

31993L0073

L 231/34

ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ

14.9.1993

PÁTÁ SMĚRNICE KOMISE 93/73/EHS**ze dne 9. září 1993****o metodách analýzy nezbytných pro kontrolu složení kosmetických prostředků**

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

midinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu
a chlorhexidinu jsou pátým krokem;s ohledem na Smlouvu o založení Evropského hospodářského
společenství,vzhledem k tomu, že opatření této směrnice jsou v souladu se
stanoviskem Výboru pro přizpůsobení směrnice 76/768/EHS
technickému pokroku,

PŘIJALA TUTO SMĚRNICI:

s ohledem na směrnici Rady 76/768/EHS ze dne 27. července
1976 o sbližování právních předpisů členských států týkajících
se kosmetických prostředků⁽¹⁾, naposledy pozměněnou směr-
nicí 93/35/EHS⁽²⁾, a zejména na čl. 8 odst. 1 uvedené směr-
nice,**Článek 1**Členské státy učiní všechny nezbytné kroky k zajištění toho,
aby se při úředním zkoušení kosmetických prostředků:vzhledem k tomu, že se ve směrnici 76/768/EHS stanoví
úřední zkoušení kosmetických prostředků s cílem zajistit do-
držení podmínek předepsaných předpisy Společenství, které se
týkají složení kosmetických prostředků;

— důkaz a stanovení dusičnanu stříbrného,

— důkaz a stanovení sulfidu seleničitého v šamponech proti
lupům,vzhledem k tomu, že by všechny nezbytné metody analýzy
měly být stanoveny co nejdříve; že čtyři kroky k dosažení
tohoto cíle již byly učiněny prostřednictvím směrnice Komise
80/1335/EHS⁽³⁾ ve znění směrnice 87/143/EHS⁽⁴⁾, směrnice
Komise 82/434/EHS⁽⁵⁾ ve znění směrnice 90/207/EHS⁽⁶⁾,
a prostřednictvím směrnic Komise 83/514/EHS⁽⁷⁾
a 85/490/EHS⁽⁸⁾; že důkaz a stanovení dusičnanu stříbrného,
důkaz a stanovení sulfidu seleničitého v šamponech proti
lupům, stanovení rozpustného barya a stroncia v pigmentech
ve formě solí nebo láků, důkaz a stanovení benzylalkoholu,
důkaz zirkonia a stanovení zirkonia, hliníku a chloru
v neaerosolových antiperspirantech a důkaz a stanovení hexa-— stanovení rozpustného barya a stroncia v pigmentech ve
formě solí nebo láků,

— důkaz a stanovení benzylalkoholu,

— důkaz zirkonia a stanovení zirkonia, hliníku a chloru
v neaerosolových antiperspirantech,— důkaz a stanovení hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrom-
propamidinu a chlorhexidinu

prováděly metodami popsány v příloze.

⁽¹⁾ Úř. věst. L 262, 27.9.1976, s. 169.⁽²⁾ Úř. věst. L 151, 23.6.1993, s. 32.⁽³⁾ Úř. věst. L 383, 31.12.1980, s. 27.⁽⁴⁾ Úř. věst. L 57, 27.2.1987, s. 56.⁽⁵⁾ Úř. věst. L 185, 30.6.1982, s. 1.⁽⁶⁾ Úř. věst. L 108, 28.4.1990, s. 92.⁽⁷⁾ Úř. věst. L 291, 24.10.1983, s. 9.⁽⁸⁾ Úř. věst. L 295, 7.11.1985, s. 30.

Článek 2

1. Členské státy uvedou v účinnost právní a správní předpisy nezbytné pro dosažení souladu s touto směrnicí nejpozději do 30. září 1994. Neprodleně o nich uvědomí Komisi.

Tato opatření přijatá členskými státy musí obsahovat odkaz na tuto směrnici nebo musí takový odkaz být učiněn při jejich úředním vyhlášení. Způsob odkazu si stanoví členské státy.

2. Členské státy sdělí Komisi znění vnitrostátních právních předpisů, které přijmou v oblasti působnosti této směrnice.

Článek 3

Tato směrnice je určena členským státům.

V Bruselu dne 9. září 1993.

Za Komisi

Christiane SCRIVENER

členka Komise

PŘÍLOHA

DŮKAZ A STANOVENÍ DUSIČNANU STŘÍBRNÉHO V KOSMETICKÝCH PROSTŘEDCÍCH

A. Důkaz

1. *Rozsah a oblast použití*

V této metodě je popsán důkaz dusičnanu stříbrného vyjádřeného jako stříbro v kosmetických prostředcích na bázi vody.

2. *Podstata metody*

Důkaz stříbra se provede prostřednictvím charakteristické bílé sraženiny s chloridovými ionty.

3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Roztok kyseliny chlorovodíkové, 2 M

3.2 Vodný roztok hydroxidu amonného: koncentrovaný roztok hydroxidu amonného ($d_{20} = 0,88 \text{ g/ml}$) se zředí stejným množstvím vody a promíchá.

