II

(Retsakter hvis offentliggørelse ikke er obligatorisk)

KOMMISSIONEN

KOMMISSIONENS FEMTE DIREKTIV 93/73/EØF

af 9. september 1993

om analysemetoderne for kontrol af kosmetiske midlers sammensætning

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til Traktaten om Oprettelse af Det Europæiske Økonomiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 76/768/EØF af 27. juli 1976 om indbyrdes tilnærmelse af medlemsstaternes lovgivning om kosmetiske midler (1), senest ændret ved direktiv 93/35/EØF (2), særlig artikel 8, stk. 1, og

ud fra følgende betragtninger:

I direktiv 76/768/EØF foreskrives en officiel kontrol af kosmetiske midler til konstatering af, om de i fællesskabsbestemmelserne fastsatte betingelser vedrørende sammensætningen af kosmetiske midler overholdes;

de nødvendige analysemetoder bør fastlægges hurtigst muligt, og for at nå dette mål har Kommissionen i fire etaper vedtaget henholdsvis direktiv 80/1335/EØF (3), ændret ved direktiv 87/143/EØF (4), Kommissionens direktiv 82/434/EØF (5), ændret ved direktiv 90/207/EØF (6), direktiv 83/514/EØF (7) og 85/490/EØF (8) fastlagt en række metoder;

identifikation og bestemmelse af sølvnitrat, identifikation og bestemmelse af selendisulfid i skælbekæmpelsesshampoos, bestemmelse af opløseligt barium og strontium i farvestoffer i form af salte eller lakker, identifikation og bestemmelse af benzylalkohol, identifikation af zirconium og bestemmelse af zirconium, aluminium og klor i non-aerosol antiperspiranter og identifikation og kvantitativ bestemmelse af hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin og chlorhexidin i kosmetiske midler, udgør femte etape;

de i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Udvalget for tilpasning af direktiv 76/768/EØF til de tekniske fremskridt —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

I forbindelse med den officielle kontrol af kosmetiske midler træffer medlemsstaterne de fornødne foranstaltninger for at sikre, at:

— identifikation og bestemmelse af sølvnitrat

— identifikation og bestemmelse af selendisulfid i skælbekæmpelsesshampoos

— bestemmelse af opløseligt barium og strontium i farvestoffer i form af salte eller lakker

— identifikation og bestemmelse af benzylalkohol

— identifikation af zirconium og bestemmelse af zirconium, aluminium og klor i non-aerosol antiperspiranter

— identifikation og kvantitativ bestemmelse af hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin og chlorhexidin

foretages efter de metoder, der er beskrevet i bilaget.

(1) EFT nr. L 262 af 27. 9. 1976, s. 169.
(2) EFT nr. L 151 af 23. 6. 1993, s. 32.
(3) EFT nr. L 383 af 31. 12. 1980, s. 27.
(4) EFT nr. L 57 af 27. 2. 1987, s. 56.
(5) EFT nr. L 185 af 30. 6. 1982, s. 1.
(6) EFT nr. L 108 af 28. 4. 1990, s. 92.
(7) EFT nr. L 291 af 24. 10. 1983, s. 9.
(8) EFT nr. L 295 af 7. 11. 1985, s. 30.

Artikel 2

1. Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme dette direktiv senest den 30. september 1994. De underretter straks Kommissionen herom.

Når medlemsstaterne vedtager disse bestemmelser, skal de indeholde en henvisning til dette direktiv, eller de skal ved offentliggørelsen ledsages af en sådan henvisning. De nærmere regler for denne henvisning fastsættes af medlemsstaterne.

2. Medlemsstaterne meddeler Kommissionen teksten til de nationale retsforskrifter, som de udsteder på det område, der er omfattet af dette direktiv.

Artikel 3

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

Udfærdiget i Bruxelles, den 9. september 1993.

På Kommissionens vegne

Christiane SCRIVENER

Medlem af Kommissionen

BILAG

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF SØLVNITRAT

A. Identifikation

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode anvendes til identifikation af sølvnitrat som i sølvvandige kosmetiske produkter.

2. *Princip*

Sølv identificeres ved det karakteristiske hvide bundfald, som dannes med chloridioner.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Saltsyre, 2 M

3.2. Ammoniakopløsning: koncentreret ammoniakopløsning (d_{20} = 0,88 g/ml) fortyndes med lige mængde vand og blandes

3.3. Salpetersyre 2 M.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Centrifuge.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Til ca. 1 g prøve i et centrifugeglas tilsættes dråbevis saltsyre (3.1), indtil bundfældningen er fuldstændig. Der blandes og centrifugeres.

5.2. Væsken over bundfaldet fjernes, og bundfaldet skylles en gang med 5 dråber koldt vand. Skyllevandet bortkastes.

5.3. Der tilsættes vand i samme rumfang som bundfaldet i røret, opvarmes til det koger og blandes derefter.

5.4. Der centrifugeres varmt, og supernatanten fjernes.

5.5. Det bundfaldet tilsættes nogle få dråber ammoniakopløsning (3.2), der blandes og centrifugeres.

5.6. Til en dråbe af supernatanten anbragt på en glasplade tilsættes nogle få dråber af 2 M salpetersyre (3.3).

5.7. Et hvidt bundfald viser tilstedeværelsen af sølv.

B. Bestemmelse

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode egner sig til bestemmelse af sølvnitrat som sølv i kosmetiske produkter til farvning af øjenvipper eller øjenbryn.

2. *Princip*

Sølv i det kosmetiske produkt bestemmes ved atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Salpetersyreopløsning, 0,02 M

3.2. Sølv-standardopløsninger

3.2.1. Stamopløsning af sølv-standard, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyreopløsning (»SpectrosoL« eller tilsvarende)

3.2.2. Sølv-standaropløsning, 100 µg/ml : 10,0 ml stamopløsning af sølv-standard (3.2.1) overføres med pipette til en 100 ml målekolbe. Der fyldes op til mærket med 0,02 M salpetersyreopløsning (3.1) og blandes. Denne standardopløsning bør være frisklavet og opbevares i en mørk glasflaske.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Atomabsorptionsspektrofotometer udstyret med sølvhulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøveforberedelse

Ca. 0,1 g (m gram) homogen prøve af et produkt afvejes nøjagtigt, overføres kvantitativt til en 1 000 ml målekolbe, og der fyldes op til mærket med 0,02 M salpetersyreopløsning (3.1) og blandes.

5.2. Betingelser for atomabsorptionsspektrometri

Flamme : luft-acetylen

Bølgelængde : 338,3 nm

Baggrundskorrektion : ja

Brændstoftilførsel : svag ; for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. Af sølv-standardopløsningen (3.2.2) overføres med pipette henholdsvis 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 ml i separate 100 ml målekolber. Der fyldes op til mærket med 0,02 M salpetersyreopløsning (3.1) og blandes. De således opnåede opløsninger indeholder henholdsvis 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 µg sølv pr. ml.

