måste ha så hög hastighet att skum bildas. Filtrera genom 0,45 µm membranfilter (4.4) och ta vara på filtratet. Centrifugera inte extraktet före filtrering. Pipettera 5,0 ml av filtratet till en 50 ml mätkolv, fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda. Samma lösning används vid bestämning av strontium (del B).

5.1.5 Pipettera till en 100 ml mätkolv 5,0 ml kaliumkloridlösning (3.4) och en analysmängd (W_{Ba} ml) av det utspädda filtratet (5.1.4) som ger en förväntad koncentration av 3 – 10 µg barium per milliliter (10 ml bör vara ett lämpligt utgångsmått). Fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

5.1.6 Bestäm samma dag lösningens (5.1.5) bariumkoncentration genom atomabsorptionsspektrometri.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri
Låga: lustgas-acetylen
Våglängd: 553,5 nm
Bakgrundskorrektion: nej
Bränsletillförsel: mager; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel.

5.3 K a l i b r e r i n g

5.3.1 Överför med pipett till en serie 100 ml mätkolvar 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 och 5,0 ml standardbariumlösning (3.5.2). Tillsätt med pipett 5,0 ml kaliumkloridlösning (3.4) till varje kolv, fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda. Lösningarna innehåller 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 respektive 10,0 µg barium per milliliter.

Bered en blanklösning på samma sätt men med uteslutande av standardbariumlösningen.

5.3.2 Mät blanklösningens (5.3.1) absorbans och använd det erhållna värdet för bariumkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardbariumlösning (5.3.1). Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till bariumkoncentrationen.

5.4 B e s t ä m n i n g

Mät provlösningens (5.1.5) absorbans. Läs på kalibreringskurvan av den bariumkoncentration som motsvarar provlösningens absorbansvärde.

6. *Beräkning*

Halten lösligt barium (% viktprocent) i pigmentet erhålls med formeln

$$\%\ \text{(victprocent) lösligt barium} = \frac{c \times V}{10 W_{Ba} \times m}$$

där:

m = analysprovets massa i gram (5.1.1)

c = provlösningens (5.1.5) bariumkoncentration i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

V = extraktets totala volym i milliliter (5.1.2), och

W_{Ba} = extraktets volym i millilter, uppmätt i 5.1.5

7. *Repeterbarhet*

Bästa tillgängliga uppskattning av repeterbarheten (ISO 5725) för denna metod är 0,3 % vid en halt lösligt barium av 2 % (viktprocent).

8. *Anmärkningar*

8.1 Under vissa förhållanden kan bariumabsorbansen höjas på grund av förekomst av kalcium. Detta kan motverkas genom att tillsätta magnesiumjon i en koncentration av 5 g per liter(1).

8.2 Användning av ICP-OEC medges som alternativ till atomabsorptionsspektrometri.

B. **Bestämning av lösligt strontium**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser extraktion och bestämning av lösligt strontium i pigment i salt- eller substratpigmentform.

2. *Princip*

Pigmentet extraheras med 0,07 M saltsyralösning under föreskrivna förhållanden och mängden strontium i extraktet bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Etanol, absolut

3.2 Saltsyralösning, 0,07 M

3.3 Kaliumkloridlösning, 8 % (vikt:volym): lös 16 g kaliumklorid i 200 ml 0,07 M saltsyralösning (3.2).

(1) M. Jerrow *et al.*: "Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry", *Analytical Proceedings*, 1991, 28, 40.

3.4 Standardstrontiumlösningar

3.4.1 Stamstandardstrontiumlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyralösning ("SpectrosoL" eller likvärdigt)

3.4.2 Standardstrontiumlösning, 100 µg/ml: pipettera 10,0 ml av stamstandardstrontiumlösningen (3.4.1) till en 100 ml mätkolv. Fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Membranfilter med 0,45 µm porstorlek

4.3 Atomabsorptionsspektrofotometer med hålkatodlampa för strontium

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

En lösning beredd enligt A 5.1.4 används för att bestämma halten lösligt strontium.