3.3 Roztok kyseliny dusičné, 2 M

4. *Přístroje a pomůcky*

4.1 Běžné laboratorní vybavení

4.2 Odstředivka

5. *Postup*

5.1 K přibližně 1 g vzorku v centrifugační kyvetě se přidává po kapkách 2 M kyselina chlorovodíková (3.1), dokud nedojde k úplnému vysrážení; promíchá se a odstředí.

5.2 Supernatant se odstraní a sraženina se promyje dalšími pěti kapkami studené vody. Promývací kapalina se odstraní.

5.3 Do centrifugační kyvety se ke sraženině přidá stejný objem vody. Za stálého míchání se zahřeje k varu.

5.4 Za horka se odstředí; supernatant se odstraní.

5.5 Ke sraženině se přidá několik kapek roztok amoniaku (3.2); promíchá se a odstředí.

5.6 K jedné kapce kapaliny nad sraženinou se na podložní sklíčko přidá několik kapek 2 M kyseliny dusičné (3.3).

5.7 Bílá sraženina je důkazem přítomnosti stříbra.

B. Stanovení

1. *Rozsah a oblast použití*

Tato metoda je vhodná pro stanovení obsahu dusičnanu stříbrného vyjádřeného jako stříbro v kosmetických prostředcích určených k barvení řas a obočí.

2. *Podstata metody*

Stříbro se ve výrobku stanoví atomovou absorpční spektrometrií.

3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Kyselina dusičná, 0,02 M roztok

3.2 Standardní roztoky stříbra

3.2.1 Zásobní standardní roztok stříbra, 1 000 $\mu\text{g/ml}$ v roztoku 0,5 M kyseliny dusičné („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní)

- 3.2.2 Standardní roztok stříbra, 100 µg/ml: 10 ml zásobního standardního roztoku stříbra (3.2.1) se odpipetuje do odměrné baňky na 100 ml. Doplní se po rysku roztokem 0,02 M kyseliny dusičné a promíchá se. Tento standardní roztok se připravuje čerstvý a skladuje se ve skleněné lahvi z tmavého skla.
4. *Přístroje a pomůcky*
- 4.1 Běžné laboratorní vybavení
- 4.2 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený stříbrnou výbojkou s dutou katodou
5. *Postup*
- 5.1 *Příprava vzorku*
- Přesně se odváží asi 0,1 g (m gramů) homogenního vzorku výrobku. Toto množství se převede do odměrné baňky na jeden litr, doplní se po rysku 0,02 M roztokem kyseliny dusičné (3.1) a promíchá se.
- 5.2 *Podmínky pro atomovou absorpční spektrometrii*
- Plamen: vzduchacetylen
- Vlnová délka: 338,3 nm
- Korekce pozadí: ano
- Požadavky na palivo: chudé; pro maximální absorbanci je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.
- 5.3 *Kalibrace*
- 5.3.1 Do série odměrných baněk na 100 ml se odpipetuje 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 ml standardního roztoku stříbra (3.2.2). Jednotlivé baňky se doplní po rysku 0,02 M roztokem kyseliny dusičné (3.1) a obsah se promíchá. Tyto roztoky obsahují 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 µg stříbra na mililitr.
- 5.3.2 Změří se absorbance 0,02 M roztoku kyseliny dusičné (3.1) a takto získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace stříbra pro kalibrační křivku. Změří se absorbance každého kalibračního standardu stříbra (5.3.1). Sestrojí se kalibrační křivka vynesáním závislosti hodnot absorbance na koncentraci stříbra.
- 5.4 *Stanovení*
- Změří se absorbance roztoku vzorku (5.1). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace stříbra odpovídající hodnotě absorbance naměřené pro roztok vzorku.
6. *Výpočet*
- Obsah dusičnanu stříbrného ve vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech (% m/m) se vypočte podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (5.1) v gramech

a

c = koncentrace stříbra v roztoku vzorku (5.1) odečtená z kalibrační křivky v µg/ml.

7. *Opakovatelnost* ⁽¹⁾

Při koncentraci dusičnanu stříbrného 4 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,05 % (m/m).

DŮKAZ A STANOVENÍ OBSAHU SULFIDU SELENIČITÉHO V ŠAMPONECH PROTI LUPŮM

A. Důkaz

1. *Rozsah a oblast použití*

V této metodě je popsán důkaz sulfidu seleničitého jako selenu v šamponech proti lupům.

2. *Podstata metody*

Důkaz selenu se provede prostřednictvím charakteristického žlutého až oranžového zbarvení při reakci s močovinou a jodidem draselným.

⁽¹⁾ ISO 5725.

3. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Kyselina dusičná, koncentrovaná ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)

3.2 Močovina

3.3 Jodid draselný, 10 % (m/V) roztok: 10 g jodidu draselného se rozpustí ve 100 ml vody.

4. Přístroje a pomůcky

4.1 Běžné laboratorní vybavení

4.2 Digesční (vyluhovací) baňka na 100 ml

4.3 Digesční zařízení s vyhřívacím blokem

4.4 Filtrační papír (Whatman č. 42 nebo ekvivalentní) nebo membránový filtr (velikost pórů $0,45 \mu\text{m}$)

5. Postup

5.1 K přibližně 1 g šamponu ve vyluhovací baňce (4.2) se přidá 2,5 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.1) a vaří se v digesčním zařízení s vyhřívacím blokem (4.3) při 150°C po dobu 30 minut.