5.3.2. Absorbansen af 0,02 M salpetersyreopløsningen (3.1) måles, og denne værdi afsættes som sølvkoncentration = 0 i kalibreringskurven. Derefter måles absorbansen af hver sølvkalibreringsstandard (5.3.1). Der optegnes en kalibreringskurve, som viser forholdet mellem absorptionsværdier og sølvkoncentration.

5.4. Bestemmelse

Absorbansen af prøveopløsningen (5.1) måles. På kalibreringskurven aflæses den sølvkoncentration, der svarer til prøveopløsningens absorptionsværdi.

6. *Beregning*

Sølvnitratindholdet i vægtprocent (% m/m) beregnes ved anvendelse af formlen :

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

hvor :

m = prøveportionens masse i gram (5.1), og

c = koncentrationen af sølv i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven (5.4).

7. *Repeterbarhed*(1)

For et sølvnitratindhold på 4 % (m/m) bør forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført sideløbende på samme prøve ikke overstige 0,05 % (m/m).

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF SELENDISULFID SOM SELEN I SKÆLBEKÆMPELSESSHAMPOOS

A. Identifikation

1. *Formål og anvendelsesområde*

I denne metode beskrives identifikation af selendisulfid som selen i skælbekæmpelsesshampoos.

2. *Princip*

Selen identificeres ved den karakteristiske gul/orange farve, som fremkommer ved reaktion med urinstof og kaliumiodid.

(1) ISO 5725.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Koncentreret salpetersyre (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Urinstof

3.3. Kaliumiodidopløsning, 10 % (m/v): 10 g kaliumiodid opløses i 100 ml vand.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Destruktionsrør, kapacitet 100 ml

4.3. Varmeblok til opvarmning af destruktionsrør

4.4. Filtrerpapir (Whatman nr. 42 eller tilsvarende) eller et 0,45 µm membranfilter.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Til ca. 1 g shampoo i et destruktionsrør (4.2) tilsættes 2,5 ml koncentreret salpetersyre (3.1), og prøven destrueres ved 150° C i 30 min. i et varmeblok (4.3).

5.2. Den destruerede prøve fortyndes til 25 ml med vand og filtreres gennem et filtrerpapir eller et membranfilter (4.4).

5.3. Til 2,5 ml af filtratet tilsættes 5 ml vand og 2,5 g urinstof (3.2), hvorefter det koges, afkøles, og der tilsættes 1 ml kaliumiodidopløsning (3.3).

5.4. Tilstedeværelsen af selen viser sig ved en gul/orange farve, som hurtigt bliver mørkere ved henstand.

B. **Bestemmelse**

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode anvendes til bestemmelse af selendisulfid som selen i skælbekæmpelsesshampoos indeholdende op til 4,5 % (m/m) selendisulfid.

2. *Princip*

Prøven destrueres med salpetersyre, og selen bestemmes i den frembragte opløsning ved atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analysererne.

3.1. Koncentreret salpetersyre (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Salpetersyreopløsning, 5 % (V/V): 50 ml koncentreret salpetersyre (3.1) fortyndes med 500 ml vand i et bægerglas under stadig omrøring; denne opløsning overføres til en 1 liter kolbe, som fyldes op til mærket med vand

3.3. Stamopløsning af selen-standard, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyreopløsning («SpectrosoL« eller tilsvarende).

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Destruktionsrør, kapacitet 100 ml

4.3. Varmeblok til opvarmning af destruktionsrør

4.4 Filtrerpapir (Whatman nr. 42 eller tilsvarende) eller et 0,45 µm membranfilter

4.5. Atomabsorptionspektrofotometer udstyret med selen-hulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøveforberedelse

5.1.1. I et destruktionsrør (4.2) afvejes nøjagtigt ca. 0,2 g (m gram) af en homogen prøve af shampoo.

5.1.2. Der tilsættes 5 ml koncentreret salpetersyre (3.1), og blandingen destrueres ved 150° C i en time i et varmeblok (4.3).

5.1.3. Opløsningen afkøles og fortyndes til 100 ml med vand. Der filtreres gennem et filtrerpapir eller et membranfilter (4.4), og den filtrerede opløsning opbevares til selen-bestemmelse.

5.2. Betingelser for atomabsorptionsspektrometri

Flamme : luft-acetylen

Bølgelængde : 196 nm

Baggrundskorrektion : ja

Brændstoftilførsel : svag ; for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. I separate 100 ml målekolber afpipetteres henholdsvis 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 ml af stamopløsningen af selenstandard (3.3). Kolberne fyldes op til mærket med 5 % (V/V) salpetersyreopløsning (3.2), og der blandes. Disse opløsninger indeholder henholdsvis 10, 20, 30, 40 og 50 µm selen/ml.

5.3.2. Absorbansen af 5 % (V/V) salpetersyreopløsning (3.2) måles, og den opnåede værdi afsættes som selenkoncentration = 0 i kalibreringskurven. Absorbansen af hver kalibreringsstandard (5.3.1) måles. Der optegnes en kalibreringskurve, som viser forholdet mellem absorbans og selenkoncentration.

5.4. Bestemmelse

Absorbansen af prøveopløsningen (5.1.3) måles. På kalibreringskurven aflæses den selenkoncentration, der svarer til prøveopløsningens absorptionsværdi.

6. *Beregning*

Selendisulfidindholdet i vægtprocent (% m/m) beregnes ved anvendelse af formlen :

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

hvor :

m = prøveportionens masse i gram (5.1.1), og

c = koncentrationen af selen (5.1.5) i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven.

7. *Repeterbarhed*(1)

For et selendisulfidindhold på 1 % (m/m) bør forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført sideløbende på samme prøve ikke overstige 0,05 %.

BESTEMMELSE AF OPLØSELIGT BARIUM OG STRONTIUM I FARVESTOFFER I FORM AF SALTE ELLER LAKKER

A. Bariumsbestemmelse

1. *Formål og anvendelsesområde*

Metoden beskriver fremgangsmåden ved ekstraktion og kvantitativ bestemmelse af opløseligt barium i farvestoffer i form af salte og lakker.

2. *Princip*

Farvestoffet ekstraheres med 0,07 M saltsyreopløsning under veldefinerede betingelser, og mængden af opløseligt barium i ekstraktet bestemmes ved atomabsorptionsspektrometri.

