

Publikatieblad

van de Europese Gemeenschappen

ISSN 0378-7087

L 178

38e jaargang

28 juli 1995

Uitgave
in de Nederlandse taal

Wetgeving

Inhoud

I *Besluiten waarvan de publicatie voorwaarde is voor de toepassing*

- ★ Richtlijn 95/31/EG van de Commissie van 5 juli 1995 tot vaststelling van specifieke zuiverheidseisen voor zoetstoffen die in levensmiddelen mogen worden gebruikt ... 1
- ★ Zesde richtlijn 95/32/EG van de Commissie van 7 juli 1995 inzake voor de controle op de samenstelling van cosmetische produkten toe te passen analysemethoden ... 20

I

(Besluiten waarvan de publikatie voorwaarde is voor de toepassing)

RICHTLIJN 95/31/EG VAN DE COMMISSIE

van 5 juli 1995

tot vaststelling van specifieke zuiverheidseisen voor zoetstoffen die in levensmiddelen mogen worden gebruikt

(Voor de EER relevante tekst)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN VASTGESTELD:

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Artikel 1

Gelet op Richtlijn 89/107/EEG van de Raad van 21 december 1988 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake levensmiddelenadditieven die in voor menselijke voeding bestemde waren mogen worden gebruikt ⁽¹⁾, gewijzigd bij Richtlijn 94/34/EG ⁽²⁾, inzonderheid op artikel 3, lid 3, onder a),

Overwegende dat, na raadpleging van het Wetenschappelijk Comité voor de menselijke voeding, voor alle zoetstoffen die in Richtlijn 94/35/EG van het Europees Parlement en van de Raad van 30 juni 1994 inzake zoetstoffen die in levensmiddelen mogen worden gebruikt ⁽³⁾, worden genoemd, zuiverheidseisen dienen te worden vastgesteld;

Overwegende dat levensmiddelenadditieven die worden bereid volgens produktiemethoden of met uitgangsmaterialen die sterk verschillen van die welke door het Wetenschappelijk Comité voor de menselijke voeding zijn beoordeeld of verschillen van die welke in deze richtlijn worden vermeld, aan een volledige beoordeling door het Wetenschappelijk Comité dienen te worden onderworpen, waarbij de nadruk met name op de zuiverheidseisen ligt;

Overwegende dat de in deze richtlijn vervatte maatregelen in overeenstemming zijn met het advies van het Permanent Comité voor levensmiddelen,

1. De zuiverheidseisen die in artikel 3, lid 3, onder a), van Richtlijn 89/107/EEG worden genoemd, worden voor de in Richtlijn 94/35/EEG genoemde zoetstoffen in de bijlage vastgesteld.

2. De zuiverheidseisen voor E 420 (i), E 420 (ii) en E 421 die in de bijlage bij de onderhavige richtlijn zijn vervat, hebben voorrang boven de zuiverheidseisen voor genoemde stoffen die in de bijlage bij Richtlijn 78/663/EEG van de Raad ⁽⁴⁾ worden genoemd.

Artikel 2

1. De Lid-Staten doen de nodige wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 1 juli 1996 aan deze richtlijn te voldoen. Zij stellen de Commissie daarvan onverwijld in kennis.

Wanneer de Lid-Staten deze bepalingen aannemen, wordt in die bepalingen naar de onderhavige richtlijn verwezen of wordt hiernaar verwezen bij de officiële bekendmaking van die bepalingen. De regels voor deze verwijzing worden vastgesteld door de Lid-Staten.

2. Produkten die vóór deze datum in de handel gebracht of geëtiketteerd zijn en die niet aan deze richtlijn

⁽¹⁾ PB nr. L 40 van 11. 2. 1989, blz. 27.

⁽²⁾ PB nr. L 237 van 10. 9. 1994, blz. 1.

⁽³⁾ PB nr. L 237 van 10. 9. 1994, blz. 3.

⁽⁴⁾ PB nr. L 223 van 14. 8. 1978, blz. 7.

voldoen, mogen echter worden verhandeld totdat de voorraden zijn uitgeput.

Artikel 4

Deze richtlijn is gericht tot de Lid-Staten.

Artikel 3

Gedaan te Brussel, 5 juli 1995.

Deze richtlijn treedt in werking op de twintigste dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Voor de Commissie
Martin BANGEMANN
Lid van de Commissie

BIJLAGE

E 420 (i) — SORBITOL

Synoniemen	D-glucitol, D-sorbitol
Definitie	
Chemische naam	D-glucitol
Einecs-nummer	200-061-5
E-nummer	E 420 (i)
Molecuulformule	$C_6H_{14}O_6$
Relatieve molecuulmassa	182,17
Gehalte	Minimaal 97,0 % glycitolen in totaal en minimaal 91,0 % D-sorbitol (droge stof) Glycitolen zijn verbindingen met de structuurformule $CH_2OH-(CHOH)_n-CH_2OH$, waarbij „n” een geheel getal is
Beschrijving	Wit hygroscopisch poeder, kristallijn poeder, vlokken of korrels met een zoete smaak
Eigenschappen	
A. Oplosbaarheid	Zeer goed oplosbaar in water; slecht oplosbaar in ethanol
B. Smelttraject	88 °C-102 °C
C. Sorbitol-monobenzylideenderivaat	Voeg aan 5 g van het monster 7 ml methanol, 1 ml benzaldehyd en 1 ml zoutzuur toe. Meng en schud in een schudapparaat, tot er kristallen verschijnen. Filtreer met een afzuigapparaat, los de kristallen op in 20 ml kokend water met 1 g natriumbicarbonaat en filtreer de hete oplossing. Laat het filtraat afkoelen, filtreer met een afzuigapparaat, was met 5 ml methanol/watermengsel (1:2) en laat aan de lucht drogen. De zo verkregen kristallen smelten tussen 173 °C en 179 °C
Zuiverheid	
Watergehalte	Maximaal 1 % (methode Karl Fischer)
Sulfaatas	Maximaal 0,1 % van de droge stof
Reducerende suikers	Maximaal 0,3 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
Suikers totaal	Maximaal 1 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
Chloride	Maximaal 50 mg/kg droge stof
Sulfaat	Maximaal 100 mg/kg droge stof
Nikkel	Maximaal 2 mg/kg droge stof
Arseen	Maximaal 3 mg/kg droge stof

<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
E 420 (ii) — SORBITOLSTROOP	
Synoniemen	D-glucitolstroop
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	Sorbitolstroop, gevormd door de hydrogenering van glucosestroop, bestaat uit D-sorbitol, D-mannitol en gehydrogeneerde sacchariden Naast D-sorbitol bevat het produkt voornamelijk gehydrogeneerde oligosacchariden, gevormd door de hydrogenering van de als grondstof gebruikte glucosestroop (in dat geval kristalliseert de stroop niet), of mannitol. Kleine hoeveelheden glycitolen met $n \leq 4$ kunnen aanwezig zijn. Glycitolen zijn verbindingen met de structuurformule $C_2OH-(CHOH)_n-CH_2OH$, waarbij „n” een geheel getal is
<i>Einecs-nummer</i>	270-337-8
<i>E-Nummer</i>	E 420 (ii)
<i>Gehalte</i>	Minimaal 69 % vaste stof in totaal en minimaal 50 % D-sorbitol (watervrij)
Beschrijving	Heldere kleurloze oplossing in water met een zoete smaak
Eigenschappen	
<i>A. Oplosbaarheid</i>	Mengbaar met water, met glycerol en met propaan-1,2-diol
<i>B. Sorbitol-monobenzylideenderivaat</i>	Voeg aan 5 g van het monster 7 ml methanol, 1 ml benzaldehyd en 1 ml zoutzuur toe. Meng en schud in een schudapparaat tot er kristallen verschijnen. Filtreer met een afzuigapparaat, los de kristallen op in 20 ml kokend water met 1 g natriumbicarbonaat en filtreer de hete oplossing. Laat het filtraat afkoelen, filtreer met een afzuigapparaat, was met 5 ml methanol/watermengsel (1:2) en laat aan de lucht drogen. De zo verkregen kristallen smelten tussen 173 °C en 179 °C
Zuiverheid	
<i>Watergehalte</i>	Maximaal 31 % (methode Karl Fischer)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,1 % van de droge stof
<i>Reducerende suikers</i>	Maximaal 0,3 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
<i>Chloride</i>	Maximaal 50 mg/kg droge stof
<i>Sulfaat</i>	Maximaal 100 mg/kg droge stof
<i>Nikkel</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 421 — MANNITOL

Synoniemen	D-mannitol
Definitie	
Chemische naam	D-mannitol
Einecs-nummer	200-711-8
E-nummer	E 421
Molecuulformule	$C_6H_{14}O_6$
Relatieve molecuulmassa	182,2
Gehalte	Minimaal 96,0 % D-mannitol (watervrij)
Beschrijving	Wit kristallijn poeder zonder geur en met een zoete smaak
Eigenschappen	
A. Oplosbaarheid	Oplosbaar in water, zeer slecht oplosbaar in ethanol en vrijwel onoplosbaar in chloroform en ether
B. Smelttraject	165 °C-169 °C; wordt zacht bij lagere temperatuur
Zuiverheid	
Gewichtsverlies bij drogen	Maximaal 0,3 % (105 °C, 4 uur)
pH	Tussen 5 en 8 Voeg 0,5 ml van een verzadigde kaliumchlorideoplossing toe aan 10 ml van een 10 %-oplossing (g/v) van het monster en meet vervolgens de pH
Specifieke draaiing	$(\alpha)_D^{20}$ tussen + 23° en + 25° in een geboreerde oplossing (watervrij)
Sulfaatas	Maximaal 0,1 % van de droge stof
Reducerende suikers	Maximaal 0,3 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
Suikers totaal	Maximaal 1 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
Chloride	Maximaal 70 mg/kg droge stof
Sulfaat	Maximaal 100 mg/kg droge stof
Nikkel	Maximaal 2 mg/kg droge stof
Arseen	Maximaal 3 mg/kg droge stof
Lood	Maximaal 1 mg/kg droge stof
Zware metalen	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 953 — ISOMALT