5.1.1 Pipettera till en 100 ml mätkolv 5,0 ml kaliumkloridlösning (3.3) och en provvolym (W_{Sr} ml) av det utspädda filtratet (A 5.1.4) så att den förväntade koncentrationen blir 2 – 5 µg strontium per milliliter (25 ml bör vara en lämplig utgångsvolym). Fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

5.1.2 Bestäm samma dag lösningens (5.1.1) strontiumkoncentration genom atomabsorptionsspektrometri.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri

Låga: lustgas-acetylen

Våglängd: 460,7 nm

Bakgrundskorrektion: nej

Bränsletillförsel: mager; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel

5.3 Kalibrering

5.3.1 Överför med pipett till en serie 100 ml mätkolvar 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 och 5,0 ml standardstrontiumlösning (3.4.2). Tillsätt med pipett 5,0 ml kaliumkloridlösning (3.3) till varje kolv, fyll på 0,07 M saltsyralösning (3.2) till volym och blanda. Lösningarna innehåller 1,0, 2,0, 4,0 respektive 5,0 µg strontium per milliliter.

Bered en blanklösning på samma sätt men med uteslutande av standardstrontiumlösningen.

5.3.2 Mät blanklösningens absorbans och använd det erhållna värdet för strontiumkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardstrontiumlösning (5.3.1). Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till strontiumkoncentrationen.

5.4 Bestämning

Mät provlösningens (5.1.1) absorbansvärde. Läs på kalibreringskurvan av den strontiumkoncentration som motsvarar provlösningens absorbansvärde.

6. *Beräkning*

Halten lösligt strontium (% viktprocent) i pigmentet erhålls med formeln

$$\% \text{ (viktprocent) lösöigt strontium} = \frac{c \times V}{10 W_{Sr} \times m}$$

där:

m = analysprovets (A 5.1.1) massa i gram

c = provlösningens (5.1.1) strontiumkoncentration i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

V = extraktets totala volym i milliliter (5.1.2), och

W_{Sr} = extraktets volym i millilter, uppmätt i 5.1.1

7. *Repeterbarhet*

Bästa tillgängliga uppskattning av repeterbarheten (ISO 5725) för denna metod är 0,09 % vid en halt lösligt strontium av 0,6 % (viktprocent).

8. *Anmärkning*

Användning av ICP-OEC medges som alternativ till atomabsorptionsspektrometri.

IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV BENSYLALKOHOL I KOSMETISKA PRODUKTER

A. Identifiering

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser identifiering av bensylalkohol i kosmetiska produkter.

2. *Princip*

Bensylalkoholen identifieras genom tunnskiktskromatografi på kiselgelplattor.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Bensylalkohol

3.2 Kloroform

3.3 Etanol, absolut

3.4 n-Pentan

3.5 Framkallningslösning: dietyleter

3.6 Standardbensylalkohollösning: väg upp 0,1 g bensylalkohol (3.1) i en 100 ml mätkolv, fyll på till volym med etanol (3.3) och blanda.

3.7 Tunnskiktskromatografiplattor av glas, 100 × 200 eller 200 × 200 mm, täckta med ett 0,25 mm skikt kiselgel 60 F_{254}

3.8 Sprayreagens: 12-molybdenfosforsyra, 10 % (vikt:volym) i etanol (3.3)

4. *Utrustning*

4.1 Normal utrustning för tunnskiktskromatografi

4.2 Kromatografivanna med dubbla tråg och yttre dimensioner på cirka 80 × 230 × 240 mm

4.3 Kromatografipapper: Whatman eller likvärdigt

4.4 UV-lampa med våglängd 254 nm

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

Väg upp 1,0 g av den produkt som skall analyseras i en 10 ml mätkolv. Tillsätt 3 ml kloroform (3.2) och skaka om kraftigt tills produkten har lösts upp. Fyll på etanol (3.3) till volym och skaka om kraftigt tills lösningen är klar eller nästan klar.

5.2 Tunnskiktskromatografi

5.2.1 Mätta kromatografivannan (4.2) med n-pentan (3.4) på följande sätt: täck väggen på det bakre tråget helt med kromatografipapper (4.3) och se till att papperets nederkant befinner sig i tråget. Överför 25 ml n-pentan (3.4) till det bakre tråget genom att hälla detta lösningsmedel över den exponerade ytan av det täckande kromatografipapperet. Sätt omedelbart på locket igen och låt vannan stå i 15 minuter.

5.2.2 Anbringa 10 µl provlösning (5.1) och 10 µl standardbensylalkohollösning (3.6) på lämpliga platser på utgångslinjen på en tunnskiktsplatta (3.7). Låt torka.

5.2.3 Pipettera 10 ml dietyleter (3.5) till det främre tråget i vannan och placera omedelbart därefter plattan (5.2.2) i samma tråg. Sätt snabbt på locket till vannan igen och framkalla plattan över 150 mm. Ta upp plattan ur kromatografivannan och låt den torka vid rumstemperatur.