(1) ISO 5725.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Ethanol, absolut

3.2. Saltsyreopløsning, 0,07 M

3.3. Saltsyreopløsning, 0,5 M

3.4. Kaliumkloridopløsning, 8 % (m/v): 16 g kaliumklorid opløses i 200 ml af 0,07 M saltsyreopløsningen (3.2)

3.5. Barium-standardopløsninger

3.5.1. Stamopløsning af barium-standard, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyre (»SpectrosoL« eller tilsvarende)

3.5.2. Barium-standardopløsning, 200 µg/ml: 20,0 ml af bariumstamopløsningen (3.5.1) afpipetteres i en 100 ml målekolbe; der fyldes op til mærket med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. pH-meter med ± 0,02 pH-enheders nøjagtighed

4.3. Et flaske-rysteapparat (a wrist-action flask-shaker)

4.4. Membranfilter, porestørrelse 0,45 µm

4.5. Atomabsorptionsspektrofotometer udstyret med bariumhulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Tilberedning af prøver

5.1.1. 0,5 g (m gram) farvestof afvejes nøjagtigt i en konisk kolbe. For at sikre en effektiv omrystning må en kolbe med mindre end 150 ml's kapacitet ikke anvendes.

5.1.2. Med pipette tilsættes 1,0 ml ethanol (3.1), og kolben roteres for at sikre, at farvestoffet gennemvædes. Fra burette tilsættes nøjagtigt så megen 0,07 M saltsyreopløsning (3.2), som svarer til et forhold saltsyrevolumen : farvestofmasse på nøjagtigt 50 ml/g. Det samlede ekstraktionsvolumen inklusiv ethanol benævnes V ml. Kolbens indhold blandes på en hvirvelmikser i 5 sekunder for at sikre fuldstændig blanding af indholdet.

5.1.3. Med pH-meter (4.2) måles pH af den frembragte suspension; er pH over 1,5, justeres til pH 1,4-1,5 ved dråbevis tilsætning af 0,5 M saltsyre (3.3).

5.1.4. Kolben tilproppes og omrystes straks med flaske-rysteapparatet (4.3) i 60 minutter. Omrystningens hastighed skal være sådan, at der dannes skum. Derpå filtreres gennem et 0,45 µm-membranfilter (4.4), og filtratet opsamles. Der centrifugeres ikke. Med pipette overføres 5,0 ml af filtratet til en 50 ml målekolbe, og der fyldes op til mærket med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes. Denne opløsning benyttes tillige til strontiumbestemmelse (afsnit B).

5.1.5. 5,0 ml kaliumkloridopløsning (3.4) afpipetteres i en 100 ml målekolbe, og der tilsættes en mængde (W_{Ba} ml) af det fortyndede filtrat (5.1.4), svarende til en forventet bariumkoncentration på 3-10 µg/ml (en mængde W_{Ba} = 10 ml skulle være en passende udgangspunkt). Der fyldes op til stregen med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes.

5.1.6. Filtratets (5.1.5) bariumkoncentration bestemmes samme dag ved atomabsorptionsspektrometri.

5.2. Betingelser ved atomabsorptionsspektrometri

Flamme : dinitrogenoxid/acetylen

Bølgelængde : 553,5 nm

Baggrundskorrektion : ingen

Brændstoftilførsel : svag; for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. Af barium-standardopløsningen (3.5.2) afpipetteres henholdsvis 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 ml i separate 100 ml målekolber. I hver kolbe afpipetteres 0,5 ml kaliumkloridopløsning (3.4), hvorpå der fyldes op til stregen med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes. Opløsningernes bariumindhold er henholdsvis 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 og 10,0 µg/ml.

Der laves en blankopløsning ved samme fremgangsmåde, undtagen at barium-standardopløsning udelades.

5.3.2. Absorbansen af blankopløsning (5.3.1) måles, og den opnåede værdi fastsættes som bariumkoncentration = 0 i kalibreringskurven. Absorbansen af hver bariumkalibreringsstandard (5.3.1) måles. Der optegnes en kalibreringskurve, der afbilder absorbansen mod bariumkoncentrationen.

5.4. Bestemmelse

Absorbansen af prøveopløsningen (5.1.5) måles. På kalibreringskurven aflæses bariumkoncentrationen svarende til den målte absorbans af prøveopløsningen.

6. *Beregning*

Farvestoffets indhold af opløseligt barium (% m/m) beregnes ved formlen:

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

hvor:

m = prøveportionens masse i gram (5.1.1)

c = koncentrationen af barium i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven

V = total ekstraktionsvolumen i ml (5.1.2), og

W_{Ba} = ekstraktvolumen i ml, anvendt i 5.1.5.

7. *Repeterbarhed*

Det bedst tilgængelige estimat af repeterbarhed (ISO 5725) ved denne metode for en opløselig bariumkoncentration på 2 % (m/m) er 0,3 %.

8. *Bemærkninger*

8.1. Under disse betingelser kan bariumabsorbansen øges i tilstedeværelse af calcium. Dette kan modvirkes ved tilsætning af 5 g/l magnesiumioner (1).

8.2 Anvendelsen af induktivt koblet plasma (ICP)- optiskemissionsspektrometri (OES) er tilladt som et alternativ til atomabsorptionsspektrometri.

B. Strontiumbestemmelse

1. *Formål og anvendelsesområde*

Metoden beskriver fremgangsmåden ved ekstraktion og kvantitativ bestemmelse af opløseligt strontium i farvestoffer i form af salte eller lakker.

2. *Princip*

Farvestoffet ekstraheres med 0,07 M saltsyreopløsning under veldefinerede betingelser, og mængden af opløseligt strontium i ekstraktet bestemmes ved atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Ethanol, absolut

3.2. Saltsyreopløsning, 0,07 M

3.3. Kaliumkloridopløsning, 8 % (m/v): 16 g kaliumklorid opløses i 200 ml af 0,07 M saltsyreopløsning (3.2)

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

3.4. Strontium-standardopløsninger :

3.4.1. Stamopløsning af strontium-standard 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyre (»SpectrosoL« eller tilsvarende)

3.4.2. Strontium-standardopløsning, 100 µg/ml : der afpipetteres 10,0 ml af strontium-stamopløsningen (3.4.1) i en 100 ml målekolbe, kolben fyldes op til stregen med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Membranfilter, porestørrelse 0,45 µm

4.3. Atomabsorptionsspektrofotometer udstyret med en strontium-hulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Tilberedning af prøver

Den i punkt A 5.1.4 tilberedte opløsning benyttes til kvantitativ bestemmelse af strontium.

5.1.1. 5,0 ml kaliumkloridopløsning (3.3) afpipetteres i en 100 ml målekolbe, og der tilsættes en mængde (W_{Sr} ml) af det fortyndede filtrat (A 5.1.4), svarende til en forventet strontiumkoncentration på 2-5 µg/ml (en mængde W_{Sr} = 25 ml skulle være et passende udgangspunkt). Der fyldes op til mærket med 0,07 M saltsyreopløsning (3.2) og blandes.