Synoniemen	Gehydrogeneerde isomaltulose, gehydrogeneerde palatinose
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	Isomalt is een mengsel van: D-glucopyranosyl-1,6-D-glucitol en D-glucopyranosyl-1,1-D-mannitol, dihydraat
<i>Einecs-nummer</i>	
<i>E-nummer</i>	E 953
<i>Molecuulformule</i>	D-glucopyranosyl-1,6-D-glucitol: $C_{12}H_{24}O_{11}$ D-glucopyranosyl-1,1-D-mannitol, dihydraat: $C_{12}H_{24}O_{11} \cdot 2H_2O$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	D-glucopyranosyl-1,6-D-glucitol: 344,32 D-glucopyranosyl-1,1-D-mannitol, dihydraat: 380,32
<i>Gehalte</i>	Minimaal 95 % D-glucopyranosyl-1,6-D-glucitol en D-glucopyranosyl-1,1-D-mannitol, dihydraat (watervrij)
Beschrijving	Witte kristallijne enigszins hygroscopische stof zonder geur en met een zoete smaak
Eigenschappen	
<i>A. Oplosbaarheid</i>	Slecht oplosbaar in water Onoplosbaar in ethanol
<i>B. Specifieke draaiing</i>	$(\alpha)_D^{20}$ tussen + 90° en + 92° (4 %-oplossing g/v)
<i>C. Smelttraject</i>	145 °C-150 °C
Zuiverheid	
<i>Watergehalte</i>	Maximaal 7 % (methode Karl Fischer)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,05 % van de droge stof
<i>Reducerende suikers</i>	Maximaal 1,5 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
<i>Nikkel</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als PB

E 965 (i) — MALTITOL

Synoniemen	D-maltitol, gehydrogeneerde maltose
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	(α)-D-glucopyranosyl-1,4-D-glucitol

<i>Einecs-nummer</i>	209-567-0
<i>E-nummer</i>	E 965 (i)
<i>Molecuulformule</i>	$C_{12}H_{24}O_{11}$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	344,31
<i>Gehalte</i>	Minimaal 98,0 % D-maltitol $C_{12}H_{24}O_{11}$ (watervrij)
Beschrijving	Wit kristallijn poeder met een zoete smaak
Eigenschappen	
A. <i>Oplosbaarheid</i>	Zeer goed oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol
B. <i>Smelttraject</i>	148 °C-151 °C
C. <i>Specifieke draaiing</i>	$(\alpha)_D^{20}$ tussen + 105,5° en + 108,5° (5 %-oplossing g/v)
Zuiverheid	
<i>Watergehalte</i>	Maximaal 1 % (methode Karl Fischer)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,1 % van de droge stof
<i>Reducerende suikers</i>	Maximaal 0,1 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
<i>Chloride</i>	Maximaal 50 mg/kg droge stof
<i>Sulfaat</i>	Maximaal 100 mg/kg droge stof
<i>Nikkel</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 965 (ii) — MALTITOLSTROOP

Synoniemen	Gehydrogeneerde glucosestroop (met een hoog maltosegehalte)
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	Een mengsel dat bestaat uit voornamelijk maltitol en daarnaast sorbitol en gehydrogeneerde oligo- en polysacchariden. Het wordt vervaardigd door de katalytische hydrogenering van glucosestroop met een hoog maltosegehalte. Het wordt in de handel als stroop en als vaste stof geleverd
<i>Einecs-nummer</i>	270-337-8

<i>E-nummer</i>	E 965 (ii)
<i>Gehalte</i>	Voor de watervrije stof gelden de volgende waarden: Maltitol minimaal 50 % Sorbitol maximaal 8 % Maltotritol maximaal 25 % Gehydrogeneerde polysacchariden met meer dan 3 glucose- of glucitoleenheden maximaal 30 %
<i>Beschrijving</i>	Kleur- en geurloze heldere viskeuze vloeistof met een zoete smaak of witte kristallijne massa met een zoete smaak
<i>Eigenschappen</i>	
<i>A. Oplosbaarheid</i>	Zeer goed oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol
<i>B. Dunne-laagchromatografie</i>	Onderzoek met dunne-laagchromatografie met behulp van een plaat met een laag van 0,25 mm silicagel (voor chromatografie)
<i>Zuiverheid</i>	
<i>Watergehalte</i>	Maximaal 31 % (methode Karl Fischer)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,1 % van de droge stof
<i>Reducerende suikers</i>	Maximaal 0,3 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
<i>Chloride</i>	Maximaal 50 mg/kg droge stof
<i>Sulfaat</i>	Maximaal 100 mg/kg droge stof
<i>Nikkel</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 966 — LACTITOL

<i>Synoniemen</i>	Lactiet, lactositol, lactobiosiet
<i>Definitie</i>	
<i>Chemische naam</i>	β -D-galactopyranosyl-1,4-D-glucitol
<i>Einecs-nummer</i>	209-566-5
<i>E-nummer</i>	E 966
<i>Molecuulformule</i>	$C_{12}H_{24}O_{11}$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	344,32
<i>Gehalte</i>	Minimaal 95 % (watervrij)

Beschrijving	Kristallijn poeder of kleurloze oplossing met een zoete smaak. Kristallijne produkten komen zonder kristalwater, als monohydraat en als dihydraat voor
Eigenschappen	
A. <i>Oplosbaarheid</i>	Zeer goed oplosbaar in water
B. <i>Specifieke draaiing</i>	$(\alpha)_D^{20}$ tussen + 13° en + 16° (10 %-oplossing (g/v) in water)
Zuiverheid	
<i>Watergehalte</i>	Kristallijne produkten: maximaal 10,5 % (methode Karl Fischer)
<i>Andere polyolen</i>	Maximaal 2,5 % (watervrij)
<i>Reducerende suikers</i>	Maximaal 0,2 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose
<i>Chloride</i>	Maximaal 100mg/kg droge stof
<i>Sulfaat</i>	Maximaal 200 mg/kg droge stof
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,1 % van de droge stof
<i>Nikkel</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 967 — XYLITOL

Synoniemen	Xylitol
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	D-xylitol
<i>Einecs-nummer</i>	201-788-0
<i>E-nummer</i>	E 967
<i>Molecuulformule</i>	$C_5H_{12}O_5$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	152,15
<i>Gehalte</i>	Minimaal 98,5 % (watervrij)
Beschrijving	Wit kristallijn poeder, vrijwel zonder geur en met een zeer zoete smaak
Eigenschappen	
A. <i>Oplosbaarheid</i>	Zeer goed oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol
B. <i>Smelttraject</i>	92 °C-96 °C
C. <i>pH</i>	5,0-7,0 (10 %-oplossing (g/v) in water)

Zuiverheid*Gewichtsverlies bij drogen*

Maximaal 0,5 %. Droog een monster van 0,5 g onder vacuüm boven fosfor gedurende 4 uur bij 60 °C

Sulfaatas

Maximaal 0,1 % van de droge stof

Reducerende suikers

Maximaal 0,2 % van de droge stof, uitgedrukt als glucose

Andere polyolen

Maximaal 1 % van de droge stof

Nikkel

Maximaal 2mg/kg droge stof

Arseen

Maximaal 3 mg/kg droge stof

Lood

Maximaal 1 mg/kg droge stof

Zware metalen

Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

Chloriden

Maximaal 100 mg/kg droge stof

Sulfaten

Maximaal 200 mg/kg droge stof

E 950 — ACESULFAAM K**Synoniemen**

Acesulfaamkalium, kaliumzout van 3,4-dihydro-6-methyl-2,2,4-trioxo-1,2,3-oxathiazine-3-ide

Definitie*Chemische naam*

6-methyl-1,2,3-oxathiazine-4(3H)-on-2,2-dioxide, kaliumzout

Einecs-nummer

259-715-3

E-nummer

E 950

Molecuulformule $C_4H_4NO_4SK$ *Relatieve molecuulmassa*

201,24

*Gehalte*Minimaal 99 % en maximaal 101 % $C_4H_4NO_4SK$ (watervrij)**Beschrijving**

Wit kristallijn poeder zonder geur en met een intens zoete smaak. Ongeveer 200 maal zo zoet als sucrose

Eigenschappen*A. Oplosbaarheid*

Zeer goed oplosbaar in water, zeer slecht oplosbaar in ethanol

*B. UV-absorptie*Maximum bij 227 ± 2 nm voor een oplossing van 10 mg in 1 000 ml water**Zuiverheid***Gewichtsverlies bij drogen*

Maximaal 1 % (105 °C, 2 uur)

<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof
<i>Fluoride</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

E 951 — ASPARTAAM	
Synoniemen	Aspartyl-fenylalanine-methylester
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	N-L- α -aspartyl-L-fenylalanine-1-methylester, 3-amino-N-(α -carbomethoxy-fenethyl)-succinamidezuur-N-methylester *
<i>Einecs-nummer</i>	245-261-3
<i>E-nummer</i>	E 951
<i>Molekuulformule</i>	$C_{14}H_{18}N_2O_5$
<i>Relatieve molekuulmassa</i>	294,31
<i>Gehalte</i>	Minimaal 98 % en maximaal 102 % $C_{14}H_{18}N_2O_5$ (watervrij)
Beschrijving	Wit kristallijn poeder zonder geur en met een zoete smaak. Ongeveer 200 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>Oplosbaarheid</i>	Slecht oplosbaar in water en in ethanol
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 4,5 % (105 °C, 4 uur)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,2 % van de droge stof
<i>pH</i>	Tussen 4,5 et 6,0 (oplossing 1:125)
<i>Transmissie</i>	De transmissie van een oplossing van 1 % in 2N zoutzuur, bepaald in een spectrofotometer met een cel van 1 cm bij 430 nm met 2N zoutzuur als referentie, moet minimaal 0,95 zijn, hetgeen overeenkomt met een absorptie van maximaal ongeveer 0,022
<i>Specifieke draaiing</i>	(α) _D ²⁰ tussen + 14,5° en + 16,5° Binnen 30 min. na bereiding van de monsteroplossing bepalen in een 4%-oplossing in 15N mierzuur
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof

<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
<i>5-Benzyl-3,6-dioxo-2-piperazineazijn-zuur</i>	Maximaal 1,5 % van de droge stof