5.2.4 Granska plattan (5.2.3) i UV-belysning och markera de violetta fläckarnas placering. Spraya plattan med sprayreagens (3.8) och upphetta den därefter vid 120 °C under cirka 15 minuter. Bensylalkoholen framträder som en mörkblå fläck.

5.2.5 Beräkna standardbensylalkoholens R_f-värde. En mörkblå fläck med samma R_f-värde som bildats av provlösningen indikerar förekomst av bensylalkohol.

Detektionsgräns: 0,1 µg bensylalkohol.

B. **Bestämning**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser bestämning av bensylalkohol i kosmetiska produkter.

2. *Definition*

Den mängd bensylalkohol som bestäms genom denna metod uttrycks i viktprocent (% viktprocent).

3. *Princip*

Provet extraheras med metanol och mängden bensylalkohol bestäms genom HPLC.

4. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena och i tillämpliga delar lämpliga för HPLC.

4.1 Metanol

4.2 4-Etoxifenol

4.3 Bensylalkohol

4.4 Mobil fas: metanol (4.1)/vatten (45:55, volym:volym)

4.5 Stamstandardbensylalkohollösning: väg noggrant upp cirka 0,1 g bensylalkohol (4.3) i en 100 ml mätkolv. Fyll på metanol (4.1) till volym och blanda.

4.6 Intern stamstandardlösning: väg noggrant upp cirka 0,1 g 4-etoxifenol (4.2) i en 100 ml mätkolv. Fyll på metanol (4.1) till volym och blanda.

4.7 Standardlösningar: pipettera till en serie 25 ml mätkolvar stambensylalkohollösning (4.5) och intern stamstandardlösning (4.6) i de mängder som anges i nedanstående tabell. Fyll på metanol (4.1) till volym och blanda.

Standardlösning	Bensylalkoholkoncentration		4-etoxifenolkoncentration	
	(4.5) tillsatt i ml	µg/ml(*)	(4.6) tillsatt i ml	µg/ml(*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Dessa värden ges i indikativt syfte och motsvarar koncentrationerna i standardlösningar som beretts av bensylalkohol- och 4-etoxifenollösningar (4.5, 4.6) som innehåller exakt 0,1% (vikt:volym) bensylalkohol repektive 0,1 % (vikt:vikt) 4-etoxifenol.

5. *Utrustning*

5.1 Normal laboratorieutrustning

5.2 Utrustning för vätskekromatografi med UV-detektor med varierbar våglängd och 10 µl injektionsvolym.

5.3 Analyskolonn: 250 × 4,6 mm kolonn av rostrfritt stål packad med 5 µm Spherisorb ODS eller motsvarande.

5.4 Vattenbad

5.5 Ultraljudsbad

5.6 Centrifug

5.7 Centrifugrör med 15 ml volym

6. *Utförande*

6.1 Provberedning

6.1.1 Väg noggrant upp 0,1 g (m gram) av provet i ett centrifugrör (5.7) och tillsätt 5 ml metanol (4.1).

6.1.2 Värm röret i 10 minuter i vattenbad (5.4) vid en konstant temperatur av 50 °C och placera det därefter i ultraljudsbad (5.5), tills provet har lösts upp helt.

6.1.3 Kyl och centrifugera därefter i fem minuter vid 3 500 rpm.

6.1.4 Överför supernatanten till en 25 ml mätkolv.

6.1.5 Extrahera provet på nytt med ytterligare 5 ml metanol (4.1). Samla extrakten i en 25 ml mätkolven.

6.1.6 Pipettera 2,0 ml intern stamstandardlösning (4.6) till mätkolven (25 ml) (6.1.5). Fyll på metanol (4.1) till volym och blanda. Denna lösning används i bestämningsskedet av analysen, som beskrivs i punkt 6.4.

6.2 Kromatografi

6.2.1 Montera utrustningen för vätskekromatografi (5.2) på vanligt sätt. Justera den mobila fasens (4.4) flödeshastighet till 2,0 ml per minut.

6.2.2 Ställ in UV-detektorns (5.2) våglängd på 210 nm.

6.3 Kalibrering

6.3.1 Injicera 10 µl av varje standardbensylalkohollösning (4.7) och mät arean av bensylalkohol- och 4-etoxifenoltopparna.

6.3.2 Beräkna förhållandet mellan bensylalkoholens och 4-etoxifenolens topparea för varje standardbensylalkohollösning (4.7). Rita en kalibreringskurva med dessa förhållanden längs y-axeln och motsvarande bensylalkoholkoncentrationer i µg per milliliter som koordinater längs x-axeln.