5.2 Vyloužený vzorek se zředí vodou na objem 25 ml, zfiltruje se přes filtrační papír nebo přes membránový filtr ($0,45 \mu\text{m}$) (4.4).

5.3 K 2,5 ml filtrátu se přidá 5 ml vody, 2,5 g močoviny (3.2) a vaří se. Ochladí se a přidá se 1 ml roztoku jodidu draselného (3.3).

5.4 Žluté až oranžové zbarvení, které stáním rychle tmavne, je důkazem přítomnosti selenu.

B. Stanovení

1. Rozsah a oblast použití

Tato metoda je vhodná pro stanovení sulfidu seleničitého jako selenu v šamponech proti lupům obsahujících nejvýše 4,5 % (m/m) sulfidu seleničitého.

2. Podstata metody

Vzorek se vyluhuje kyselinou dusičnou a selen se ve výsledném výluhu stanoví atomovou absorpční spektrometrií.

3. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Kyselina dusičná, koncentrovaná ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)

3.2 Kyselina dusičná, 5 % (V/V) roztok: do 500 ml vody se v kádince za stálého míchání přidá 50 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.1). Tento roztok se převede do jednolitrové odměrné baňky a doplní se po rysku vodou.

3.3 Zásobní standardní roztok selenu, $1\,000 \mu\text{g/ml}$ v 0,5 M roztoku kyseliny dusičné („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní).

4. Přístroje a pomůcky

4.1 Běžné laboratorní vybavení

4.2 Digesční (vyluhovací) baňka na 100 ml

4.3 Digesční zařízení s vyhřívacím blokem

4.4 Filtrační papír (Whatman č. 42 nebo ekvivalentní) nebo membránový filtr $0,45 \mu\text{m}$

4.5 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený selenovou výbojkou s dutou katodou

5. *Postup*5.1 *Příprava vzorku*

5.1.1 Do vyluhovací baňky (4.2) se přesně naváží asi 0,2 g (m gramů) homogenního vzorku šamponu.

5.1.2 Přidá se 5 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.1) a nechá se jednu hodinu vyluhovat v digesčním zařízení s vyhřívacím blokem (4.3) při 150 °C.

5.1.3 Roztok se nechá vychladnout a zředí se vodou na 100 ml. Zfiltruje se přes filtrační papír nebo membránový filtr (0,45 µm) (4.4) a zfiltrovaný roztok se uschová pro stanovení.

5.2 *Podmínky pro atomovou absorpční spektrometrii*

Plamen: vzduchacetylen

Vlnová délka: 196,0 nm

Korekce pozadí: ano

Podmínka paliva: chudé; pro maximální absorpční je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.

5.3 *Kalibrace*

5.3.1 Do série odměrných baněk na 100 ml se odpipetuje 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 ml zásobního standardního roztoku selenu (3.3). Jednotlivé baňky se doplní po rysku 5 % (m/m) roztokem kyseliny dusičné (3.2) a obsah se promíchá. Tyto roztoky obsahují 10, 20, 30, 40 a 50 µg selenu na mililitr.

5.3.2 Změří se absorpance 5 % (v/v) roztoku kyseliny dusičné (3.2) a takto získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace selenu pro kalibrační křivku. Změří se absorpance každého kalibračního standardu selenu (5.3.1). Sestrojí se kalibrační křivka vynesáním závislosti hodnot absorpance na koncentraci selenu.

5.4 *Stanovení*

Změří se absorpance roztoku vzorku (5.1.3). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace selenu odpovídající hodnotě absorpance naměřené pro roztok vzorku.

6. *Výpočet*

Obsah sulfidu seleničitého ve vzorku v hmotnostních procentech (% m/m) se vypočte podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (5.1.1) v gramech

a

c = koncentrace selenu v roztoku vzorku (5.1.3) odečtená z kalibrační křivky v µg/ml.

7. *Opakovatelnost ⁽¹⁾*

Při koncentraci sulfidu seleničitého 1 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,05 % (m/m).

STANOVENÍ ROZPUSTNÉHO BARYA A STRONCIA V PIGMENTECH VE FORMĚ SOLÍ NEBO LAKŮ**A. Stanovení rozpustného barya**1. *Rozsah a oblast použití*

V této metodě je popsán postup extrakce rozpustného barya z pigmentů ve formě solí nebo laků a jeho stanovení.

2. *Podstata metody*

Pigment se extrahuje 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové za definovaných podmínek a množství barya v extraktu se stanoví atomovou absorpční spektrometrií.

⁽¹⁾ ISO 5725.

3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Ethanol, absolutní

3.2 Kyselina chlorovodíková, 0,07 M roztok

3.3 Kyselina chlorovodíková, 0,5 M roztok

3.4 Chlorid draselný, 8 % (m/V) roztok: 16 g chloridu draselného se rozpustí ve 200 ml 0,07 M roztoku kyseliny chlorovodíkové (3.2).