E 952 — CYCLAAMZUUR EN Na- EN Ca- ZOUTEN DAARVAN

I) CYCLAAMZUUR

Synoniemen	Cyclohexylsulfaminezuur, cyclamaat
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	Cyclohexylsulfaminezuur, cyclohexylaminosulfonzuur
<i>Einecs-nummer</i>	202-898-1
<i>E-nummer</i>	E 952
<i>Molecuulformule</i>	$C_6H_{13}NO_3S$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	179,24
<i>Gehalte</i>	Minimaal 98 % en maximaal 102 % $C_6H_{13}NO_3S$ (watervrij)
Beschrijving	Vrijwel kleurloos wit kristallijn poeder met een zoetzure smaak. Ongeveer 40 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>A. Oplosbaarheid</i>	Oplosbaar in water en in ethanol
<i>B. Neerslagtest</i>	Zuur een oplossing van 2 % aan met zoutzuur, voeg 1 ml van een ongeveer molaire oplossing van bariumchloride in water toe en filtreer als er een troebeling of neerslag ontstaat. Voeg aan de heldere oplossing 1 ml van een natriumnitrietoplossing van 10 % toe. Er ontstaat een witte neerslag
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 1 % (105 °C, 1 uur)
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof, uitgedrukt als seleen
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als lood
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Cyclohexylamine</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>Dicyclohexylamine</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Aniline</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof

II. NATRIUMCYCLAMAAT

Synoniemen	Cyclamaat, natriumzout van cycloamzuur
Definitie	
Chemische naam	Natriumcyclohexaansulfamaat, natriumcyclohexylsulfamaat
Einecs-nummer	205-348-9
E-nummer	E-952
Molecuulformule	$C_6H_{12}NNaO_3S$ en $C_6H_{12}NNaO_3S \cdot 2H_2O$ (dihydraat)
Relatieve molecuulmassa	201,22 (watervrij) 237,22 (dihydraat)
Gehalte	Minimaal 98 % en maximaal 102 % (watervrij) Dihydraat: minimaal 84 % (watervrij)
Beschrijving	Witte geurloze kristallen of kristallijn poeder. Ongeveer 30 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
Oplosbaarheid	Oplosbaar in water, vrijwel onoplosbaar in ethanol
Zuiverheid	
Gewichtsverlies bij drogen	Maximaal 1 % (105 °C, 1 uur) Maximaal 15,2 % (105 °C, 2 uur) voor het dihydraat
Seleen	Maximaal 30 mg/kg droge stof, uitgedrukt als seleen
Arseen	Maximaal 3 mg/kg droge stof
Lood	Maximaal 1 mg/kg droge stof
Zware metalen	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
Cyclohexylamine	Maximaal 10 mg/kg droge stof
Dicyclohexylamine	Maximaal 1 mg/kg droge stof
Aniline	Maximaal 1 mg/kg droge stof

III. CALCIUMCYCLAMAAT

Synoniemen	Cyclamaat, calciumzout van cycloamzuur
Definitie	
Chemische naam	Calciumbis(cyclohexaansulfamaat), calciumbis(cyclohexylsulfamaat)
Einecs-nummer	205-349-4
E-nummer	E 952
Molecuulformule	$C_{12}H_{24}CaN_2O_6S_2 \cdot 2H_2O$

<i>Relatieve molecuulmassa</i>	432,57
<i>Gehalte</i>	Minimaal 98 % en maximaal 101 % (watervrij)
Beschrijving	Witte kleurloze kristallen of kristallijn poeder. Ongeveer 30 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>Oplosbaarheid</i>	Oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 1 % (105 °C, 1 uur) Maximaal 8,5 % (140 °C, 4 uur) voor het dihydraat
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof, uitgedrukt als seleen
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
<i>Cyclohexylamine</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>Dicyclohexylamine</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Aniline</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof

E 954 — SACCHARINE EN Na-, K- EN Ca-Zouten

I. SACCHARINE

Definitie

<i>Chemische naam</i>	1,2-benzisothiazool-3(2H)-on-1,1-dioxide
<i>Einecs-nummer</i>	201-321-0
<i>E-nummer</i>	E 954
<i>Molecuulformule</i>	C ₇ H ₅ NO ₃ S
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	183,18
<i>Gehalte</i>	Minimaal 99 % en maximaal 101 % C ₇ H ₅ NO ₃ S (watervrij)
Beschrijving	Witte kristallen of wit kristallijn poeder zonder geur of met een zwakke aromatische geur en met een zoete smaak, ook in zeer verdunde oplossing. Ongeveer 300-500 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>Oplosbaarheid</i>	Slecht oplosbaar in water, oplosbaar in basische oplossingen en slecht oplosbaar in ethanol

Zuiverheid*Gewichtsverlies bij drogen*

Maximaal 1 % (105 °C, 2 uur)

Smelttraject

226 °C-230 °C

Arseen

Maximaal 3mg/kg droge stof

Seleen

Maximaal 30 mg/kg droge stof

Lood

Maximaal 1 mg/kg droge stof

Zware metalen

Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

Sulfaatas

Maximaal 0,2 % van de droge stof

Benzoëzuur en salicylzuur

Voeg aan 10 ml van een 5 %-oplossing, aangezuurd met 5 druppels azijnzuur, 3 druppels van een ongeveer molaire oplossing van ijzer(III)chloride in water toe. Er ontstaat geen neerslag en geen paarse kleur

o-Tolueensulfonamide

Maximaal 10 mg/kg droge stof

p-Tolueensulfonamide

Maximaal 10 mg/kg droge stof

p-Benzoëzuursulfonamide

Maximaal 25 mg/kg droge stof

Gemakkelijk te carboniseren stoffen

Geen

II. NATRIUMSACCHARINE**Synoniemen**

Saccharine, natriumzout van saccharine

Definitie*Chemische naam*

Natrium-o-benzoëzuursulfimide, natriumzout van 1,2-benzisothiazool-3(2H)-on-1,1-dioxide, dihydraat

Einecs-nummer

204-886-1

E-nummer

E 954

Molecuulformule $C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$ *Relatieve molecuulmassa*

241,19

*Gehalte*Minimaal 99 % en maximaal 101 % $C_7H_4NNaO_3S \cdot 2H_2O$ (watervrij)**Beschrijving**

Witte kristallen of wit kristallijn efflorescerend poeder zonder geur of met een zwakke geur en met een intens-zoete smaak, ook in zeer verdunde oplossing. In verdunde oplossing ongeveer 300-500 maal zo zoet als sucrose

Eigenschappen*Oplosbaarheid*

Goed oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol

Zuiverheid*Gewichtsverlies bij drogen*

Maximaal 15 % (120 °C, 4 uur)

<i>Arseen</i>	Maximaal 3mg/kg droge stof
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
<i>Benzoëzuur en salicylzuur</i>	Voeg aan 10 ml van een 5%-oplossing, aangezuurd met 5 druppels azijnzuur, 3 druppels van een ongeveer molaire oplossing van ijzer(III)chloride in water toe. Er ontstaat geen neerslag en geen paarse kleur
<i>o-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>P-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>P-Benzoëzuursulfonamide</i>	Maximaal 25 mg/kg droge stof
<i>Gemakkelijk te carboniseren stoffen</i>	Geen
III. CALCIUMSACCHARINE	
Synoniemen	Saccharine, calciumzout van saccharine
Definitie	
<i>Chemische naam</i>	Calcium-o-benzoëzuursulfimide, calciumzout van 1,2-benzisothiazool-3(2H)-on-1,1-dioxide, hydraat (2:7)
<i>Einecs-nummer</i>	229-349-0
<i>E-nummer</i>	E 954
<i>Molecuulformule</i>	$C_{14}H_8CaN_2O_6S_2 \cdot 3\frac{1}{2}H_2O$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	467,48
<i>Gehalte</i>	Minimaal 95 % $C_{14}H_8CaN_2O_6S_2$ (watervrij)
Beschrijving	Witte kristallen of wit kristallijn poeder zonder geur of met een zwakke geur en met een intens-zoete smaak, ook in zeer verdunde oplossing. In verdunde oplossing ongeveer 300-500 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>Oplosbaarheid</i>	Goed oplosbaar in water, oplosbaar in ethanol
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 13,5 % (120 °C, 4 uur)
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

<i>Bezoëzuur en salicylzuur</i>	Voeg aan 10 ml van een 5%-oplossing, aangezuurd met 5 druppels azijnzuur, 3 druppels van een ongeveer molaire oplossing van ijzer(III)chloride in water toe. Er ontstaat geen neerslag en geen paarse kleur
<i>o-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>p-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>p-Benzoëzuursulfonamide</i>	Maximaal 25 mg/kg droge stof
<i>Gemakkelijk te carboniseren stoffen</i>	Geen
IV. KALIUMSACCHARINE	
Synoniemen	Saccharine, kaliumzout van saccharine
<i>Definitie</i>	
<i>Chemische naam</i>	Kalium-o-benzoëzuursulfimide, kaliumzout van 1,2-benzisothiazool-3(2H)-on-1,1-dioxide, monohydraat
<i>Einecs-nummer</i>	
<i>E-nummer</i>	E 954
<i>Molecuulformule</i>	$C_7H_4KNO_3S \cdot H_2O$
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	239,77
<i>Gehalte</i>	Minimaal 99 % en maximaal 101 % $C_7H_4KNO_3S$ (watervrij)
Beschrijving	Witte kristallen of wit kristallijn poeder zonder geur of met een zwakke geur en met een intens-zoete smaak, ook in zeer verdunde oplossing. Ongeveer 300-500 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>Oplosbaarheid</i>	Goed oplosbaar in water, slecht oplosbaar in ethanol
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 8 % (120 °C, 4 uur)
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Seleen</i>	Maximaal 30 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 1 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb
<i>Bezoëzuur en salicylzuur</i>	Voeg aan 10 ml van een 5%-oplossing, aangezuurd met 5 druppels azijnzuur, 3 druppels van een ongeveer molaire oplossing van ijzer(III)chloride in water toe. Er ontstaat geen neerslag en geen paarse kleur
<i>o-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof
<i>p-Tolueensulfonamide</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof

p-Benzoëzuursulfonamide

Maximaal 25 mg/kg droge stof

Gemakkelijk te carboniseren stoffen

Geen

E 957 — THAUMATINE

Synoniemen

Definitie

Chemische naam

Thaumatine wordt verkregen door de zaadrokken van de vrucht van wild-type *Thaumatococcus danielli* (Benth) bij pH 2,5-4,0 met water te extraheren en bestaat voornamelijk uit de eiwitten thaumatine I en thaumatine II, alsmede kleine hoeveelheden plantenbestanddelen uit het uitgangsmateriaal