6.4 Bestämning

6.4.1 Injicera 10 µl av provlösningen (6.1.6) och mät arean av bensylalkohol- och 4-etoxifenoltopparna. Beräkna förhållandet mellan bensylalkoholens och 4-etoxifenolens topparea. Upprepa detta förfarande med ytterligare injektioner på 10 µl av provlösningen, tills överensstämmande resultat erhålls.

6.4.2 Läs på kalibreringskurvan (6.3.2) av vilken bensylalkoholkoncentration som motsvarar förhållandet mellan bensylalkoholens och 4-etoxifenolens topparea.

7. *Beräkning*

Beräkna provets bensylalkoholhalt i procent med formeln:

$$\% \text{ (viktprocent) bensylalkohol} = \frac{c}{400 \times m}$$

där:

m = analysprovets (6.1.1) massa i gram, och

c = bensylalkoholkoncentrationen i provlösningen (6.1.6) i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

8. *Repeterbarhet*(1)

Vid en bensylalkoholhalt på 1 % (viktprocent) får skillnaden mellan två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,10 %.

(1) ISO 5725.

IDENTIFIERING AV ZIRKONIUM OCH BESTÄMNING AV ZIRKONIUM, ALUMINIUM OCH KLOR I ANTIPERSPIRANTER SOM INTE ÄR FÖRPACKADE I AEROSOLBEHÅLLARE

Denna metod består av fem steg:

A. Identifiering av zirkonium.

B. Bestämning av zirkonium.

C. Bestämning av aluminium.

D. Bestämning av klor.

E. Beräkning av förhållandena mellan aluminium- och zirkoniumatomer samt mellan aluminium- plus zirkoniumatomer och kloratomer.

A. **Identifiering av zirkonium**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser identifiering av zirkonium i antiperspirantprodukter som inte är förpackade i aerosolbehållare. Inget försök har gjorts att beskriva metoder som är lämpliga för identifiering av aluminiumzirkoniumkloridhydroxidkomplex $[Al_xZr(OH)_yCl_z.nH_2O]$.

2. *Princip*

Zirkonium identifieras genom den karakteristiska rödvioletta fällning som bildas tillsammans med alizarin red S i starkt sur miljö.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Saltsyra, koncentrerad (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2 Alizarin red S (CI 58005)-lösning: 2 % (vikt:volym) vattenlösning av natriumalizarinsulfonat

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

5. *Utförande*

5.1 Tillsätt 2 ml vatten till cirka 1 g av provet i ett provrör. Tillslut och skaka om.

5.2 Tillsätt tre droppar alizarin red S-lösning (3.2) och därefter 2 ml koncentrerad saltsyra (3.1). Tillslut och skaka om.

5.3 Låt stå i cirka två minuter.

5.4 Rödviolettfärgad supernatant och fällning indikerar förekomst av zirkonium.

B. **Bestämning av zirkonium**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod är lämplig för bestämning av zirkonium i aluminiumzirkoniumkloridhydroxidkomplex i en koncentration av maximalt 7,5 % (viktprocent) zirkonium i antiperspiranter som inte är förpackade i aerosolbehållare.

2. *Princip*

Zirkonium extraheras från produkten i sur miljö och bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Saltsyra, koncentrerad (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2 Saltsyralösning, 10 % (volymprocent): tillsätt 100 ml koncentrerad saltsyra (3.1) till 500 ml vatten i en bägare under kontinuerlig omrörning. Överför denna lösning till en enliters mätkolv och fyll på vatten till volym.

3.3 Stamstandardzirkoniumlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M saltsyralösning ("SpectrosoL" eller likvärdigt).

3.4 Aluminiumklorid[$AlCl_3.6H_2O$]-reagens: lös upp 22,6 g aluminiumkloridhexahydrat i 250 ml 10 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2).

3.5 Ammoniumkloridreagens: lös upp 5,0 g ammoniumklorid i 250 ml 10 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2).

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Värmeplatta med magnetomrörare

4.3 Filtrerpapper (Whatman nr 41 eller likvärdigt)

4.4 Atomabsorptionsspektrofotometer med hålkatodlampa för zirkonium

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

5.1.1 Väg noggrant upp cirka 1,0 g (m gram) homogent prov av produkten i en 150 ml bägare. Tillsätt 40 ml vatten och 10 ml koncentrerad saltsyra (3.1).

5.1.2 Placera bägaren på en värmeplatta med magnetomrörare (4.2). Börja omrörningen och upphetta till kokpunkten. Lägg klockglas över bägaren för att förhindra att innehållet torkar för snabbt. Koka under fem minuter, ta bägaren av värmen och kyl till rumstemperatur.