3.5 Standardní roztoky barya

3.5.1 Zásobní standardní roztok barya, 1 000 µg/ml v 0,5 M roztoku kyseliny dusičné („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní)

3.5.2 Standardní roztok barya, 200 µg/ml: 20,0 ml zásobního standardního roztoku barya (3.5.1) se odpipetuje do odměrné baňky na 100 ml. Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá.

4. *Přístroje a pomůcky*

4.1 Běžné laboratorní vybavení

4.2 pHmetr s přesností $\pm 0,02$

4.3 Třepačka s krouživým pohybem

4.4 Membránový filtr s velikostí pórů 0,45 µm

4.5 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený baryovou výbojkou s dutou katodou

5. *Postup*

5.1 Příprava vzorku

5.1.1 Do Erlenmeyerovy baňky se přesně odváží asi 0,5 g pigmentu (m gramů). Pro účinné promíchání je vhodné použít baňku o objemu minimálně 150 ml.

5.1.2 Pipetou se přidá 1,0 ml ethanolu (3.1) a baňkou se krouží tak, aby se pigment důkladně smočil. Z byrety se přidá přesně takové množství 0,07 M roztoku kyseliny chlorovodíkové (3.2), které je nezbytné k tomu, aby byl dosažen poměr objemu kyseliny k hmotnosti pigmentu přesně 50 mililitrů na gram. Celkový objem extraktu včetně ethanolu se označí „V“ ml. Krouživým pohybem se obsah baňky 5 sekund promíchává, aby se dosáhlo důkladného promíchání.

5.1.3 pHmetrem (4.2) se změří pH výsledné suspenze a jeli vyšší než 1,5, přidá se po kapkách 0,5 M roztok kyseliny chlorovodíkové (3.3), dokud se nedosáhne hodnoty 1,4 až 1,5.

5.1.4 Baňka se zazátkuje a ihned se 60 minut třepe v třepačce s krouživým pohybem (4.3). Třepačka musí mít dostatečnou rychlost, aby vznikla pěna. Zfiltruje se přes membránový filtr 0,45 µm (4.4) a filtrát se jímá. Extrakt se nesmí odstředit před zfiltrováním. 5,0 ml filtrátu se odpipetuje do odměrné baňky na 50 ml; doplní se po rysku 0,07 M kyselinou chlorovodíkovou (3.2) a promíchá. Tento roztok se také používá ke stanovení obsahu stroncia (část B).

5.1.5 Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 5,0 ml roztoku chloridu draselného (3.4) a alikvotní podíl (W_{Ba} ml) zředěného filtrátu (5.1.4), tak aby očekávaná koncentrace byla 3 až 10 µg barya na mililitr. (Alikvotní podíl 10 ml by měl být vhodným výchozím množstvím). Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá se.

5.1.6 Koncentrace barya v roztoku (5.1.5) se stanoví atomovou absorpční spektrometrií tentýž den.

5.2 Podmínky pro atomovou absorpční spektrometrii

Plamen: oxid dusný/acetylen

Vlnová délka: 553,5 nm

Korekce pozadí: ne

Podmínka paliva: chudé; pro maximální absorbanci je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.

5.3 Kalibrace

- 5.3.1 Do série odměrných baněk na 100 ml se odpipetuje 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 ml standardního roztoku barya (3.5.2). Do každé baňky se odpipetuje 5,0 ml roztoku chloridu draselného (3.4). Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a obsah se promíchá. Tyto roztoky obsahují 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 a 10,0 µg barya na mililitr.

Obdobně se provede slepý pokus s tím, že se vynechá standardní roztok barya.

- 5.3.2 Změří se absorbance slepého pokusu (5.3.1) a takto získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace barya pro kalibrační křivku. Změří se absorbance každého kalibračního standardu barya (5.3.1). Sestrojí se kalibrační křivka vynesím závislosti hodnot absorbance na koncentraci barya.

5.4 Stanovení

Změří se absorbance roztoku vzorku (5.1.5). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace barya odpovídající hodnotě absorbance naměřené pro roztok vzorku.

6. Výpočet

Obsah rozpustného barya (% m/m) v pigmentu se vypočítá podle vzorce

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (5.1.1) v gramech;

c = koncentrace barya v roztoku vzorku (5.1.5) odečtená z kalibrační křivky v µg/ml;

V = celkový objem extraktu (5.1.2) v ml

a

W_{Ba} = objem extraktu odebraného v bodu 5.1.5 v ml.

7. Opakovatelnost

Nejlépeším existujícím odhadem opakovatelnosti (ISO 5725) pro tuto metodu je 0,3 % při obsahu rozpustného barya 2 % (m/m).

8. Poznámky

- 8.1 Za určitých podmínek může být absorbance barya zvýšena přítomností vápníku. Tomu lze zabránit přidáním iontů hořčíku v koncentraci 5 g/l ⁽¹⁾.
- 8.2 Použití metody spektrometrie s indukčně vázanou plazmou – optická emisní spektrometrie je povoleno jako alternativa plamenové atomové absorpční spektrometrie.

B. Stanovení rozpustného stroncia

1. Rozsah a oblast použití

V této metodě je popsán postup extrakce rozpustného stroncia z pigmentů ve formě solí nebo laků a jeho stanovení.