5.1.2. Strontiumkoncentrationen i filtratet (B 5.1.1) bestemmes samme dag ved atomabsorptionsspektrometri.

5.2. Betingelser ved atomabsorptionsspektrometri

Flamme : dinitrogenoxid/acetylen

Bølgelængde : 460,7 nm

Baggrundskorrektion : ingen

Brændstoftilførsel : svag ; for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. Af strontium-standardopløsningen (3.4.2) afpipetteres henholdsvis 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 og 5,0 ml i hver sin 100 ml målekolbe. Derefter tilsættes med pipette 5,0 ml kaliumkloridopløsning (3.3) og fyldes op til mærket med 0,07 M saltsyreopløsningen (3.2) og blandes. Opløsningernes strontiumkoncentration er henholdsvis 1,0, 2,0, 4,0, og 5,0 µg.

Der laves en blankopløsning ved samme fremgangsmåde, undtagen at strontium-standardopløsning udelades.

5.3.2. Absorbansen af blankopløsningen (5.3.1) måles, og denne værdi afsættes som strontiumkoncentration = 0 i kalibreringskurven. Absorbansen af hver strontiumkalibreringsstandard (5.3.1) måles. Der optegnes en kalibreringskurve, der afbilder absorbansen mod strontiumkoncentrationen.

5.4. Bestemmelse

Absorbansen af prøveopløsningen (5.1.1) måles. På kalibreringskurven aflæses strontiumkoncentrationen svarende til målt absorbans af prøveopløsningen.

6. *Beregningen*

Farvestoffets indhold af opløseligt strontium (% m/m) beregnes ved formlen :

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

hvor :

m = prøveportionens masse i gram (A 5.1.1)

c = koncentrationen af strontium (5.1.1) i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven

V = totalt ekstraktionsvolumen i ml (A 5.1.2), og

W_{Sr} = ekstraktionsvolumen i ml, anvendt i 5.1.1.

7. *Repeterbarhed*

Det bedst tilgængelige estimat af repeterbarhed (ISO 5725) ved denne metode for en opløselig strontiumkoncentration på 0,6 % (m/m) er 0,09 %.

8. *Bemærkninger*

Anvendelsen af induktivt koblet plasma (ICP) — optiskemissionsspektrometri (OES) er tilladt som et alternativ til atomabsorptionsspektrometri.

IDENTIFIKATION OG BESTEMMELSE AF BENZYLALKOHOL

A. Identifikation

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode anvendes til identifikation af benzylalkohol i kosmetiske produkter.

2. *Princip*

Benzylalkohol identificeres ved hjælp af tyndtlagskromatografi på kieselgel-plader.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Benzylalkohol

3.2. Chloroform

3.3. Ethanol, absolut

3.4. n-Pentan

3.5. Udviklingsvæske : Diethylether

3.6. Standardopløsning af benzylalkohol : Afvej 0,1 g benzylalkohol (3.1) i en 100 ml målekolbe, fyld op til mærket med ethanol (3.3) og bland

3.7. Tyndtlagskromatografi-plader : glas 100 mm × 200 mm eller 200 mm × 200 mm, beklædt med et 0,25 mm tykt lag af kieselgel 60 F_{254}

3.8. Fremkaldelsesreagens : 12-phosphormolybdænsyre, 10 % (m/v) i ethanol (3.3).

4. *Apparatur*

4.1. Normalt udstyr til tyndtlagskromatografi

4.2. Kromatografikar med dobbelt trug, dimensioner ca. 80 mm × 230 mm × 240 mm

4.3. Kromatografipapir : Whatman eller tilsvarende

4.4. UV-lampe, 254 nm.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøveforberedelse

Afvej 1,0 g af det produkt, der skal analyseres, i en 10 ml målekolbe. Tilsæt 3 ml chloroform (3.2) og omryst kraftigt, indtil produktet er dispergeret. Fyld op til mærket med ethanol (3.3) og omryst kraftigt, indtil der fremkommer en klar eller næsten klar opløsning.

5.2. Tyndtlagskromatografi

5.2.1. Kromatografikarret (4.2) mættes med n-pentan (3.4) på følgende måde : beklæd den karvæg, der vender ind mod det bagerste trug, med kromatografipapir (4.3) og sørg for, at den nederste kant af papiret befinder sig i truget. Tilsæt 25 ml n-pentan (3.4) i det bagerste trug ved at hælde opløsningsmidlet hen over overfladen af kromatografipapirbeklædningen. Luk straks derefter til med låget, og lad karret stå i 15 minutter.

5.2.2. Anbring 10 µl prøveopløsning (5.1) og 10 µl standardopløsning (3.6) med passende mellemrum langs pladens startlinie (3.7). Lad pletterne tørre.

5.2.3. 10 ml diethylether (3.5) afpipetteres i karrets forreste trug, og umiddelbart derefter anbringes pladen (5.2.2) i det samme trug. Påsæt straks derefter karrets låg, og lad pladen udvikles, indtil væsken på pladen er nået 150 mm. Fjern derefter pladen fra kromatografikarret, og lad den tørre ved rumtemperatur.

5.2.4. Iagttag pladen (5.2.3) under UV-lys og markér positionen af violette pletter. Påsprøjt pladen (5.2.3) med fremkaldelsesreagens (3.8) og varm pladen ved 120 °C i ca. 15 minutter. Benzylalkoholen fremtræder som en mørkeblå plet.

5.2.5. Beregn R_f værdien for standard-benzylalkoholopløsningen. En mørkeblå plet med samme R_f-værdi for prøveopløsningen indicerer tilstedeværelse af benzylalkohol.

Detektionsgrænse : 0,1 µg benzylalkohol.

B. Bestemmelse

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode anvendes til bestemmelse af benzylalkohol i kosmetiske produkter.

2. *Definition*

Benzylalkohol bestemt ved denne metode udtrykkes i masseprocent (% m/m).

3. *Princip*

Prøven ekstraheres med methanol, og mængden af benzylalkohol i ekstraktet bestemmes ved højtryksvæskekromatografi (HPLC).

4. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene og egnet til HPLC, hvor dette er passende.