5.1.3 Filtrera innehållet i bägaren med filtrerpapperet (4.3) till en 100 ml mätkolv. Skölj bägaren med två gånger 10 ml vatten och tillsätt sköljvattnet efter filtrering till kolven. Fyll på vatten till volym och blanda. Denna lösning används även för bestämning av aluminium (del C).

5.1.4 Pipettera 20,00 ml provlösning (5.1.3), 5,00 ml aluminiumkloridreagens (3.4) och 5,00 ml ammoniumkloridreagens (3.5) till en 50 ml mätkolv. Fyll på 10 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri

Låga: lustgas-acetylen

Våglängd: 360,1 nm

Bakgrundskorrektion: nej

Bränsletillförsel: fet; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel

5.3 Kalibrering

5.3.1 Överför med pipett till en serie 50 ml mätkolvar 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 och 25,00 ml stamstandardzirkoniumlösning (3.3). Tillsätt med pipett 5,00 ml aluminiumkloridreagens (3.4) och 5,00 ml ammoniumkloridreagens (3.5) till varje mätkolv. Fyll på 10 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2) till volym och blanda. Lösningarna innehåller 100, 200, 300, 400 respektive 500 µg zirkonium per milliliter.

Bered en blanklösning på samma sätt men med uteslutande av standardzirkoniumlösningen.

5.3.2 Mät blanklösningens (5.3.1) absorbans och använd det erhållna värdet för zirkoniumkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardzirkoniumlösning (5.3.1). Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till zirkoniumkoncentrationen.

5.4 Bestämning

Mät provlösningens (5.1.4) absorbans. Läs på kalibreringskurvan av den zirkoniumkoncentration som motsvarar det absorbansvärde som erhållits för provlösningen.

6. *Beräkning*

Beräkna zirkoniumhalten i provet i viktprocent med formeln

$$\% \text{ (viktprocent) zirkonium} = \frac{c}{40 \times m}$$

där:

m = analysprovets (5.1.1) massa i gram, och

c = zirkoniumkoncentrationen i provlösningen (5.1.4) i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

7. *Repeterbarhet*[1]

Vid en zirkoniumhalt av 3,00 % (viktprocent) får resultaten av två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,10 % (viktprocent).

8. *Anmärkning*

Användning av ICP-OEC medges som alternativ till atomabsorptionsspektrometri.

C. **Bestämning av aluminium**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod är lämplig för bestämning av aluminium i aluminiumzirkoniumkloridhydroxidkomplex i en koncentration av maximalt 12 % (viktprocent) aluminium i antiperspiranter som inte är förpackade i aerosolbehållare.

2. *Princip*

Aluminiet extraheras från produkten i sur miljö och bestäms genom atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Saltsyra, koncentrerad (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2 Saltsyralösning, 1 % (volymprocent): tillsätt 10 ml koncentrerad saltsyra (3.1) till 500 ml vatten i en bägare under kontinuerlig omrörning. Överför denna lösning till en enliters mätkolv och fyll på vatten till volym.

3.3 Stamstandardaluminiumlösning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyralösning ("SpectrosoL" eller likvärdigt)

3.4 Kaliumkloridreagens: lös upp 10,0 g kaliumklorid i 250 ml 1 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2).

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Atomabsorptionsspektrofotometer med hålkatodlampa för aluminium

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

En lösning beredd enligt punkt B.5.1.3 används för att bestämma aluminiumhalten.

5.1.1 Pipettera 5,00 ml provlösning (B.5.1.3) och 10,00 ml kaliumkloridreagens (3.4) till en 100 ml mätkolv. Fyll på 1 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2) till volym och blanda.

5.2 Inställningar, atomabsorptionsspektrometri

Låga: lustgas-acetylen

Våglängd: 309,3 nm

Bakgrundskorrektion: nej

Bränsletillförsel: fet; för maximal absorbans krävs optimering av brännarhöjd och bränsletillförsel

5.3 Kalibrering

5.3.1 Överför med pipett till en serie 100 ml mätkolvar 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 och 5,00 ml stamstandardaluminiumlösning (3.3). Tillsätt med pipett 10,00 ml kaliumkloridreagens (3.4) till varje mätkolv, fyll på 1 % (volymprocent) saltsyralösning (3.2) till volym och blanda. Lösningarna innehåller 10, 20, 30, 40 respektive 50 µg aluminium per milliliter.

Bered en blanklösning på samma sätt men med uteslutande av standardaluminiumlösningen.

(1) ISO 5725.