2. Podstata metody

Pigment se extrahuje 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové za definovaných podmínek a množství stroncia v extraktu se stanoví atomovou absorpční spektrometrií.

3. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Ethanol, absolutní

3.2 Kyselina chlorovodíková, 0,07 M roztok

3.3 Chlorid draselný, 8 % (m/V) roztok: 16 g chloridu draselného se rozpustí ve 200 ml 0,07 M roztoku kyseliny chlorovodíkové (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 Standardní roztoky stroncia
- 3.4.1 Zásobní standardní roztok stroncia, 1 000 µg/ml v 0,5 M roztoku kyseliny dusičné („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní)
- 3.4.2 Standardní roztok stroncia, 100 µg/ml: 10,0 ml zásobního standardního roztoku stroncia (3.4.1) se odpipetuje do odměrné baňky na 100 ml. Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá.
4. *Přístroje a pomůcky*
- 4.1 Běžné laboratorní vybavení
- 4.2 Membránový filtr s velikostí pórů 0,45 µm
- 4.3 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený stronciovou výbojkou s dutou katodou
5. *Postup*
- 5.1 *Příprava vzorku*
- Pro stanovení rozpustného stroncia se použije roztok připravený v oddílu A bodu 5.1.4
- 5.1.1 Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 5,0 ml roztoku chloridu draselného (3.3) a alikvotní podíl (W_s ml) zředěného filtrátu (A 5.1.4), aby byla předpokládaná koncentrace stroncia 2 až 5 µg/ml. (Alikvotní podíl 10 ml by měl být vhodným výchozím množstvím). Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá.
- 5.1.2 Koncentrace stroncia v roztoku (5.1.1) se stanoví atomovou absorpční spektrometrií tentýž den.
- 5.2 *Podmínky pro atomovou absorpční spektrometrii*
- Plamen: oxid dusný/acetylen
- Vlnová délka: 460,7 nm
- Korekce pozadí: ne
- Podmínka paliva: chudé; pro maximální absorbanci je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.
- 5.3 *Kalibrace*
- 5.3.1 Do série odměrných baněk na 100 ml se odpipetuje 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 ml standardního roztoku stroncia (3.4.2). Do každé baňky se odpipetuje 5,0 ml roztoku chloridu draselného (3.3). Doplní se po rysku 0,07 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a obsah se promíchá. Tyto roztoky obsahují 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 a 5,0 µg stroncia na mililitr.
- Obdobně se provede slepý pokus s tím, že se vynechá standardní roztok stroncia.
- 5.3.2 Změří se absorbance slepého pokusu (5.3.1) a takto získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace stroncia pro kalibrační křivku. Změří se absorbance každého kalibračního standardu stroncia (5.3.1). Sestrojí se kalibrační křivka vnesením závislosti hodnot absorbance na koncentraci stroncia.
- 5.4 *Stanovení*
- Změří se absorbance roztoku vzorku (5.1.1). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace stroncia odpovídající hodnotě absorbance naměřené pro roztok vzorku.
6. *Výpočet*
- Obsah rozpustného stroncia (% m/m) v pigmentu se vypočítá podle vzorce:
- $$\% \text{ (m/m) rozpustného stroncia} = \frac{c \times V}{10W_{\text{Sr}} \times m}$$
- kde
- m = hmotnost analyzovaného vzorku (A 5.1.1) v gramech;
- c = koncentrace stroncia v roztoku vzorku (5.1.1) odečtená z kalibrační křivky v µg/ml;
- V = celkový objem extraktu (A 5.1.2) v ml;
- W_{Sr} = objem extraktu odebraného v bodu 5.1.1 v ml.
7. *Opakovatelnost*
- Nejlepším existujícím odhadem opakovatelnosti (ISO 5725) pro tuto metodu je 0,09 % při obsahu rozpustného stroncia 0,6 % (m/m).

8. *Poznámka*

Použití metody spektrometrie s indukčně vázanou plazmou – optická emisní spektrometrie je povoleno jako alternativa plamenové atomové absorpční spektrometrie.

DŮKAZ A STANOVENÍ BENZYLALKOHOLU V KOSMETICKÝCH PROSTŘEDCÍCH**A. Důkaz**1. *Rozsah a oblast použití*

V této metodě je popsán důkaz benzylalkoholu v kosmetických prostředcích.

2. *Podstata metody*

Důkaz benzylalkoholu se provede chromatografií na tenké vrstvě na silikagelu.

3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Benzylalkohol

3.2 Chloroform

3.3 Ethanol, absolutní

3.4 n-Pentan

3.5 Vytvájecí rozpouštědlo: diethylether

3.6 Standardní roztok benzylalkoholu: do odměrné baňky na 100 ml se naváží 0,1 g benzylalkoholu (3.1), doplní se po rysku ethanol (3.3) a promíchá.

3.7 Desky pro chromatografii na tenké vrstvě, skleněné, 100 × 200 mm nebo 200 × 200 mm, s nanesenou vrstvou silikagelu 60 F₂₅₄ o tloušťce 0,25 mm.