4.1. Methanol

4.2.4. 4-Ethoxyphenol

4.3. Benzylalkohol

4.4. Mobilfase : methanol (4.1)/vand (45 : 55 ; v/v)

4.5. Stamopløsning af benzylalkohol : Afvej ca. 0,1 g benzylalkohol (4.3) nøjagtigt i en 100 ml målekolbe ; fyld op til mærket med methanol (4.1) og bland

4.6. Stamopløsning af intern standard : Afvej 0,1 g 4-ethoxyphenol (4.2) nøjagtigt i en 100 ml målkolbe ; fyld op til mærket med methanol (4.1) og bland

4.7. Standardopløsninger : Afpipetter en mængde benzylalkohol-stamopløsning (4.5) og en mængde intern standard-stamopløsning (4.6) i en række 25 ml målekolber, i henhold til nedenstående oversigt ; fyld op med ethanol (4.1) og bland

Standard-opløsning	Benzylalkoholkoncentration		4-ethoxyphenolkoncentration	
	Tilsat (4.5) ml	µg/ml (*)	Tilsat (4.6) 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

(*) Disse værdier er vejledende og svarer til koncentrationen i standardopløsningerne lavet ud fra stamopløsningerne af benzylalkohol (4.5) og 4-ethoxyphenol (4.6), med nøjagtige indhold på henholdsvis 0,1 % (m/v) benzylalkohol og 0,1 % (m/v) 4-ethoxyphenol.

5. *Apparatur*

5.1. Normalt laboratorieudstyr

5.2. Apparatur til højtryksvæskekromatografi med variabel bølgelængde UV-detektor og et 10 µl injektionsloop

5.3. Analysekolonne : 250 mm × 4.6 mm rustfri stålkolonne pakket med 5 µm Spherisorb ODS, eller tilsvarende

5.4. Vandbad

5.5 Ultralydsbad

5.6. Centrifuge

5.7. Centrifugeglas, 15 ml.

6. *Fremgangsmåde*

6.1. Prøvetilberedning

6.1.1. Afvej 0,1 g (m gram) prøve nøjagtigt i et centrifugeglas (5.7) og tilsæt 5 ml methanol (4.1).

6.1.2. Opvarm blandingen i 10 minutter i et vandbad (5.4) ved 50 °C og anbring glasset i et ultralydsbad (5.5), indtil prøven er fuldstændig dispergeret.

6.1.3. Afkøl og centrifugér derefter ved 3 500 omdrejninger pr. minut i 5 minutter.

6.1.4. Overfør supernatanten til en 25 ml målekolbe.

6.1.5. Reekstraher prøven med yderligere 5 ml methanol (4.1). Sammenhæld ekstrakterne i 25 ml målekolben.

6.1.6. Afpipetter 2,0 ml intern standard-stamopløsning (4.6) i 25 ml målekolben. Fyld op med methanol (4.1) og bland. Denne opløsning anvendes til bestemmelse af benzylalkohol, som beskrives i 6.4.

6.2. Kromatografi

6.2.1. Klargør højtryksvæskekromatografiudstyret (5.2) på sædvanlig vis. Indstil flow af den mobile fase (4.4) til 2,0 ml pr. minut.

6.2.2. Indstil UV-detektorens (4.2) bølgelængde til 210 nm.

6.3. Kalibrering

6.3.1. Der indiceres 10 µl af hver af benzylalkohol-standardopløsningerne (4.7), og arealerne af de kromatografiske toppe af benzylalkohol og 4-ethoxyphenol måles.

6.3.2. For hver benzylalkohol-standardopløsning (4.7) beregnes forholdet mellem arealerne af benzylalkohol- og 4-ethoxyphenol-toppene. Der optegnes en kalibreringskurve ved at anvende disse forholdsværdier som ordinat og de tilsvarende koncentrationer af benzylalkohol, udregnet i µg/ml, som abscisse.

6.4. Bestemmelse

6.4.1. Der injiceres 10 µl prøveopløsning (6.1.6), og arealerne af benzylalkohol- og 4-ethoxyphenol-toppene måles. Beregn forholdet mellem toparealerne af benzylalkohol og 4-ethoxyphenol. Gentag dette med yderligere µl prøveopløsning, indtil der opnås ensartede resultater.

6.4.2. På kalibreringskurven (6.3.2) aflæses koncentrationen af benzylalkohol, der svarer til forholdet mellem toparealerne af benzylalkohol og 4-ethoxyphenol.

7. *Beregning*

Indholdet af benzylalkohol i prøven, i masseprocent, beregnes ved følgende formel:

$$\% \text{ (m/m) benzylalkohol} = \frac{c}{400 \times m}$$

hvor:

m = prøveportionens masse i gram (6.1.1), og

c = koncentrationen af benzylalkohol (6.1.6) i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven.

8. *Repeterbarhed*(1)

For et benzylalkoholindhold på 1 % (m/m) bør forskellen mellem resultaterne af to sideløbende bestemmelser på samme prøve ikke overstige 0,1 %.

(1) ISO 5725.

IDENTIFIKATION AF ZIRCONIUM OG BESTEMMELSE AF ZIRCONIUM, ALUMINIUM OG KLOR I NON-AEROSOL ANTIPERSPIRANTER

Metoden består af fem dele :

A. Identifikation af zirconium

B. Bestemmelse af zirconium

C. Bestemmelse af aluminium

D. Bestemmelse af klor

E. Beregning af forholdet mellem aluminiumatomer og zirconiumatomer, og forholdet mellem aluminium plus zirconiumatomer og kloratomer.

A. **Identifikation af zirconium**

1. *Formål og anvendelsesområde*

Metoden benyttes til identifikation af zirconium i non-aerosol antiperspirant kosmetiske produkter. Der er ikke gjort forsøg på at beskrive passende metoder til identifikation af aluminiumzirconiumhydroxidkompleks ($Al_xZR(OH)_yCl_z.nH_2O$).

2. *Princip*

Zirconium identificeres ved det karakteristiske rød-violette bundfald, som fremkommer med alizarin red S i et stærkt surt miljø.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Saltsyre, koncentreret (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Alizarin red S (Cl. 58005) opløsning : 2 % (m/v) vandig natriumalizarinsulfonatopløsning.

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Tilsæt 2 ml vand til ca. 1 g prøve i et reagensglas. Sæt prop i og omryst.

5.2. Tilsæt 3 dråber alizarin red S opløsning (3.2) og dernæst 2 ml koncentreret saltsyre (3.1). Sæt prop i og omryst.

5.3. Blandingen henstår i ca. 2 minutter.

5.4. En rød-violet supernatant og bundfald af samme farve viser tilstedeværelse af zirconium.

B. **Bestemmelser af zirconium**

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode er egnet til bestemmelse af zirconium i aluminiumzirconiumkloridhydroxidkomplekser op til en koncentration på max. 7,5 % (m/m) zirconium i non-aerosol antiperspiranter.