5.3.2 Mät blanklösningens (5.3.1) absorbans och använd det erhållna värdet för aluminiumkoncentrationen noll i kalibreringskurvan. Mät absorbansen hos varje kalibreringsstandardaluminiumlösning. Rita kalibreringskurvan med absorbansvärden i relation till aluminiumkoncentrationen.

5.4 B e s t ä m n i n g

Mät provlösningens (5.1.1) absorbans. Läs på kalibreringskurvan av den aluminiumkoncentration som motsvarar det absorbansvärde som erhållits för provlösningen.

6. *Beräkning*

Beräkna aluminiumhalten i provet i viktprocent med formeln

$$\% \text{ (viktprocent) aluminium} = \frac{c}{5 \times m}$$

där:

m = analysprovets (B 5.1.1) massa i gram, och

c = aluminiumkoncentrationen i provlösningen (5.1.1) i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

7. *Repeterbarhet*[1]

Vid en aluminiumhalt av 3,5 % (viktprocent) får resultaten av två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,10 % (viktprocent).

8. *Anmärkning*

Användning av ICP-OEC medges som alternativ till atomabsorptionsspektrometri.

D. **Bestämning av klor**

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod är lämplig för bestämning av klor som kloridjon i aluminiumzirkoniumkloridhydroxidkomplex i antiperspiranter som inte är förpackade i aerosolbehållare.

2. *Princip*

Kloridjon i produkten bestäms genom potentiometrisk titrering mot standardsilvernitratlösning.

3. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

3.1 Salpetersyra, koncentrerad (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2 Salpetersyralösning, 5 % (volymprocent): tillsätt 25 ml koncentrerad saltsyra (3.1) till 250 ml vatten i en bägare under kontinuerlig omrörning. Överför denna lösning till en 500 ml mätkolv och fyll på vatten till volym.

3.3 Aceton

3.4 Silvernitrat, 0,1 M volumetrisk lösning ("AnalaR" eller likvärdigt)

4. *Utrustning*

4.1 Normal laboratorieutrustning

4.2 Värmeplatta med magnetomrörare

4.3 Silverelektrod

4.4 Kalomelreferenselektrod

4.5 pH/millivoltmätare, lämplig för potentiometrisk titrering

(1) ISO 5725.

5. *Utförande*

5.1 Provberedning

5.1.1 Väg noggrant upp cirka 1,0 g (m gram) homogent prov av produkten i en 250 ml bägare. Tillsätt 80 ml vatten och 20 ml 5 % (volymprocent) salpetersyralösning (3.2).

5.1.2 Placera bägaren på en värmeplatta med magnetomrörare (4.2). Börja omrörningen och upphetta till kokpunkten. Lägg klockglas över bägaren för att förhindra att innehållet torkar för snabbt. Koka under fem minuter, ta bägaren av värmen och kyl till rumstemperatur.

5.1.3 Tillsätt 10 ml aceton (3.3), sänk ned elektroderna (4.3 och 4.4) under ytan på lösningen och börja röra om. Titrera potentiometriskt mot 0,1 M silvernitratlösning (3.4) och rita en differentialkurva för att fastställa slutpunkten (V ml).

6. *Beräkning*

Beräkna klorhalten i provet i viktprocent med formeln

$$\% \text{ (viktprocent) klor} = \frac{0{,}3545 \times V}{m}$$

där:

m = analysprovets (5.1.1) massa i gram, och

V = volymen 0,1 M silvernitrat i milliliter titrerad vid slutpunkten

7. *Repeterbarhet*(1)1

Vid en klorhalt av 4 % (viktprocent) får resultaten av två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,10 % (viktprocent).

E. Beräkning av förhållandena aluminiumatomer/zirkoniumatomer och aluminium- plus zirkoniumatomer/kloratomer

1. *Beräkning av förhållandet aluminiumatomer/zirkoniumatomer*

Beräkna förhållandet Al : Zr med formeln

$$\text{förhållande Al : Zr} = \frac{\text{Al \% (viktprocent)} \times 91{,}22}{\text{Zr \% (viktprocent)} \times 26{,}98}$$

2. *Beräkning av förhållandet aluminium- plus zirkoniumatomer/kloratomer*

Beräkna förhållandet (Al + Zr) : Cl med formeln

$$\text{förhållende (Al + Zr) : Cl} = \frac{\frac{\text{Al\% (viktprocent)}}{26{,}98} + \frac{\text{Zr\% (viktprocent)}}{91{,}22}}{\frac{\text{Cl\% (viktprocent)}}{35{,}45}}$$

IDENTIFIERING OCH BESTÄMNING AV HEXAMIDIN, DIBROMHEXAMIDIN, DIBROMPROPAMIDIN OCH KLORHEXIDIN

1. *Räckvidd och användningsområde*

Denna metod avser kvalitativ och kvantitativ bestämning av

— hexamidin och dess salter, inklusive isetionat och 4-hydroxibensoat,

— dibromhexamidin och dess salter, inklusive isetionat,

— dibrompropamidin och dess salter, inklusive isetionat,

— klorhexidindiacetat, -diglukonat och -dihydroklorid i kosmetiska produkter.