3.8 Detekční činidlo: kyselina dodekamolybdofosforečná, 10 % (m/V) roztok v ethanolu (3.3).

4. *Přístroje a pomůcky*

4.1 Běžné vybavení pro chromatografii na tenké vrstvě.

4.2 Chromatografická komora se dvěma žlábků, vnější rozměry přibližně 80 mm × 230 mm × 240 mm

4.3 Chromatografický papír: Whatman nebo ekvivalentní

4.4 UV lampa, vlnová délka 254 nm.

5. *Postup*5.1 *Příprava vzorku*

Do odměrné baňky na 10 ml se naváží 1,0 g prostředku, který má být analyzován. Přidají se 3 ml chloroformu (3.2) a důkladně se třepe, dokud se prostředek neroztptí. Doplní se po rysku ethanol (3.3) a důkladně se třepe až do vzniku čirého nebo téměř čirého roztoku.

5.2 *Chromatografie na tenké vrstvě*

5.2.1 Chromatografická komora (4.2) se nasatí n-pentanem (3.4) takto: strana komory sousedící se zadním žlábkem se vyloží chromatografickým papírem (4.3) tak, aby byl dolní okraj papíru ve žlábků. Zadní žlábek se naplní 25 ml n-pentanem (3.4) přelitím tohoto roztoku po povrchu chromatografického papíru. Okamžitě se nasadí víko a ponechá se stát 15 minut.

5.2.2 Do vhodných bodů na startovací linii chromatografické desky pro chromatografii na tenké vrstvě se nanese 10 µl roztoku vzorku (5.1) a 10 µl standardního roztoku benzylalkoholu (3.7). Nechá se vyschnout.

5.2.3 Do předního žlábků komory se odpipetuje 10 ml diethyletheru (3.5) a poté se do stejného žlábků ihned umístí deska (5.2.2). Opět se rychle nasadí víko komory a deska se vyvíjí do výšky 150 mm. Deska se vyjme z chromatografické komory a nechá se schnout při pokojové teplotě.

5.2.4 Deska (5.2.3) se pozoruje pod ultrafialovým světlem a označí se poloha fialových skvrn. Deska se postříká detekčním činidlem (3.8) a poté se zahřeje 15 minut při 120 °C. Benzylalkohol se jeví jako tmavě modrá skvrna.

5.2.5 Vypočte se hodnota R_f získaná pomocí standardního roztoku benzylalkoholu. Tmavě modrá skvrna se stejnou hodnotou R_f získaná z roztoku vzorku indikuje přítomnost benzylalkoholu.

Mez detekce: 0,1 µg benzylalkoholu.

B. Stanovení

1. Rozsah a oblast použití

V této metodě je popsáno stanovení obsahu benzylalkoholu v kosmetických prostředcích.

2. Definice

Množství benzylalkoholu stanovené touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech (% m/m).

3. Podstata metody

Vzorek se extrahuje methanolem a množství benzylalkoholu v extraktu se stanoví vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).

4. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a. a případně vhodná pro HPLC.

4.1 Methanol

4.2 4-Ethoxyfenol

4.3 Benzylalkohol

4.4 Mobilní fáze: methanol (4.1)/voda (45: 55; v/v)

4.5 Zásobní roztok benzylalkoholu: do odměrné baňky na 100 ml se přesně naváží asi 0,1 g benzylalkoholu (4.3). Doplní se po rysku methanolem (4.1) a promíchá se.

4.6 Zásobní roztok vnitřního standardu: do odměrné baňky na 100 ml se přesně naváží asi 0,1 g 4ethoxyfenolu (4.2). Doplní se po rysku methanolem (4.1) a promíchá se.

4.7 Standardní roztoky: Do série odměrných baněk na 25 ml se odpipetuje zásobní roztok benzylalkoholu (4.5) a zásobní roztok vnitřního standardu (4.6) podle níže uvedené tabulky. Doplní se po rysku methanolem (4.1) a promíchá.

Standardní roztok	Koncentrace benzylalkoholu		Koncentrace 4-ethoxyfenolu	
	počet přidanych ml (4.5)	µg/ml (*)	počet přidanych ml (4.6)	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

(*) Tyto hodnoty jsou uvedeny jako ukazatele a odpovídají koncentracím standardních roztoků připravených z roztoků benzylalkoholu (4.5) a 4-ethoxyfenolu (4.6), které obsahují přesně 0,1 % (m/V) benzylalkoholu a přesně 0,1 % (m/V) 4-ethoxyfenolu.

5. Přístroje a pomůcky

5.1 Běžné laboratorní vybavení

5.2 Zařízení pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií s UV detektorem s nastavitelnou vlnovou délkou a s nastříkovací smyčkou o objemu 10 µl.

5.3 Analytická kolona: kolona z korozivzdorné oceli, 250 mm × 4,6 mm s náplní Spherisorb ODS o velikosti částic 5 µm nebo s ekvivalentní náplní.