2. *Princip*

Zirconium udtrækkes af produktet i et surt miljø og bestemmes ved hjælp af atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Saltsyre, koncentreret (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Saltsyreopløsning, 10 % (v/v) : til 50 ml vand i et bægerglas tilsættes 100 ml koncentreret saltsyre (3.1) under stadig omrøring ; denne opløsning overføres til en 1 liter målekolbe, og der fyldes op til mærket med vand

3.3. Zirconiumstamopløsning, 1000 µg/ml i 0,5 M saltsyreopløsning (»SpectrosoL« eller tilsvarende)

3.4. Aluminiumklorid (hydreret) ($AlCl_3.6H_2O$) reagens : opløs 22,6 g aluminiumkloridhexahydrat i 250 ml 10 % (v/v) saltsyreopløsning (3.2)

3.5. Ammoniumkloridreagens : opløs 5,0 g ammoniumklorid i 250 ml 10 % (v/v) saltsyreopløsning 3.2).

4. *Apparatur*

4.1. Normalt laboratorieudstyr

4.2. Varmeplade med magnetisk omrører

4.3. Filtrerpapir (Whatman nr. 41 eller tilsvarende)

4.4. Atomabsorptionsspektrofotometer udstyret med en zirconium-hulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøvetilberedning

5.1.1. Afvej nøjagtigt 1,0 g (m gram) af en homogen prøve af produktet i et 150 ml bægerglas. Tilsæt 40 ml vand og 10 ml koncentreret saltsyre (3.1).

5.1.2. Anbring bægerglasset på varmeplade med magnetisk omrører (4.2). Begynd omrøring og opvarm til det koger. For at forhindre hurtig afdampning anbringes et urglas over bægerglasset. Der koges i 5 minutter, derefter fjernes bægerglasset fra varmepladen og nedkøles til stuetemperatur.

5.1.3. Filtrer bægerglassets indhold ved brug af et filtrerpapir (4.3) ned i en 100 ml målekolbe. Skyl bægerglasset med 2 × 10 ml vand og overfør skyllevandet, efter filtrering, i målkolben. Fyld op til mærket med vand og bland. Denne opløsning anvendes ligeledes til bestemmelse af aluminium (del C).

5.4.4. I en 50 ml målkolbe overføres med pipette 20,00 ml prøveopløsning (5.1.3), 5,00 ml aluminiumkloridreagens (3.4) og 5.00 ml ammoniumkloridreagens (3.5). Der fyldes op til mærket med 10 % (v/v) saltsyreopløsning (3.2) og blandes.

5.2. Betingelser for atomabsorptionspektrometri

Flamme : dinitrogenoxid/acetylen

Bølgelængde : 360,1 nm

Baggrundskorrektion : ingen

Brændstoftilførsel : mættet ; for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. Til en række 50 ml målekolber overføres med pipette 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 og 25,00 ml zirconiumstamopløsning (3.3). Til hver målekolbe overføres med pipette 5,00 ml aluminiumkloridreagens (3.4) og 5,00 ml ammoniumkloridreagens (3.5). Fyld op til mærket med 10 % (v/v) saltsyreopløsning (3.2) og bland. Disse opløsninger indeholder henholdsvis 100, 200, 300, 400 og 500 µg zirconium pr. ml.

Lav på samme måde en blindopløsning med udeladelse af zirconiumstamopløsning.

5.3.2. Mål absorbansen af blindopløsningen (5.3.1) og anvend den opnåede værdi som nulpunkt for zirconiumkoncentration på kalibreringskurven. Mål absorbansen af hver enkelt zirconiumkalibreringsstandard (5.3.1). Optegn en kalibreringskurve, der afbilder absorbansen mod zirconiumkoncentrationen.

5.4. Bestemmelse

Mål absorbansen af prøveopløsningen (5.1.4). På kalibreringskurven aflæses zirconiumkoncentrationen svarende til absorptionsværdien af prøveopløsningen.

6. *Beregning*

Beregn zirconiumindholdet i prøven i masseprocent ved hjælp af formlen :

$$\% \text{ (m/m) zirconium} = \frac{c}{40 \times m}$$

hvor

m = prøveportionens masse i gram (5.1.1), og

c = koncentrationen af zirconium (5.1.4) i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven.

7. *Repeterbarhed* (1)

Ved et zirconiumindhold på 3,00 % bør forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført sideløbende på den samme prøve ikke overstige 0,10 %.

8. *Bemærkninger*

Anvendelsen af inductively coupled plasma - optical emission spectrometry tillades som alternativ til atomabsorptionsspektrometri.

C. Bestemmelse af aluminium

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode er egnet til bestemmelse af aluminiumindhold i aluminiumzirconiumkloridhydroxid-komplekser op til en koncentration på 12 % (m/m) aluminium i non-aerosol antiperspiranter.

2. *Princip*

Aluminium ekstraheres fra produktet i et surt miljø og bestemmes ved hælp af atomabsorptionsspektrometri.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Saltsyre, koncentreret (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Saltsyreopløsning, 1 % (v/v): til 500 ml vand i et bægerglas tilsættes 10 ml koncentreret saltsyre (3.1) under stadig omrøring; denne opløsning overføres til en 1 liter målekolbe, og der fyldes op til mærket med vand

3.3. Aluminiumstamopløsning, 1 000 µg/ml i 0,5 M salpetersyreopløsning (»SpectrosoL« eller tilsvarende)

3.4. Kaliumkloridreagens: Opløs 10,0 g kaliumklorid i 250 ml 1 % (v/v) saltsyreopløsning (3.2).

4. *Apparatur*

4.1. Almindeligt laboratorieudstyr

4.2. Atomabsorptionsspektrofotometer udstyret med en aluminium-hulkatodelampe.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøvetilberedning

Den opløsning, som blev fremstillet i B 5.1.3, anvendes til bestemmelse af indholdet af aluminium.

5.1.1. Til en 100 ml målekolbe overføres med pipette 5,00 ml af prøveopløsningen (B 5.1.3) og 10,00 ml kaliumkloridreagens (3.4). Fyld op til mærket med 1 % (v/v) saltsyreopløsning (3.2) og bland.

5.2. Betingelser for atomabsorptionsspektrometri

Flamme: dinitrogenoxid/acetylen

Bølgelængde: 309,3 nm

Baggrundskorrektion: ingen.

Brændstoftilførsel: mættet, for at opnå størst mulig absorbans er det nødvendigt at optimere brænderhøjde og brændstoftilførsel.

5.3. Kalibrering

5.3.1. Til en række 100 ml målekolber overføres med pipette 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 og 5,00 ml aluminiumstamopløsning (3.3). Med pipette tilsættes 10,00 ml kaliumkloridreagens (3.4) til hver målkolbe. Fyld op til mærket med 1 % saltsyreopløsning (3.2) og bland. Disse opløsninger indeholder henholdsvis 10, 20, 30, 40 og 50 µg aluminium pr. ml.

På samme måde fremstilles en blindopløsning med udeladelse af aluminiumstamopløsning.

(1) ISO 5725.

5.3.2. Mål absorbansen af blindopløsningen (5.3.1) og anvend den opnåede værdi som nulpunkt for aluminiumkoncentrationen på kalibreringskurven. Mål absorbansen af hver enkelt aluminiumkaliberingsstandard (5.3.1). Optegn en kalibreringskurve, der afbilder absorbansen mod aluminiumkoncentrationen.