2. *Definition*

De koncentrationer av hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin som bestäms genom denna metod uttrycks i viktprocent (% viktprocent).

3. *Princip*

Identifieringen och bestämningen utförs genom jonparskromatografi (HPLC), som följs av spektrometrisk UV-detektion. Hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin och klorhexidin identifieras genom sina retentionstider på kromatografikolonnen.

(1) ISO 5725.

4. *Reagens*

Alla reagens måste vara analytiskt rena.

4.1 Metanol

4.2 1-Heptansulfonsyra, natriumsalt, monohydrat

4.3 Isättiksyra (d_{20} = 1,05 g/ml)

4.4 Natriumklorid

4.5 Mobila faser

4.5.1 Lösning I: 0,005 M lösning av 1-heptansulfonsyra, natriumsalt, monohydrat (4.2) i metanol justerad med isättiksyra (4.3) till ett skenbart pH-värde motsvarande 3,5.

4.5.2 Lösningsmedel II: 0,005 M lösning av 1-heptansulfonsyra, natriumsalt, monohydrat (4.2) i vatten justerad med isättiksyra (4.3) till pH-värdet 3,5.

Anmärkning: Om detta är nödvändigt för att förbättra formen på topparna, kan de mobila faserna modifieras och beredas på följande sätt:

— Lösning I: lös upp 5,84 g natriumklorid (4.4) och 1,1013 g 1-heptansulfonsyra, natriumsalt, monohydrat (4.2) i 100 ml vatten. Tillsätt 900 ml metanol (4.1) och justera med isättiksyra till ett pH-värde motsvarande 3,5.

— Lösningsmedel II: lös upp 5,84 g natriumklorid (4.4) och 1,1013 g 1-heptansulfonsyra, natriumsalt, monohydrat (4.2) i en liter vatten och justera med isättiksyra (4.3) till pH-värdet 3,5.

4.6 Hexamidindiisetionat [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.7 Dibromhexamidindiisetionat [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.8 Dibrompropamidindiisetionat [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.9 Klorhexidindiacetat [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]

4.10 Referenslösningar: bered 0,05-procentiga (vikt:volym) lösningar av vart och ett av de fyra konserveringsmedlen (4.6–9) i lösning I (4.5.1).

4.11 3,4,4'-Triklorkarbanilid (triklokarban)

4.12 4,4'-Diklor-3-(trifluormetyl)karbanilid (halokarban)

5. *Utrustning*

5.1 Normal laboratorieutrustning

5.2 Vätskekromatograf med UV-detektor med varierbar våglängd

5.3 Analyskolonn: rostfritt stål, längd 30 cm, inre diameter 4 mm, packad med μ-Bondapack C_{18}, 10 μm, eller likvärdigt

5.4 Ultraljudsbad

6. *Identifiering*

6.1 Provberedning

Väg upp cirka 0,5 g av provet i en 10 ml mätkolv och fyll på lösning I (4.5.1) till volym. Placera kolven i ultraljudsbad (5.4) under 10 minuter. Filtrera eller centrifugera lösningen. Ta vara på filtratet eller supernatanten för kromotografisk bestämning.

6.2 Kromatografi

6.2.1 Gradient för den mobila fasen

Tid (min)	Lösning I (% volymprocent) (4.5.1)	Lösning II (% volymprocent) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2 Justera den mobila fasens (6.2.1) flödeshastighet till 1,5 ml/min och kolonntemperaturen på 35 °C.

6.2.3 Ställ in detektorns våglängd på 264 nm.

6.2.4 Injicera 10 µl av var och en av referenslösningarna (4.10) och registrera kromatogrammen.

6.2.5 Injicera 10 µl av provlösningen (6.1) och registrera kromatogrammet.

6.3 Identifiera förekomst av hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller klorhexidin genom att jämföra retentionstid(er) för den eller de toppar som registrerats i 6.2.5 med vad som registrerats för referenslösningarna i 6.2.4.