Einecs-nummer

258-822-2

E-nummer

E 957

Molecuulformule

Polypeptide met 207 aminozuren

Relatieve molecuulmassa

Thaumatine I 22209
Thaumatine II 22293

Gehalte

Minimaal 16 % stikstof (watervrij), d.w.z. minimaal 94 % eiwit (N × 5,8)

Beschrijving

Roomkleurig poeder zonder geur en met een intens-zoete smaak. Ongeveer 2 000-3 000 maal zo zoet als sucrose

Eigenschappen

Oplosbaarheid

Goed oplosbaar in water, onoplosbaar in aceton

Zuiverheid

Gewichtsverlies bij drogen

Maximaal 9 % (105 °C tot constant gewicht)

Koolhydraten

Maximaal 3,0 % van de droge stof

Sulfaatas

Maximaal 2,0 % van de droge stof

Aluminium

Maximaal 100 mg/kg droge stof

Arseen

Maximaal 3 mg/kg droge stof

Lood

Maximaal 3 mg/kg droge stof

Microbiologische criteria

Aerobe bacteriën totaal: maximaal 1 000 g
E. coli: afwezig in 1 g

E 959 — NEOHESPERIDINE DIHYDROCHALCON

Synoniemen

Neohesperidine DC, NHDC, hesperetine, dihydrochalcon-4'-β-D-neohesperidoside

Definitie

Chemische naam

2-O-α-L-rhamnopyranosyl-4'-β-D-glucopyranosylhesperetine dihydrochalcon, verkregen door katalytisch hydrogeneren van neohesperidine

<i>Einecs-nummer</i>	243-978-6 E-nummerE 959
<i>Molecuulformule</i>	C ₂₈ H ₃₆ O ₁₅
<i>Relatieve molecuulmassa</i>	612,6
<i>Gehalte</i>	Minimaal 96 % (watervrij)
Beschrijving	Gebroken wit kristallijn poeder zonder geur en met een karakteristieke intens-zoete smaak. Ongeveer 1 000-1 800 maal zo zoet als sucrose
Eigenschappen	
<i>A. Oplosbaarheid</i>	Goed oplosbaar in heet water, zeer slecht oplosbaar in koud water en vrijwel onoplosbaar in ether en benzeen
<i>B. UV-absorptie</i>	Maximum bij 282-283 nm voor een oplossing van 2 mg in 100 ml methanol
<i>C. Proef van Neu</i>	Los ongeveer 10 mg neohesperidine DC op in 1 ml methanol. Voeg 1 ml van een 1 %-oplossing van 2-aminoethyldifenylboraat in methanol toe. Er ontstaat een helder-gele kleur
Zuiverheid	
<i>Gewichtsverlies bij drogen</i>	Maximaal 11 % (105 °C, 3 uur)
<i>Sulfaatas</i>	Maximaal 0,2 % van de droge stof
<i>Arseen</i>	Maximaal 3 mg/kg droge stof
<i>Lood</i>	Maximaal 2 mg/kg droge stof
<i>Zware metalen</i>	Maximaal 10 mg/kg droge stof, uitgedrukt als Pb

ZESDE RICHTLIJN 95/32/EG VAN DE COMMISSIE

van 7 juli 1995

inzake voor de controle op de samenstelling van cosmetische produkten toe te passen analysemethoden

(Voor de EER relevante tekst)

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 76/768/EEG van de Raad van 27 juli 1976 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake cosmetische produkten⁽¹⁾, laatstelijk gewijzigd bij Richtlijn 94/32/EG van de Commissie⁽²⁾, inzonderheid op artikel 8, lid 1,

Overwegende dat bij Richtlijn 76/768/EEG in officiële controles op cosmetische produkten is voorzien, teneinde vast te stellen of de in de communautaire bepalingen betreffende de samenstelling van de cosmetische produkten vervatte voorwaarden in acht worden genomen;

Overwegende dat zo spoedig mogelijk alle noodzakelijke analysemethoden dienen te worden vastgesteld; dat daartoe met de vaststelling van bepaalde methoden in Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie⁽³⁾, gewijzigd bij Richtlijn 87/143/EEG⁽⁴⁾, in Richtlijn 82/434/EEG van de Commissie⁽⁵⁾, gewijzigd bij Richtlijn 90/207/EEG⁽⁶⁾, en in de Richtlijnen 83/514/EEG⁽⁷⁾, 85/490/EEG⁽⁸⁾ en 93/73/EEG⁽⁹⁾ van de Commissie vijf fasen zijn afgesloten; dat in dat verband een zesde fase wordt gevormd door de vaststelling van methoden voor, respectievelijk, de kwalitatieve en kwantitatieve analyse van benzoëzuur, 4-hydroxybenzoëzuur, sorbinezuur, salicylzuur en propionzuur in cosmetische produkten en de kwalitatieve en kwantitatieve analyse van hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether in cosmetische produkten.

Overwegende dat de in deze richtlijn vervatte maatregelen in overeenstemming zijn met het advies van het Comité voor de aanpassing van Richtlijn 76/768/EEG aan de technische vooruitgang,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN VASTGESTELD:

Artikel 1

De Lid-Staten nemen de nodige maatregelen om te bereiken dat bij de officiële controles van cosmetische produkten

— de kwalitatieve en kwantitatieve analyse van benzoëzuur, 4-hydroxybenzoëzuur, sorbinezuur, salicylzuur en propionzuur,

— de kwalitatieve en kwantitatieve analyse van hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether

volgens de in de bijlage beschreven methoden geschieden.

Artikel 2

1. De Lid-Staten doen de nodige wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 30 september 1996 aan deze richtlijn te voldoen. Zij stellen de Commissie daarvan onverwijld in kennis.

Wanneer de Lid-Staten deze bepalingen aannemen, wordt in die bepalingen naar de onderhavige richtlijn verwezen of wordt hiernaar verwezen bij de officiële bekendmaking van die bepalingen. De regels voor deze verwijzing worden vastgesteld door de Lid-Staten.

2. De Lid-Staten delen de Commissie de tekst van alle bepalingen van intern recht mede die zij op het onder deze richtlijn vallende gebied vaststellen.

Artikel 3

Deze richtlijn treedt in werking op de twintigste dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

Artikel 4

Deze richtlijn is gericht tot de Lid-Staten.

Gedaan te Brussel, 7 juli 1995.

Voor de Commissie

Emma BONINO

Lid van de Commissie

⁽¹⁾ PB nr. L 262 van 27. 9. 1976, blz. 169.

⁽²⁾ PB nr. L 181 van 15. 7. 1994, blz. 31.

⁽³⁾ PB nr. L 383 van 31. 12. 1980, blz. 27.

⁽⁴⁾ PB nr. L 57 van 27. 2. 1987, blz. 56.

⁽⁵⁾ PB nr. L 185 van 30. 6. 1982, blz. 1.

⁽⁶⁾ PB nr. L 108 van 28. 4. 1990, blz. 92.

⁽⁷⁾ PB nr. L 291 van 24. 10. 1983, blz. 9.

⁽⁸⁾ PB nr. L 295 van 7. 11. 1985, blz. 30.

⁽⁹⁾ PB nr. L 231 van 14. 9. 1993, blz. 34.

BIJLAGE

I. KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE ANALYSE VAN BENZOËZUUR, 4-HYDROXYBENZOËZUUR, SORBINEZUUR, SALICYLZUUR EN PROPIONZUUR IN COSMETICA**1. Doel en toepassingsgebied**

Dit voorschrift beschrijft de kwalitatieve en de kwantitatieve analyse van benzoëzuur, 4-hydroxybenzoëzuur, sorbinezuur, salicylzuur en propionzuur in cosmetica. Er worden afzonderlijke methoden beschreven voor de kwalitatieve analyse van deze conserveermiddelen, voor de kwantitatieve analyse van propionzuur en voor die van 4-hydroxybenzoëzuur, salicylzuur, sorbinezuur en benzoëzuur.

2. Definitie

De volgens deze methode bepaalde gehalten aan benzoëzuur, 4-hydroxybenzoëzuur, salicylzuur, sorbinezuur en propionzuur worden uitgedrukt als massapercentage van de vrije zuren in het produkt.

A. KWALITATIEVE ANALYSE**1. Beginsel**

Na zuur/base-extractie van de conserveermiddelen wordt het extract geanalyseerd met behulp van dunne-laagchromatografie (DLC) met derivatisering op de plaat. Afhankelijk van de resultaten wordt de identificatie bevestigd met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie of, in het geval van propionzuur, gaschromatografie.

2. Reagentia**2.1. Algemeen**

Alle reagentia moeten van analysekwaliteit zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van minstens vergelijkbare zuiverheid te zijn.

2.2. Aceton.**2.3. Diëthylether.****2.4. Acetonitril.****2.5. Toluëen.****2.6. n-Hexaan.****2.7. Paraffine, vloeibaar.****2.8. Zoutzuur, 4 M.****2.9. Kaliumhydroxide, 4 M in water.****2.10. Calciumchloride, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.****2.11. Lithiumcarbonaat, Li_2CO_3 .****2.12. 2-Broom-2'-acetonafon.****2.13. 4-Hydroxybenzoëzuur.****2.14. Salicylzuur.****2.15. Benzoëzuur.****2.16. Sorbinezuur.****2.17. Propionzuur.**

- 2.18. Referentieoplossingen
Bereid oplossingen van 0,1 % (m/v) (100 mg/100 ml) van elk van de vijf conserveermiddelen (2.13 t/m 2.17) in diëthylether (2.3).
- 2.19. Derivatiseringsreagens
Een oplossing van 0,5 % (m/v) 2-broom-2'-acetonafon (2.12) in acetonitril (2.4) (50 mg/10 ml). Deze oplossing moet wekelijks vers worden bereid en de koelkast worden bewaard.
- 2.20. Katalysatoroplossing
Een oplossing van 0,3 % (m/v) lithiumcarbonaat (2.11) in water (300 mg/100 ml). Deze oplossing moet vers worden bereid.
- 2.21. Loopvloeistof
Tolueen (2.5)/aceton (2.2) 20:0,05, v/v).
- 2.22. Vloeibare paraffine (2.7)/n-hexaan (2.6) (1:2, v/v).
3. **Apparatuur**
Gangbare laboratoriumuitrusting.
- 3.1. Waterbad, in staat de temperatuur op 60 °C te houden.
- 3.2. Ontwikkeltank.
- 3.3. UV-stralingsbron, 254 en 366 nm.
- 3.4. Dunne-laagplaten, kieselgel 60, zonder fluorescentie-indicator, 20 × 20 cm, laagdikte 0,25 mm met een concentreringszone van 2,5 × 20 cm (Merck 11845, of gelijkwaardig).
- 3.5. Injectiespuit, 10 µl.
- 3.6. Injectiespuit, 25 µl.
- 3.7. Oven, geschikt voor temperaturen tot 105 °C.
- 3.8. Glazen buizen met schroefdop, 50 ml.
- 3.9. Filtreerpapier, diameter 90 mm, Schleicher & Schüll, Weissband no. 5892, of gelijkwaardig.
- 3.10. Universeel pH-indicatorpapier, pH 1—11.
- 3.11. Glazen monsterflesjes (vials), 5 ml.
- 3.12. Rotatieverdamer (Rotavapor of gelijkwaardig).
- 3.13. Verwarmingsplaat.
4. **Werkwijze**
- 4.1. Monstervoorbereiding
Weeg in een 50 ml glazen buis met schroefdop (3.8) circa 1 g monster af. Voeg vier druppels zoutzuur 4 M (2.8) en 40 ml aceton (2.2) toe. Bij sterk alkalische produkten, zoals toiletzeep, moeten 20 druppels zoutzuur 4 M worden toegevoegd. Controleer met indicatorpapier (3.10) dat de pH ongeveer 2 is. Sluit de buis en schud krachtig gedurende 1 minuut.