- 5.4 Vodní lázeň
- 5.5 Ultrazvuková lázeň
- 5.6 Odstředivka
- 5.7 Centrifugační kyvety na 15 ml
6. *Postup*
- 6.1 *Příprava vzorku*
- 6.1.1 Do centrifugační kyvety (5.7) se přesně naváží asi 0,1 g (m gramů) vzorku a přidá se 5 ml methanolu (4.1).
- 6.1.2 Zahřívá se po dobu 10 minut na vodní lázni (5.4) nastavené na teplotu 50 °C a poté se vloží do ultrazvukové lázně (5.5), kde se ponechá do důkladného rozptýlení vzorku.
- 6.1.3 Ochladí se a poté se odstředí 5 minut při 3 500 ot./min.
- 6.1.4 Supernatant se převede do odměrné baňky na 25 ml.
- 6.1.5 Zbytek vzorku se extrahuje dalšími 5 ml methanolu (4.1). Extrakty se sloučí v odměrné baňce na 25 ml.
- 6.1.6 Do odměrné baňky na 25 ml se odpipetují 2,0 ml zásobního roztoku vnitřního standardu (4.6). Doplní se po rysku methanolem (4.1) a promíchá se. Tento roztok se použije pro chromatografii popsanou v bodu 6.4.
- 6.2 *Chromatografie*
- 6.2.1 Obvyklým způsobem se sestaví zařízení pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (5.2). Průtoková rychlost mobilní fáze (4.4) se nastaví na 2,0 ml za minutu.
- 6.2.2 Vlnová délka UV detektoru (5.2) se nastaví na 210 nm.
- 6.3 *Kalibrace*
- 6.3.1 Nastříkne se po 10 µl každého ze standardních roztoků benzylalkoholu (4.7) a změří se plocha píků benzylalkoholu a 4-ethoxyfenolu.
- 6.3.2 Pro každý standardní roztok benzylalkoholu (4.7) se vypočte poměr plochy píku benzylalkoholu a 4-ethoxyfenolu. Kalibrační křivka se sestaví vynesemím těchto poměrů na osu y a odpovídajících koncentrací benzylalkoholu v µg/ml na osu x.
- 6.4 *Stanovení*
- 6.4.1 Na kolonu se nastříkne 10 µl roztoku vzorku (6.1.6) a změří se plochy píků benzylalkoholu a 4-ethoxyfenolu. Vypočítá se poměr ploch píků benzylalkoholu a 4-ethoxyfenolu. Tento postup se opakuje s dalšími 10 µl roztoku vzorku, dokud se nezískají konzistentní výsledky.
- 6.4.2 Z kalibrační křivky (6.3.2) se odečte koncentrace benzylalkoholu odpovídající poměru ploch píků benzylalkoholu a 4-ethoxyfenolu.
7. *Výpočet*

Obsah benzylalkoholu ve vzorku v hmotnostních procentech se vypočítá podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (6.1.1) v gramech

a

c = koncentrace benzylalkoholu v roztoku vzorku (6.1.6) v µg/ml odečtená z kalibrační křivky.

8. *Opakovatelnost* ⁽¹⁾

Při obsahu benzylalkoholu 1 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,10 %.

⁽¹⁾ ISO 5725.

DŮKAZ ZIRKONIA A STANOVENÍ ZIRKONIA, HLINÍKU A CHLORU V NEAEROSOLOVÝCH ANTIPERSPIRANTECH

Tato metoda má pět stádií:

- A. Důkaz zirkonia
- B. Stanovení zirkonia
- C. Stanovení hliníku
- D. Stanovení chloru
- E. Výpočet poměru počtu atomů hliníku k počtu atomů zirkonia a výpočet poměru počtu atomů hliníku a zirkonia k počtu atomů chloru.

A. Důkaz zirkonia

1. *Rozsah a oblast použití*

V metodě je popsán důkaz zirkonia v neaerosolových antiperspirantech. Nejsou popsány metody vhodné pro důkaz chloro(hydroxo)komplexu hliníku a zirkonia $[Al_xZr(OH)_yCl_z \cdot nH_2O]$.
2. *Podstata metody*

Důkaz zirkonia se provede prostřednictvím tvorby charakteristické červenofialové sraženiny při reakci s alizarinovou červení S v silně kyselém prostředí.
3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

 - 3.1 Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)
 - 3.2 Roztok alizarinové červeně S (CI 58005: 2 % (m/V) alizarinsulfonátu sodného ve vodě)
4. *Přístroje a pomůcky*
 - 4.1 Běžné laboratorní vybavení
5. *Postup*
 - 5.1 K přibližně 1 g vzorku ve zkumavce se přidají 2 ml vody. Zazátkuje se a protřepe.
 - 5.2 Přidají se tři kapky roztoku alizarinové červeně S (3.2) a poté 2 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3.1). Zazátkuje se a protřepe.
 - 5.3 Nechá se přibližně dvě minuty stát.
 - 5.4 Červenofialové zabarvení supernatantu a sraženiny znamená přítomnost zirkonia.