5.4. Bestemmelse

Mål absorbansen af prøveopløsningen (5.1.1). På kalibreringskurven aflæses koncentrationen af aluminium svarende til absorbansen af prøveopløsningen.

6. *Beregning*

Beregn aluminiumindholdet i prøven i masseprocent ved hjælp af formlen:

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

hvor

m = prøveopløsningens masse i gram (B 5.1.1), og

c = koncentrationen af aluminium (5.1.1) i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven.

7. *Repeterbarhed*(1)

Ved et aluminiumindhold på 3,5 % (m/m) bør forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført sideløbende på den samme prøve ikke overstige 0,10 % (m/m).

8. *Bemærkninger*

Anvendelsen af inductive coupled plasma - optical emission spectrometry tillades som alternativ til atomabsorptionsspektrometri.

D. **Bestemmelse af klor**

1. *Formål og anvendelsesområde*

Denne metode er egnet til bestemmelse af klorindholdet i form af kloridioner i aluminiumzirconiumklorhydroxidkomplekser i non-aerosol antiperspiranter.

2. *Princip*

Kloridioner i produktet bestemmes ved hjælp af potentiometrisk titrering med standardsølvnitratopløsning.

3. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene.

3.1. Salpetersyre, koncentreret (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Salpetersyreopløsning, 5 % (v/v): Til 250 ml vand i et bægerglas tilsættes 25 ml koncentreret salpetersyre (3.1) under konstant omrøring; denne opløsning overføres i en 500 ml målekolbe, og der fyldes op til mærket med vand

3.3. Acetone

3.4. Sølvnitrat, 0,1 M volumetrisk opløsning (»AnalaR« eller tilsvarende).

4. *Apparatur*

4.1. Almindeligt laboratorieudstyr

4.2. Varmeplade med magnetisk omrører

4.3. Sølvelektrode

4.4. Calomel-referenceelektrode

4.5. pH/millivoltmeter egnet til potentiometrisk titrering.

(1) ISO 5725.

5. *Fremgangsmåde*

5.1. Prøvetilberedning

5.1.1. 1,0 g af en homogen prøve af produktet afvejes nøjagtigt i et 250 ml bægerglas. Der tilsættes 80 ml vand og 20 ml 5 % (v/v) salpetersyreopløsning (3.2).

5.1.2. Anbring bægerglasset på varmepladen med magnetisk omrører (4.2). Begynd omrøring og opvarm til det koger. For at forhindre hurtig afdampning anbringes et urglas over bægerglasset. Der koges i 5 minutter. Fjern bægerglasset fra varmepladen og nedkøl til stuetemperatur.

5.1.3. Tilsæt 10 ml acetone (3.3), nedsænk elektroderne (4.3 og 4.4) i opløsningen og begynd omrøring. Titrer potentiometrisk mod 0,1 M sølvnitratopløsning (3.4) og optegn en titreringskurve for at bestemme slutpunktet (V ml).

6. *Beregning*

Beregn indholdet af klor i prøven i masseprocent ved hjælp af formlen:

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

hvor

m = prøveportionens masse i gram (5.1.1), og

V = volumen af 0,1 M sølvnitrat i ml, der er anvendt til titrering til slutpunktet (5.1.3).

7. *Repeterbarhed* (1)

Ved et klorindhold på 4 % (m/m) bør forskellen mellem resultaterne af to bestemmelser udført sideløbende på den samme prøve ikke overstige 0,10 % (m/m)

E. Beregning af forholdet mellem aluminiumatomer og zirconiumatomer, og forholdet mellem aluminium plus zirconiumatomer og kloratomer

1. *Beregning af forholdet mellem aluminiumatomer og zirconiumatomer*

Beregn Al: Zr-forholdet ved hjælp af formlen:

$$\text{Al : Zr-forhold} = \frac{\text{Al \% (m/m)} \times 91{,}22}{\text{Zr \% (m/m)} \times 26{,}98}$$

2. *Beregning af forholdet mellem aluminium plus zirconiumatomer og kloratomer*

Beregn (Al + Zr): Cl-forholdet ved hjælp af formlen:

$$(\text{Al} + \text{Zr})\text{: Cl-forhold} = \frac{\frac{\text{Al \% (m/m)}}{26{,}98} + \frac{\text{Zr \% (m/m)}}{91{,}22}}{\frac{\text{Cl \% (m/m)}}{35{,}45}}$$

IDENTIFIKATION OG KVANTITATIV BESTEMMELSE AF HEXAMIDIN, DIBROHEXAMIDIN, DIBROMPROPAMIDIN OG CHLORHEXIDIN

1. *Formål og anvendelsesområde*

Metoden anvendes til identifikation og bestemmelse af:

— hexamidin og salte heraf, herunder isethionat og 4-hydroxybenzoat

— dibromhexamidin og salte heraf, herunder isethionat

— chlorhexidin diacetat, digluconat og dihydrochlorid

i kosmetiske produkter.

2. *Definition*

Indholdet af hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin og chlorhexidin, bestemt ved denne metode, udtrykkes i masseprocent (% m/m) af produktet.

3. *Princip*

Identifikation og bestemmelse sker ved ion-par omvendtfase væskekromatografi (HPLC), efterfulgt af UV-spektrofotometrisk detektion. Hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin og chlorhexidin identificeres ved deres retentionstider.

(1) ISO 5725.

4. *Reagenser*

Alle reagenser skal være analyserene og egnet til HPLC.

4.1. Methanol

4.2. 1-Heptansulfonsyre, natrium salt, monohydrat

4.3. Iseddikesyre (d_{20} = 1,05 g/ml)

4.4. Natriumklorid

4.5. Mobil fase

4.5.1. Solvent I : 0,005 M opløsning af 1-heptansulfonsyre, natriumsalt, monohydrat (4.2) i methanol (4.2), justeret til tilsyneladende pH 3,5 med iseddikesyre (4.3)

4.5.2. Solvent II : 0,005 M opløsning af 1-heptansulfonsyre, natriumsalt, monohydrat (4.2) i vand, justeret til pH 3,5 med iseddikesyre (4.3)

4.5.3. *Bemærkning :* for at forbedre formen af kromatografiske toppe kan Solvent I og Solvent II om nødvendigt modificeres som følgende :

— Solvent I : 5,84 g natriumklorid (4.4) og 1,1013 g 1-heptansulfonsyre, natriumsalt, monohydrat (4.2) opløses i 100 ml vand ; der tilsættes 900 ml methanol (4.1) og justeres til tilsyneladende pH 3,5 iseddikesyre (4.3)

— Solvent II : 5,84 g natriumklorid (4.4) og 1,1013 g 1-heptansulfonsyre, natriumsalt, monohydrat (4.2) opløses i 1 l vand og justeres til pH 3,5 med iseddikesyre (4.3)

4.6. Hexamidin diisethionat [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.7. Dibromhexamidin diisethionat [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.8. Dibrompropamidin diisethionat [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

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

4.10. Referenceopløsninger : Fremstil 0,05 % (m/v) opløsninger af hver af de fire konserveringsmidler (4.6 til 4.9) i Solvent I (4.5.1)

4.11. 3,4,4'-trichlorcarbanilid (triclocarban)

4.12. 4,4'-dichlor-3-(trifluormethyl)carbanilid (halocarban).