Om de extractie van de conserveermiddelen in de acetonfase te bevorderen, kan het mengsel zonodig voorzichtig tot circa 60 °C verwarmd worden, zodat de vetfase smelt. Koel de oplossing af tot kamertemperatuur en filtreer over een papieren filter (3.9) in een erlenmeyer.

Breng 20 ml van het filtraat over in een erlenmeyer van 200 ml, voeg 20 ml water toe en meng. Breng de pH van het mengsel met kaliumhydroxide 4 M (2.9) op ongeveer 10; gebruik indicatorpapier (3.10) om de pH te bepalen.

Voeg 1 g calciumchloride (2.10) toe en schud krachtig. Filtreer over een papieren filter (3.9) in een scheitrechter van 250 ml die 75 ml diëthylether (2.3) bevat en schud krachtig gedurende 1 minuut. Wacht tot de fasen gescheiden zijn en verzamel de waterlaag in een erlenmeyer van 250 ml. Verwerp de etherlaag. Breng op geleide van indicatorpapier de pH van de waterige oplossing door toevoeging van zoutzuur 4 M op ongeveer 2. Voeg 10 ml diëthylether toe, sluit de kolf en schud krachtig gedurende 1 minuut. Wacht tot de fasen gescheiden zijn en breng de etherlaag over in een rotatieverdamer (3.12). Verwerp de waterlaag.

Damp de etherfractie in tot deze bijna droog is en los het residu op in 1 ml diëthylether (2.3). Breng de aldus verkregen oplossing over in een monsterflesje (3.11).

4.2. Dunne-laagchromatografie

Breng voor elk van de te chromatograferen referentieoplossingen en monsteroplossingen op de startlijn in de concentreringszone van een DLC-plaat (3.4) met een injectiespuit (3.5) op gelijke afstanden circa 3 μ l lithiumcarbonaatoplossing (2.20) op en droog de plaat in een koude luchtstroom.

Leg de DLC-plaat op een op 40 °C gebrachte verwarmingsplaat (3.13) teneinde de vlekken zo klein mogelijk te houden. Breng met een injectiespuit 10 μ l van elk van de referentieoplossingen (2.18) en van de monsteroplossingen (4.1) op de startlijn van de plaat op, exact op de plaatsen waar tevoren de lithiumcarbonaatoplossing is opgebracht.

Breng tenslotte op exact dezelfde plaatsen waar de referentieoplossingen, respectievelijk de monsteroplossingen en de lithiumcarbonaatoplossing zijn opgebracht circa 15 μ l derivatiseringsreagens (2.19) (oplossing van 2-broom-2'-acetonafon) op.

Verwarm de DLC-plaat gedurende 45 minuten in een oven (3.7) op 80 °C. Laat de plaat afkoelen en plaats hem in een ontwikkeltank (3.2) met loopvloeistof (2.21) (tolueen/aceton), die gedurende 15 minuten geconditioneerd is (zonder filtreerpapierbekleding). Ontwikkel de plaat tot het vloeistoffront een afstand van 15 cm heeft afgelegd (dit duurt circa 80 minuten).

Droog de plaat in een koude luchtstroom en bekijk de verkregen vlekken onder UV-licht (3.3). Om de fluorescentie van de zwakke vlekken te verbeteren kan de DLC-plaat in vloeibare paraffine/n-hexaan (2.22) worden gedompeld.

5. Identificatie

Bereken de R_f van de verkregen vlekken.

Vergelijk de R_f-waarde en het gedrag onder UV-bestraling van het monster met de resultaten van de referentieoplossingen.

Trek een voorlopige conclusie omtrent de identiteit van de aanwezige conserveermiddelen. Verricht de in deel B beschreven HPLC-analyse of, indien propionzuur aanwezig lijkt, de in deel C beschreven GC-analyse. Vergelijk de voor het monster verkregen retentietijden met die van de referentieoplossingen.

Bepaal aan de hand van de gecombineerde resultaten van DLC en HPLC of GC welke conserveermiddelen in het monster aanwezig waren.

B. KWANTITATIEVE ANALYSE VAN BENZOËZUUR, 4-HYDROXYBENZOËZUUR, SORBI-NEZUUR EN SALICYLZUUR

1. Beginsel

Het monster wordt na aanzuren geëxtraheerd met een mengsel van ethanol en water. Na filtratie worden de conserveermiddelen kwantitatief bepaald met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie (HPLC).

2. Reagentia

2.1. Alle reagentia moeten van analysekwaliteit en waar van toepassing geschikt voor HPLC zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van minstens vergelijkbare zuiverheid te zijn.

2.2. Ethanol, absoluut.

2.3. 4-Hydroxybenzoëzuur.

- 2.4. Salicylzuur.
- 2.5. Benzoëzuur.
- 2.6. Sorbinezuur.
- 2.7. Natriumacetaat ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$).
- 2.8. Azijnzuur, $d_4^{20} = 1,05$ g/ml.
- 2.9. Acetonitril.
- 2.10. Zwavelzuur, 2 M.
- 2.11. Kaliumhydroxide, 0,2 M in water.
- 2.12. 2-Methoxybenzoëzuur.
- 2.13. Ethanol/watermengsel
Meng negen volumedelen ethanol (2.2) met één volumedeel water (2.1)
- 2.14. Interne-standaardoplossing
Bereid een oplossing van circa 1 g 2-methoxybenzoëzuur (2.12) in 500 ml ethanol/watermengsel (2.13)
- 2.15. Mobiele fase voor HPLC
- 2.15.1. Acetaatbuffer: voeg aan 1 liter water 6,35 g natriumacetaat (2.7) en 20 ml azijnzuur (2.8) toe.
- 2.15.2. Bereid de mobiele fase door negen volumedelen acetaatbuffer (2.15.1) te mengen met één volumedeel acetonitril (2.9).
- 2.16. Stamoplossing conserveermiddelen
Weeg in een maatkolf van 50 ml ongeveer 0,05 g 4-hydroxybenzoëzuur (2.3), 0,2 g salicylzuur (2.4), 0,2 g benzoëzuur (2.5) en 0,05 g sorbinezuur (2.6) nauwkeurig af en vul aan met ethanol/watermengsel (2.13). Bewaar de oplossing in de koelkast. Deze oplossing is een week houdbaar.
- 2.17. Standaardoplossingen conserveermiddelen
Breng respectievelijk 8, 4, 2, 1 en 0,5 ml van de stamoplossing (2.16) over in maatkolven van 20 ml. Voeg telkens 10 ml interne-standaardoplossing (2.14) en 0,5 ml zwavelzuur 2 M (2.10) toe. Vul aan met ethanol/watermengsel (2.13). Deze oplossingen moeten vers worden bereid.
3. **Apparatuur**
Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede
- 3.1. Waterbad, 60 °C.
- 3.2. Hogedruk-vloeistofchromatograaf, voorzien van een variabele golflengte UV-detector en een injectielus van 10 μl .
- 3.3. Analytische kolom
Roestvrij staal, lengte 12,5-25 cm, inwendige diameter 5,6 mm, gepakt met Nucleosil 5C18, of gelijkwaardig.
- 3.4. Filtrepapier, diameter 90 mm, Schleicher & Schüll, Weissband no. 5892, of gelijkwaardig.
- 3.5. Glazen buizen met schroefdop, 50 ml.

3.6. Glazen monsterflesjes (vials), 5 ml.

3.7. Kooksteentjes, carborundum, afmeting 2-4 mm, of gelijkwaardig.

4. Werkwijze

4.1. Monstervoorbereiding

4.1.1. Monstervoorbereiding zonder toevoeging van de interne standaard.

Weeg in een 50 ml glazen buis met schroefdop (3.5) 1 g van het monster af. Pipetteer 1 ml zwavelzuur 2 M (2.10) en vervolgens 40 ml ethanol/watermengsel (2.13) in de buis. Voeg circa 1 g kooksteentjes (3.7) toe, sluit de buis en schud krachtig gedurende ten minste 1 minuut tot een homogene suspensie is verkregen. Plaats de buis gedurende precies 5 minuten in een waterbad (3.1) op 60 °C om de extractie van de conserveermiddelen naar de ethanolfase te bevorderen.

Koel de buis hierna onmiddellijk onder koud stromend water en laat het extract gedurende 1 uur bij 5 °C staan.

Filtreer het extract over een papieren filter (3.4). Breng circa 2 ml van het filtraat over in een monsterflesje (3.6). Bewaar het extract bij 5 °C en voer de HPLC-bepaling binnen 24 uur na de bereiding van het extract uit.