7. *Bestämning*

7.1 Beredning av standardlösningarna

Använd ett av de konserveringsmedel (4.6–9) som saknas i provet som intern standard. Om detta inte är möjligt kan triklokarban (4.11) eller halokarban (4.12) användas.

7.1.1 0,05-procentig (vikt:volym) stamlösning i lösningsmedel I (4.5.1) av det konserveringsmedel som identifierats i 6.3.

7.1.2 0,05-procentig (vikt:volym) stamlösning i lösningsmedel I (4.5.1) av det konserveringsmedel som valts som intern standard.

7.1.3 Bered, för varje identifierat konserveringsmedel, fyra standardlösningar genom att till en serie 10 ml mätkolvar överföra kvantiteter av stamlösningen av det identifierade konserveringsmedlet (7.1.1) och lämpliga mängder av stamlösningen av den interna standarden (7.1.2) enligt nedanstående tabell. Fyll på lösningsmedel I (4.5.1) till volym i varje kolv och blanda.

Standard-lösning	Stamlösning av intern standard	Stamlösning av identifierat konserveringsmedel	
	tillsats (7.1.2) i ml	tillsats (7.1.1) i ml	µg/ml(*)
I	1,0	0,5	25
II	1,0	1,0	50
III	1,0	1,5	75
IV	1,0	2,0	100

(*) Dessa värden ges i indikativt syfte och motsvarar koncentrationerna av det identifierade konserveringsmedlet i standardlösningar som beretts med en stamlösning som innehåller exakt 0,05 % av det identifierade konserveringsmedlet.

7.2 Provberedning

7.2.1 Väg noggrant upp cirka 0,5 g (p gram) av provet i en 10 ml mätkolv, tillsätt 1,0 ml intern standardlösning (7.1.2) och 6 ml lösning I (4.5.1) och blanda.

7.2.2 Placera kolven i ultraljudsbad (5.4) under 10 minuter. Kyl. Fyll på lösning I till volym och blanda. Centrifugera eller filtrera genom veckat filtrerpapper. Ta vara på supernatanten respektive filtratet för den kromatografiska bestämningen.

7.3 Kromatografi

7.3.1 Ställ in gradient för mobil fas, flödeshastighet, kolonntemperatur och detektorvåglängd på HPLC-utrustningen enligt vad som föreskrivs för identifieringsstadiet (6.2.1–3).

7.3.2 Injicera 10 µl provlösning (7.2.2) och mät toppareorna. Upprepa detta förfarande med ytterligare 10 µl-injektioner av provlösningen, tills överensstämmande resultat erhålls. Beräkna förhållandet mellan den topparea som erhålls av föreningen och den som erhålls av den interna standarden.

7.4 Kalibrering

7.4.1 Injicera 10 µl av varje standardlösning (7.1.3) och mät toppområdena.

7.4.2 Beräkna för varje standardlösning (7.1.3) förhållandet mellan topparean för hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller klorhexidin och topparean för den interna standarden. Rita en kalibreringskurva med dessa förhållanden längs y-axeln och motsvarande koncentrationer av det identifierade konserveringsmedlet i standardlösningarna längs x-axeln.

7.4.3 Läs på kalibreringskurvan (7.4.2) av den koncentration av det identifierade konserveringsmedlet som motsvarar det förhållande mellan toppareorna som beräknats i 7.3.2.

8. *Beräkning*

8.1 Beräkna halten i viktprocent av hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller klorhexidin i provet med formeln

$$\% \text{ (viktprocent)} = \frac{c}{1\,000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

där:

p = analysprovets (7.2.1) massa i gram

c = koncentrationen av konserveringsmedlet i provlösningen i mikrogram per milliliter enligt kalibreringskurvan

MW_1 = molekylvikten för grundformen av det förekommande konserveringsmedlet, och

MW_2 = molekylvikten för motsvarande salt (se punkt 10)

9. *Repeterbarhet(1)*

Vid en hexamidin-, dibromhexamidin-, dibrompropamidin- eller klorhexidinkoncentration av 0,1 % (viktprocent) får skillnaden mellan resultaten av två parallella bestämningar på samma prov inte överstiga 0,005 %.

10. *Formelviktstabell*

Hexamidin	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Hexamidindiisetionat	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Hexamidin-di-p-hydroxibensoat	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromhexamidin	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Dibromhexamidindiisetionat	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibrompropamidin	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Dibrompropamidindiisetionat	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Klorhexidin	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Klorhexidindiacetat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Klorhexidindiglukonat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Klorhexidindihydroklorid	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725.