5. *Apparatur*

5.1. Almindeligt laboratorieudstyr

5.2. Højtryksvæskekromatograf med UV-detektor med variabel bølgelængde

5.3. Analytisk kolonne : Rustfrit stål, længde 30 cm, indvendig diameter 4 mm, pakket med µ-Bondapak C_{18}, 10 µm, eller tilsvarende

5.4. Ultralydsbad.

6. *Identifikation*

6.1. Prøvetilberedning

Ca. 0,5 g prøve afvejes i en 10 ml målekolbe. Der fyldes op til stregen med Solvent I (4.5.1) Målekolben anbringes i 10 minutter i et ultralydsbad (5.4). Opløsningen filtreres eller centrifugeres. Filtratet eller supernatanten opsamles til kromatografisk analyse.

6.2. Kromatografi

6.2.1. Mobil fasegradient

Tid (min.)	Solvent I (4.5.1) (% v/v)	Solvent I (4.5.2) (% v/v)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Flow af den mobile fase (6.2.1) indstilles til 1.5 ml/min, og kolonnetemperaturen holdes på 35 °C.

6.2.3. Detektorens bølgelængde indstilles på 264 nm.

6.2.4. Der injiceres 10 µl af hver af referenceopløsningerne (4.10), og deres kromatogrammer registreres.

6.2.5. Der injiceres 10 µl af prøveopløsningen (6.1), og dets kromatogram registreres.

6.3. Identificer, om der er hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller chlorhexidin til stede ved at sammenligne retentionstiden for de toppe, som er registreret i 6.2.5, med de toppe, som er opnået fra referenceopløsninger i punkt (6.2.4).

7. *Bestemmelse*

7.1. Tilberedning af standardopløsninger

Benyt et af de konserveringsstoffer (4.6 til 4.9), der ikke findes i prøven, som intern standard. Er dette ikke muligt, benyttes triclocarban (4.11), eller halocarban (4.12).

7.1.1. 0,05 % (m/v) stamopløsning i Solvent I (4.5.1) af det konserveringsstof, som er identificeret i punkt 6.3.

7.1.2. 0,05 % (m/v) stamopløsning i Solvent I (4.5.1) af det konserveringsstof, der er valgt som intern standard.

7.1.3. For hvert af de identificerede konserveringsstoffer fremstilles fire standardopløsninger ved, til en række 10 ml målekolber, at overføre en mængde stamopløsning af det identificerede konserveringsstof (7.1.1) og en mængde af stamopløsning af intern standard (7.1.2) jf. tabellen herunder. Fyld målekolberne op til stregen med Solvent I (4.5.1) og bland.

Standard opløsning	Stamopløsning af intern standard	Stamopløsning af identificeret konserveringsstof	
	ml tilsat (7.1.2)	ml tilsat (7.1.1)	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

(*) Disse værdier er vejledende og svarer til koncentrationerne af det identificerede konserveringsstof i standardopløsninger fremstillet ud fra en stamopløsning, som indeholder nøjagtig 0,05 % af det identificerede konserveringsstof.

7.2. Prøvetilberedning

7.2.1. 0,5 g (p gram) prøve afvejes nøjagtigt i en 10 ml målekolbe ; der tilsættes 1,0 ml intern standardopløsning (7.1.2) og 6 ml Solvent I (4.5.1) og blandes.

7.2.2. Målekolben anbringes 10 minutter i et ultralydsbad (5.4). Efter afkøling fyldes op til stregen med Solvent I (4.5.1) og blandes. Der filtreres gennem et foldet filtrerpapir eller centrifugeres. Supernatanten/filtratet opsamles til kromatografisk analyse.

7.3. Kromatografi

7.3.1. Mobil fase-gradient, flow, kolonnetemperatur og detektorens bølgelængde af HPLC-apparaturet indstilles til de betingelser, der anvendes ved identifikationen (6.1.2 til 6.2.3).

7.3.2. 10 µl af prøveopløsningen (7.2.2) injiceres, og arealerne af de kromatografiske toppe måles. Gentag med 10 µl af prøveopløsningen, indtil der opnås overensstemmende resultater. Forholdet mellem topareal for det stof, som analyseres, og for den interne standard beregnes.

7.4. Kalibrering

7.4.1. Der injiceres 10 µl af hver af standardopløsningerne (7.1.3) og toparealerne måles.

7.4.2. For hver opløsning beregnes forholdet mellem arealet af de respektive toppe af hexamidin, dibromhexdamidin, dibrompropamidin eller chlorhexidin og af den interne standard. Der optegnes en kalibreringskurve med disse forhold som ordinat og tilsvarende koncentrationer af det identificerede konserveringsstof, i µl/ml, som abscisse.

7.4.3. Ud fra kalibreringskuven (7.4.2) aflæses den koncentration af det identificerede konserveringsstof, der svarer til det toparealforhold, der blev beregnet i punkt 7.3.2.

8. *Beregning*

8.1. Beregn prøvens indhold af hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller chlorhexidin i masseprocent (% m/m) ved hjælp af følgende formel :

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

hvor :

p = prøveportionens masse i gram

c = koncentrationen af konserveringsstoffet i prøveopløsningen i µg/ml, aflæst på kalibreringskurven

MW_1 = molekylvægten af den basiske form af tilstedeværende konserveringsstof (se punkt 10), og

MW_2 = molekylvægten af det tilsvarende salt (se punkt 10).

9. *Repeterbarhed* (1)

Ved et indhold af hexamidin, dibromhexamidin, dibrompropamidin eller chlorhexidin på 0,1 % (m/m) bør afvigelsen mellem resultaterne af to sideløbende bestemmelser udført på samme prøve ikke være over 0,005 %.

10. *Tabel over molekylvægte*

Hexamidin	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Hexamidin diisethionat	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Hexamidin di-p-hydroxybenzoat	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromohexamidin	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Dibromohexamidin diisethionat	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibromopropamidin	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Dibromopropamidin diisethionat	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Chlorhexidin	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Chlorhexidin diacetat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}2C_2H_4O_2$	625,56
Chlorhexidine digluconat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Chlorhexidin dihydrochlorid	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725.