4.1.2. Monstervoorbereiding met toevoeging van de interne standaard.

Weeg in een 50 ml glazen buis met schroefdop ($1 \pm 0,1$ g monster op drie cijfers na de komma af (= a g). Pipetteer 1 ml zwavelzuur 2 M (2.10) en vervolgens 30 ml ethanol/watermengsel (2.13) in de buis. Voeg circa 1 g kooksteentjes (3.7) en 10 ml interne-standaardoplossing (2.14) toe. Sluit de buis en schud krachtig gedurende tenminste 1 minuut tot een homogene suspensie is verkregen. Plaats de buis gedurende precies 5 minuten in een waterbad op 60 °C (3.1) om de extractie van de conserveermiddelen naar de ethanolfase te bevorderen. Koel de buis hierna onmiddellijk onder koud stromend water en laat het extract gedurende 1 uur bij 5 °C staan.

Filtreer het extract over een papieren filter (3.4). Breng circa 2 ml van het filtraat over in een monsterflesje (3.6). Bewaar het filtraat bij 5 °C en voer de HPLC-bepaling binnen 24 uur na de bereiding van het extract uit.

4.2. HPLC

Mobiele fase: acetonitril/acetaatbuffer (2.15).

Stel het debiet van de mobiele fase door de kolom in op $2 \pm 0,5$ ml/minuut. Stel de detectorgolfhoogte in op 240 nm.

4.2.1. Ijklijn

Injecteer achtereenvolgens 10 µl van elk van de standaard-conserveermiddeloplossingen (2.17) in de vloeistofchromatograaf (3.2). Bepaal in de verkregen chromatogrammen de verhouding tussen de piekhoogtes van de onderzochte conserveermiddelen en die van de interne standaard. Maak voor elk conserveermiddel een ijklijn door de aldus bepaalde verhoudingen uit te zetten tegen de concentratie van het conserveermiddel een ijklijn door de aldus bepaalde verhoudingen uit te zetten tegen de concentratie van het conserveermiddel in de respectievelijke standaardoplossingen.

Controleer dat hierbij een lineaire afhankelijkheid wordt verkregen.

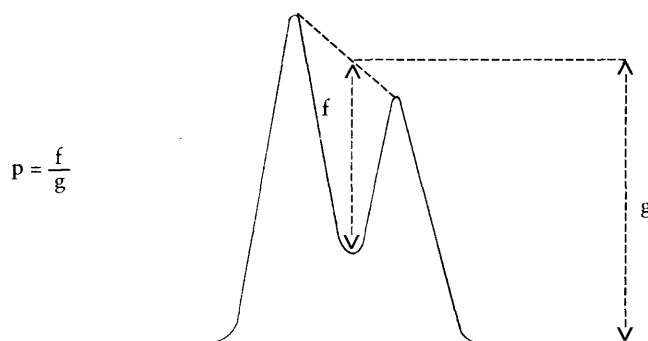
4.2.2. Bepaling

Injecteer 10 µl van het geëxtraheerde monster (4.1.1) in de vloeistofchromatograaf en neem het chromatogram op. Injecteer 10 µl van één van de standaardoplossingen conserveermiddelen (2.17) en neem het chromatogram op. Vergelijk de beide chromatogrammen. Als er in het chromatogram van het monster (4.1.1) geen pieken aanwezig zijn met ongeveer dezelfde retentietijd als 2-methoxybenzoëzuur (aanbevolen interne standaard), injecteer dan 10 µl van het extract met toegevoegde interne standaard (4.1.2) in de vloeistofchromatograaf en neem het chromatogram op.

Indien in het chromatogram van het monster (4.1.1) een piek optreedt met dezelfde retentietijd als 2-methoxybenzoëzuur, moet een andere geschikte interne standaard gekozen worden (indien één van de onderzochte conserveermiddelen niet in het chromatogram verschijnt, kan dit conserveermiddel als interne standaard gebruikt worden).

Ga na dat de met de standaardoplossingen en de monsteroplossing verkregen chromatogrammen aan de volgende voorwaarden voldoen:

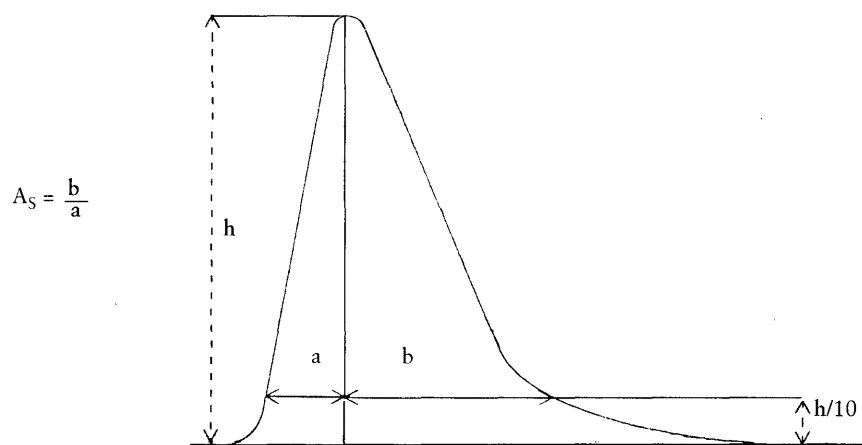
- de piekscheiding van het slechts gescheiden paar moet ten minste 0,90 zijn (voor een definitie van de piekscheiding zie figuur 1);



Figuur 1: piekscheiding

Indien de vereiste scheiding niet wordt verkregen, moet een efficiëntere kolom worden gebruikt of moet de samenstelling van de mobiele fase worden aangepast tot dit wel het geval is.

- de asymmetriefactor A_s van alle verkregen pieken moet tussen 0,9 en 1,5 liggen (voor een definitie van de piekasymmetriefactor zie figuur 2). Voor het bepalen van de asymmetriefactor wordt het aanbevolen het chromatogram met een papersnelheid van minimaal 2 cm/minuut op te nemen;



Figuur 2: piekasymmetriefactor

- er moet een vlakke basislijn worden verkregen.

5. Berekening

Bepaal met behulp van de ijkgrafiek de concentratie van de conserveermiddelen in het monster uit de verhoudingen van de piekhoogtes van de onderzochte conserveermiddelen tot die van 2-methoxybenzoëzuur (interne standaard). Bereken het gehalte aan benzoëzuur, 4-hydroxybenzoëzuur, sorbinezuur of salicylzuur in het monster in massaprocenten (x_i) met de volgende formule:

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

b = concentratie ($\mu\text{g/ml}$) van het conserveermiddel in het monsterextract (4.1.2), zoals afgelezen uit de ijkgrafiek;

a = monsterinweeg (g) (4.1.2).

6. Herhaalbaarheid ⁽¹⁾

Bij een gehalte aan 4-hydroxybenzoëzuur van 0,40 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,035 % bedragen.

Bij een gehalte aan benzoëzuur van 0,50 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,050 % bedragen.

Bij een gehalte aan salicylzuur van 0,50 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,045 % bedragen.

Bij een gehalte aan sorbinezuur van 0,60 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,035 % bedragen.

7. Opmerkingen

7.1. Uit een op de methode uitgevoerde robuustheidstest is gebleken dat de bij de extractie van de zuren uit het monster gebruikte hoeveelheid zwavelzuur kritiek is; tevens moeten de voor de op te werken hoeveelheid monster aangegeven grenzen nauwgezet worden aangehouden.

7.2. Desgewenst kan een geschikte guardkolom gebruikt worden.

C. KWANTITATIEVE ANALYSE VAN PROPIONZUUR**1. Doel en toepassingsgebied**

Deze methode beschrijft de kwantitatieve analyse van propionzuur tot een maximumconcentratie van 2 % (m/m) in cosmetica.

2. Definitie

De volgens deze methode bepaalde propionzuurconcentratie wordt uitgedrukt als massapercentage (% m/m) van het produkt.

3. Beginsel

Na extractie van het propionzuur uit het produkt wordt het gehalte bepaald met behulp van gaschromatografie (GC) met 2-methylpropionzuur als interne standaard.

4. Reagentia

Alle reagentia moeten van analysekwaliteit zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van gelijkwaardige kwaliteit te zijn.

4.1. Ethanol 96 % (v/v).

4.2. Propionzuur.

4.3. 2-Methylpropionzuur.

4.4. Orthofosforzuur, 10 % (m/v).

4.5. Propionzuuroplossing

Weeg in een maatkolf van 50 ml circa 1 g propionzuur nauwkeurig af (= p g) en vul aan met ethanol (4.1).

4.6. Interne-standaardoplossing

Weeg in een maatkolf van 50 ml circa 1 g 2-methylpropionzuur nauwkeurig af (= e g) en vul aan met ethanol (4.1).

⁽¹⁾ Volgens ISO 5725.

5. **Apparatuur**

Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede

- 5.1. Gaschromatograaf met vlamionisatiedetector.
- 5.2. Glazen buis (20 % × 150 mm) met schroefdop.
- 5.3. Waterbad, 60 °C.
- 5.4. Glazen injectiespuit, 10 ml, met membraanfilter (poriëndiameter 0,45 µm).

6. **Werkwijze**6.1. **Monstervoorbereiding**6.1.1. **Monstervoorberiding zonder interne standaard**

Weeg in een glazen buis (5.2) circa 1 g monster af. Voeg 0,5 ml orthofosforzuur (4.4) en 9,5 ml ethanol (4.1) toe. Sluit de buis en schud krachtig. Plaats de buis zonodig gedurende 5 minuten in een waterbad op 60 °C (5.3) om de vetfase volledig op te lossen. Koel snel af onder stromend water.

Filtreer een deel van de oplossing over een membraanfilter (5.4). Chromatografeer het filtraat nog dezelfde dag.

6.1.2. **Monstervoorbereiding met interne standaard**

Weeg in een glazen buis (5.2) $1 \pm 0,1$ g monster tot op drie cijfers achter de komma af (= a g). Voeg 0,5 ml orthofosforzuur (4.4), 0,5 ml interne-standaardoplossing (4.6) en 9 ml ethanol (4.1) toe. Sluit de buis en schud krachtig. Plaats de buis zonodig gedurende 5 minuten in een waterbad op 60 °C (5.3) om de vetfase op te lossen. Koel snel af onder stromend water.

Filtreer een deel van de oplossing over een membraanfilter (5.4). Chromatografeer het filtraat nog dezelfde dag.

6.2. **Conditie voor gaschromatografie**

De volgende condities worden aanbevolen:

Kolom

Materiaal	roestvrij staal
Lengte	2 m
Diameter	1/8"
Vulling	10 % P TM 1000 (of (gelijkwaardig) + 1 % H ₃ PO ₄ , op Chromo-sorb WAW 100-120 mesh

Temperatuur

Injector	200 °C
Kolom	120 °C
Detector	200 °C

Dragergas

stikstof
Debiet 25 ml/min.

6.3. **Chromatografie**6.3.1. **Ijklijn**

Pipetteer in maatkolven van 20 ml respectievelijk 0,25, 0,5, 1, 2 en 4 ml propionzuuroplossing (4.5). Pipetter in elke maatkolf 1 ml interne standaardoplossing (4.6), vul aan met ethanol (4.1) en meng. De aldus verkregen oplossingen bevatten e mg/ml 2-methylpropionzuur als interne standaard (d.w.z. 1 mg/ml als e = 1,000) en p/4, p/2, p, 2p en 4p mg/ml propionzuur (d.w.z. 0,25, 0,5, 1, 2 en 4 mg/ml als p = 1,000).

Injecteer achtereenvolgens 1 µl van elk van deze oplossingen in de gaschromatograaf en construeer de ijklijn door de verhouding van de piekoppervlaktes van propionzuur en 2-methylpropionzuur uit te zetten tegen de overeenkomstige massaverhouding.

Injecteer elke oplossing drie maal en bereken de gemiddelde verhouding van de piekoppervlakten.

6.3.2. Bepaling

Injecteer 1 µl van het volgens 6.1.1 verkregen filtraat. Vergelijk het chromatogram met dat van één van de standaardoplossingen (6.3.1). Als er een piek aanwezig is met ongeveer dezelfde retentietijd als 2-methylpropionzuur moet een andere interne standaard gekozen worden. Injecteer als er geen interferentie is 1 µl van het volgens 6.1.2 bereide filtraat en bepaald de oppervlakten van de propionzuurpiek en de piek van de interne standaard.

Injecteer elke oplossing drie maal en bereken de gemiddelde verhouding van de piekoppervlakten.

7. Berekening

7.1. Lees uit de in 6.3.1 verkregen ijkgrafiek de massaverhouding (K) af die overeenkomt met de volgens 6.3.2 berekende verhouding van de piekoppervlakten.

7.2. Bereken uit de aldus verkregen massaverhouding het propionzuurgehalte van het monster (X) als massapercentage met behulp van de volgende formule:

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

waarbij

K = de in 7.1 gevonden verhouding;

a = massa (g) afgewogen van de interne standaard (4.6);

e = massa (g) van het ingewogen monster (6.1.2).

Rond de resultaten af tot op een cijfer na de komma.

8. Herhaalbaarheid ⁽¹⁾

Bij een propionzuurgehalte van 2 % (m/m) mag het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,12 % bedragen.

II. KWALITATIEVE EN KWANTITATIEVE ANALYSE VAN HYDROCHINON, HYDROCHINON-MONOMETHYLETHER, HYDROCHINONMONOËTHYLETHER EN HYDROCHINONMONOBENZYLETHER IN COSMETICA

A. IDENTIFICATIE

1. Doel en toepassingsgebied

Deze methode beschrijft de kwalitatieve analyse van hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether (monobenzon) in huidbleekmiddelen.

2. Beginsel

Hydrochinon en de ethers daarvan worden aangetoond met behulp van dunne-laagchromatografie (DLC).

3. Reagentia

Alle reagentia moeten van analysekwaliteit zijn.

⁽¹⁾ Volgens ISO 5725.

- 3.1. Ethanol, 96 % (v/v).
- 3.2. Chloroform.
- 3.3. Diëthylether.
- 3.4. Loopvloeistof
Chloroform/diëthylether, 66:33 (v/v).
- 3.5. Ammonia, 25 % (m/m) ($d_4^{20} = 0,91$ g/ml).
- 3.6. Ascorbinezuur.
- 3.7. Hydrochinon.
- 3.8. Hydrochinonmonomethylether.
- 3.9. Hydrochinonmonoëthylether.
- 3.10. Hydrochinonmonobenzylether (monobenzon).
- 3.11. Referentieoplossingen
- Onderstaande referentieoplossingen moeten vers worden bereid en zijn gedurende één dag houdbaar.
- 3.11.1. Weeg 0,05 g hydrochinon (3.7) af in een reageerbuis van 10 ml met maatverdeling. Voeg 0,250 g ascorbinezuur (3.6) en 5 ml ethanol (3.1) toe. Voeg ammonia (3.5) toe tot de pH 10 is en vul aan met ethanol (3.1) tot een volume van 10 ml.
- 3.11.2. Weeg 0,05 g hydrochinonmonomethylether (3.8) af in een reageerbuis van 10 ml met maatverdeling. Voeg 0,250 g ascorbinezuur (3.6) en 5 ml ethanol (3.1) toe. Voeg ammonia (3.5) toe tot de pH 10 is en vul aan met ethanol (3.1) tot een volume van 10 ml.
- 3.11.3. Weeg 0,05 g hydrochinonmonoëthylether (3.9) af in een reageerbuis van 10 ml met maatverdeling. Voeg 0,250 g ascorbinezuur (3.6) en 5 ml ethanol (3.1) toe. Voeg ammonia (3.5) toe tot de pH 10 is en vul aan met ethanol (3.1) tot een volume van 10 ml.
- 3.11.4. Weeg 0,05 g hydrochinonmonobenzylether (3.10) af in een reageerbuis van 10 ml met maatverdeling. Voeg 0,250 g ascorbinezuur (3.6) en 5 ml ethanol (3.1) toe. Voeg ammonia (3.5) toe tot de pH 10 is en vul aan met ethanol (3.1) tot een volume van 10 ml.
- 3.12. Zilvernitraat.
- 3.13. 12-Molybdofosforzuur.
- 3.14. Kaliumferricyanide-hexahydraat.
- 3.15. Ferrichloride-hexahydraat.
- 3.16. Sproeireagentia
- 3.16.1. Voeg aan een 5 % (m/v) oplossing van zilvernitraat (3.12) in water ammonia (3.5) toe tot het gevormde neerslag weer oplost.
- Waarschuwing:
- De oplossing kan na verloop van tijd ontleden en explosief worden en moet daarom na gebruik worden weggegooid.
- 3.16.2. 10 % (m/v) oplossing van 12-molybdofosforzuur (3.13) in ethanol (3.1).

- 3.16.3. Bereid een 1 % (m/v) oplossing van kaliumferricyanide (3.14) in water en een 2 % (m/v) oplossing van ferrichloride (3.15) in water. Meng vlak voor het gebruik gelijke delen van beide oplossingen.

4. Apparatuur

Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede

- 4.1. Gebruikelijke DLC-uitrusting.
- 4.2. DLC-platen, gebruiksklaar: silicagel GHR/UV₂₅₄, 20 cm × 20 cm (Machery-Nagel of gelijkwaardig), laagdikte 0,25 mm.
- 4.3. Ultrasoonbad.
- 4.4. Centrifuge.
- 4.5. UV-lamp, 254 nm.

5. Werkwijze

5.1. Monstervoorbereiding

Weeg 3 g monster af in een reageerbuis van 10 ml met maatverdeling. Voeg 0,250 g ascorbinezuur (3.6) en 5 ml ethanol (3.1) toe. Breng de oplossing met ammonia (3.5) op een pH van 10. Vul aan met ethanol (3.1) tot 10 ml. Sluit de buis met een stop en homogeniseer gedurende 10 minuten in een ultrasoonbad. Filtreer over een papieren filter of centrifugeer bij 3 000 toeren/min.

5.2. Dunne-laagchromatografie

5.2.1. Verzaadig een chromatografiebak met loopvloeistof (3.4).

5.2.2. Breng op een plaat 2 µl van elk van de referentieoplossingen (3.11) en 2 µl monsteroplossing (5.1) op. Ontwikkel de plaat bij kamertemperatuur in het donker, totdat het vloeistoffront een afstand van 15 cm heeft afgelegd.

5.2.3. Neem de plaat uit de bak en laat hem bij kamertemperatuur drogen.

5.3. Detectie

5.3.1. Inspecteer de plaat onder UV-licht van 254 nm en markeer de plaats van de vlekken.

5.3.2. Besproei de plaat met

- zilvernitraatreagens (3.16.1), of
- 12-molybdofosforzuurreagens (3.16.2) en verwarm tot circa 120 °C, of
- kaliumferricyanideoplossing en ferrichlorideoplossing (3.16.3).

6. Identificatie

Bereken de R_f-waarde van de verschillende vlekken.

Vergelijk de met de monsteroplossing verkregen vlekken met die van de referentieoplossingen daarbij lettend op de R_f-waarden, de kleur van de vlekken onder UV-bestraling en de kleur na zichtbaar maken met sporeireagens.

Voer de in het volgende onderdeel (B) beschreven HPLC-bepaling uit en vergelijk de met het monster verkregen retentietijden met die van de referentieoplossingen.

Bepaal aan de hand van de gecombineerde resultaten van DLC en HPLC of hydrochinon en/of ethers daarvan aanwezig zijn.

7. Opmerkingen

Onder de beschreven omstandigheden werden de volgende R_f-waarden verkregen:

hydrochinon	0,32
hydrochinonmonomethylether	0,53
hydrochinonmonoëthylether	0,55
hydrochinonmonobenzylether	0,58

B. KWANTITATIEVE ANALYSE

1. Doel en toepassingsgebied

Deze methode beschrijft een werkwijze voor de kwantitatieve analyse van hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether in huidbleekmiddelen.

2. Beginsel

Het monster wordt met een water/methanolmengsel geëxtraheerd, onder voorzichtig verwarmen om eventuele vetten te doen smelten. De kwantitatieve analyse van de te bepalen stoffen in de verkregen oplossing wordt uitgevoerd met behulp van reversed phase vloeistofchromatografie met UV-detectie.

3. Reagentia

3.1. Alle reagentia moeten van analysekwaliteit zijn. Het gebruikte water dient gedestilleerd water of water van minstens gelijkwaardige zuiverheid te zijn.

3.2. Methanol.

3.3. Hydrochinon.

3.4. Hydrochinonmonomethylether.

3.5. Hydrochinonmonoëthylether.

3.6. Hydrochinonmonobenzylether (monobenzon).

3.7. Tetrahydrofuran, geschikt van HPLC.

3.8. Water/methanolmengsel 1:1 (v/v). Meng één volumedeel water met één volumedeel methanol (3.2).

3.9. Mobiele fase: tetrahydrofuran/watermengsel 45:55 (v/v). Meng 45 volumedelen tetrahydrofuran (3.7) met 55 volumedelen water.

3.10. Standaardoplossing

Weeg in een maatkolf van 50 ml 0,06 g hydrochinon (3.3), 0,08 g hydrochinonmonomethylether (3.4), 0,1 g hydrochinonmonoëthylether (3.5) en 0,12 g hydrochinonmonobenzylether (3.6) af. Los op en vul aan met methanol (3.2). Bereid de standaardoplossing door 10 ml van deze oplossing met water/methanolmengsel (3.8) tot 50 ml te verdunnen. Deze oplossingen moeten vers worden bereid.

4. Apparatuur

Gangbare laboratoriumuitrusting, alsmede

4.1. Waterbad, in staat de temperatuur op 60 °C te houden.

4.2. Hogedruk-vloeistofchromatograaf, voorzien van een UV-detector met variabele golflengte en een injectielus van 10 µl.

4.3. Analytische kolom

Roestvrijstalen chromatografiekolom, lengte 250 mm, inwendige diameter 4,6 mm, gepakt met Zorbax phenyl (chemisch gebonden fenethylsilaan op Zorbax SIL, end-capped met trimethyl-

chloorsilaan), deeltjesgrootte 6 μm , of gelijkwaardig. Gebruik geen guardkolom, behalve een fenylguard, of gelijkwaardig.

- 4.4. Filtreerpapier, diameter 90 mm, Schleicher & Schüll, Weissband No. 5892, of gelijkwaardig.

5. Werkwijze

5.1. Monstervoorbereiding

Weeg in een maatkolf van 50 ml $1 \pm 0,1$ g monster tot op drie cijfers achter de komma af (= a g). Dispergeer het monster in 25 ml water/methanolemengsel (3.8). Sluit de kolf en schud krachtig tot een homogene suspensie is verkregen. Schud ten minste 1 minuut. Plaats de kolf in een waterbad (4.1) bij 60 °C om de extractie te bevorderen. Koel de kolf en vul aan met water/methanolemengsel (3.8). Filtreer het extract over een papieren filter (4.4). Voer de HPLC-bepaling binnen 24 uur na bereiding van het extract uit.

5.2. HPLC

- 5.2.1. Stel het debiet van de mobiele fase (3.9) op 1 ml/min. en de detectorgolf lengte op 295 nm in.

- 5.2.2. Injecteer 10 μl van de volgens 5.1 verkregen monsteroplossing en neem het chromatogram op. Bepaal de oppervlakten van de pieken. Voer een ijking uit als beschreven in 5.2.3. Vergelijk de chromatogrammen van het monster en de standaardoplossingen. Bepaal aan de hand van de piekoppervlakten en de responsfactoren (RF), berekend als aangegeven in 5.2.3, de concentratie van de te analyseren stoffen in de monsteroplossing.

5.2.3. Ijking

Injecteer 10 μl standaardoplossing (3.10) en neem het chromatogram op. Herhaal de meting enige malen, totdat een constante piekoppervlakte wordt verkregen.

Bepaal de responsfactor RF:

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

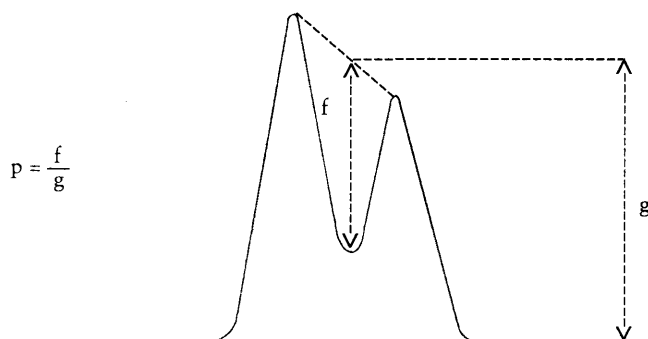
waarbij

p_i = piekoppervlakte van respectievelijk hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether;

c_i = concentratie (in g/50 ml) van respectievelijk hydrochinon, hydrochinonmonomethylether, hydrochinonmonoëthylether en hydrochinonmonobenzylether in de standaardoplossing (3.10);

Ga na dat de met de standaardoplossing en de monsteroplossing verkregen chromatogrammen aan de volgende voorwaarden voldoen:

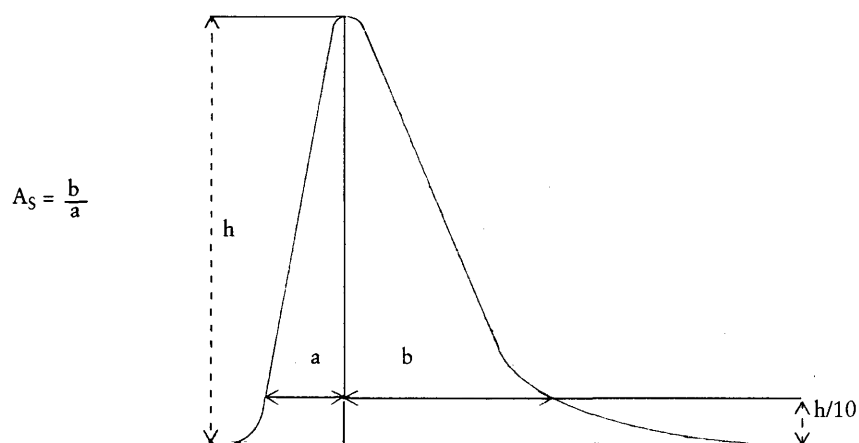
- de piekscheiding van het slechtst gescheiden paar moet minimaal 0,90 zijn (voor een definitie van de piekscheiding zie figuur 1);



Figuur 1: piekscheiding

Indien de vereiste scheiding niet wordt verkregen, moet een efficiëntere kolom worden gebruikt of moet de samenstelling van de mobiele fase worden aangepast tot dit wel het geval is.

- de asymmetriefactor A_s van alle verkregen pieken moet tussen 0,9 en 1,5 liggen (voor een definitie van de piekasymmetriefactor zie figuur 2). Voor het bepalen van de asymmetriefactor wordt het aanbevolen het chromatogram met een papersnelheid van minimaal 2 cm/minuut op te nemen;



Figuur 2: piekasymmetriefactor

- er moet een vlakke basislijn worden verkregen.

6. Berekening

Bereken aan de hand van de piekoppervlakten de concentratie(s) van de te bepalen stof(fen) in het monster. Bereken de concentratie (x_i) als massapercentage met de formule

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

waarbij

a = massa (g) van het ingewogen monster;

b_i = piekoppervlakte van component i van het monster.

7. Herhaalbaarheid ⁽¹⁾

- 7.1. Bij een gehalte aan hydrochinon van 2 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,13 % bedragen.
- 7.2. Bij een gehalte aan hydrochinonmonomethylether van 1 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,1 % bedragen.
- 7.3. Bij een gehalte aan hydrochinonmonoëthylether van 1 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,11 % bedragen.
- 7.4. Bij een gehalte aan hydrochinonmonobenzylether van 1 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee parallel aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,11 % bedragen.

8. Reproduceerbaarheid ⁽¹⁾

- 8.1. Bij een gehalte aan hydrochinon van 2 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee onder verschillende omstandigheden (verschillende laboratoria, verschillende analisten, verschillende apparatuur en/of verschillende tijdstippen) aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,37 % bedragen.

⁽¹⁾ Volgens ISO 5725.

- 8.2. Bij een gehalte aan hydrochinonmonomethylether van 1 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee onder verschillende omstandigheden (verschillende laboratoria, verschillende analisten, verschillende apparatuur en/of verschillende tijdstippen) aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,21 % bedragen.
- 8.3. Bij een gehalte aan hydrochinonmonoëthylether van 1,0 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee onder verschillende omstandigheden (verschillende laboratoria, verschillende analisten, verschillende apparatuur en/of verschillende tijdstippen) aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,19 % bedragen.
- 8.4. Bij een gehalte aan hydrochinonmonobenzylether van 1 % mag de absolute waarde van het verschil tussen de resultaten van twee onder verschillende omstandigheden (verschillende laboratoria, verschillende analisten, verschillende apparatuur en/of verschillende tijdstippen) aan hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer dan 0,11 % bedragen.

9. **Opmerkingen**

- 9.1. Wanneer een hydrochinongehalte van aanzienlijk meer dan 2 % wordt gevonden en een nauwkeurige gehaltebepaling vereist is, dient het monsterextract (5.1) te worden verdund tot de concentratie ongeveer zodanig is als met een monster dat 2 % hydrochinon bevat, zou worden verkregen, waarna de bepaling wordt herhaald.

(Bij sommige apparatuur kan de extinctie bij hoge hydrochinonconcentraties buiten het lineaire gebied van de detector uitvallen).

9.2 **Storingen**

Met de hierboven beschreven methode kunnen hydrochinon en de ethers daarvan in een enkele isocratische analyse worden bepaald. Door het gebruik van een fenylkolom wordt een voldoende retentie voor hydrochinon verkregen, hetgeen niet kan worden gegarandeerd wanneer een C18-kolom met de beschreven mobiele fase wordt gebruikt.

Deze methode is echter gevoelig voor storing door een aantal parabenen. Treedt een dergelijke storing op, dan moet de bepaling herhaald worden met een andere mobiele fase/stationaire fasesysteem. Geschikte methoden staan beschreven in de referenties ⁽¹⁾ en ⁽²⁾ namelijk,

kolom: Zorbax ODS, 4,6 mm × 25 cm, of gelijkwaardig

temperatuur: 36 °C

debiet: 1,5 ml/min.

mobiele fase:

voor hydrochinon: methanol/water 5:95 (v/v)

voor hydrochinonmonomethylether: methanol/water 30:70 (v/v)

voor hydrochinonmonobenzylether: methanol/water 80:20 (v/v)

kolom: Spherisorb S5-ODS, of gelijkwaardig

mobiele fase: water/methanol 90:10 (v/v)

debiet: 1,5 ml/min.

Deze condities zijn geschikt voor hydrochinon.

⁽¹⁾ M. Herpol-Borremans en M.O. Masse, Identification et dosage de l'hydroquinone et ses éthers méthylique et benzylique dans les produits cosmétiques pour blanchir la peau, Int. J. Cosmet. Sci. 8, 203-214 (1986).

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