B. Stanovení zirkonia

1. *Rozsah a oblast použití*

Tato metoda je vhodná pro stanovení zirkonia v chloro(hydroxo) komplexech hliníku a zirkonia až do maximální koncentrace zirkonia 7,5 % (m/m) v neaerosolových antiperspirantech.
2. *Podstata metody*

Zirkonium se extrahuje z prostředí v kyselém prostředí a stanovení se provede plamenovou atomovou absorpční spektrometrií.
3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

 - 3.1 Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)
 - 3.2 Roztok kyseliny chlorovodíkové, 10 % (V/V): k 500 ml vody v kádince se za stálého míchání přidá 100 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3.1). Tento roztok se převede do odměrné baňky na 1 litr a doplní se po rysku vodou.
 - 3.3 Zásobní standardní roztok zirkonia, 1000 $\mu\text{g/ml}$ v 0,5 M roztoku kyseliny chlorovodíkové („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní).

- 3.4 Chlorid hlinitý (hydratovaný) $[\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$: činidlo: 22,6 g hexahydrátu chloridu hlinitého se rozpustí ve 250 ml 10 % (V/V) roztoku kyseliny chlorovodíkové (3.2).
- 3.5 Chlorid amonný, činidlo: 5,0 g chloridu amonného se rozpustí ve 250 ml 10 % (V/V) roztoku kyseliny chlorovodíkové (3.2).
4. *Přístroje a pomůcky*
- 4.1 Běžné laboratorní vybavení
- 4.2 Topná deska s magnetickým míchadlem
- 4.3 Filtrační papír (Whatman č. 41 nebo ekvivalentní)
- 4.4 Atomový absorpční spektrofotometr vybavený zirkoniovou výbojkou s dutou katodou
5. *Postup*
- 5.1 *Příprava vzorku*
- 5.1.1 Do kádinky na 150 ml se přesně naváží asi 1,0 g (m gramů) homogenního vzorku prostředku. Přidá se 40 ml vody a 10 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3.1).
- 5.1.2 Kádinka se umístí na topnou desku s magnetickým míchadlem (4.2). Spustí se míchání a zahřeje se až k varu. Aby nedošlo k rychlému odpaření, umístí se na kádinku hodinové sklo. Vaří se 5 minut, kádinka se sejme z topné desky a ochladí se na pokojovou teplotu.
- 5.1.3 Za použití filtračního papíru (4.3) se obsah kádinky zfiltruje do odměrné baňky na 100 ml. Kádinka se dvakrát vypláchne vždy 10 ml vody a oplachová voda se po zfiltrování přidá do baňky. Doplní se po rysku vodou a promíchá se. Tento roztok se také použije ke stanovení hliníku (část C).
- 5.1.4 Do odměrné baňky na 50 ml se odpipetuje 20,00 ml roztoku vzorku (5.1.3), 5,00 ml činidla chloridu hlinitého (3.4) a 5,00 ml činidla chloridu amonného (3.5). Doplní se po rysku 10 % (V/V) roztokem kyseliny chlorovodíkové a promíchá se.
- 5.2 *Podmínky atomové absorpční spektrometrie*
- Plamen: oxid dusný/acetylen
- Vlnová délka: 360,1 nm
- Korekce pozadí: ne
- Podmínka paliva: bohaté; pro maximální absorpční je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.
- 5.3 *Kalibrace*
- 5.3.1 Do série odměrných baněk na 50 ml se odpipetuje 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 a 25,00 ml zásobního standardního roztoku zirkonia (3.3). Do každé odměrné baňky se odpipetuje 5,00 ml činidla chloridu hlinitého (3.4) a 5,00 ml činidla chloridu amonného (3.5). Doplní se po rysku 10 % (V/V) kyselinou chlorovodíkovou (3.2) a promíchá se. Tyto roztoky obsahují 100, 200, 300, 400 a 500 µg zirkonia na mililitr.
- Podobně se připraví slepý pokus, vynechá se standardní roztok zirkonia.
- 5.3.2 Změří se absorbance slepého pokusu (5.3.1) a získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace zirkonia pro kalibrační křivku. Změří se absorbance každého kalibračního standardu zirkonia (5.3.1). Sestrojí se kalibrační křivka vynesím závislosti hodnot absorbance na koncentraci zirkonia.
- 5.4 *Stanovení*
- Změří se absorbance roztoku vzorku (5.1.4). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace zirkonia odpovídající hodnotě absorbance naměřené pro roztok vzorku.
6. *Výpočet*
- Obsah zirkonia ze vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech se vypočte podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (5.1.1) v gramech

a

c = koncentrace zirkonia v roztoku vzorku (5.1.4) v µg/ml odečtená z kalibrační křivky.

7. *Opakovatelnost* ⁽¹⁾

Při koncentraci zirkonia 3 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,10 % (m/m).

8. *Poznámka*

Použití metody spektrometrie s indukčně vázanou plazmou – optická emisní spektrometrie je povoleno jako alternativa plamenové atomové absorpční spektrometrie.

C. Stanovení hliníku1. *Rozsah a oblast použití*

Tato metoda je vhodná pro stanovení hliníku v chloro(hydroxo) komplexech hliníku a zirkonia až do koncentrace hliníku 12 % (m/m) v neaerosolových antiperspirantech.

2. *Podstata metody*

Hliník se extrahuje z výrobku v kyselém prostředí a stanovení se provede plamenovou atomovou absorpční spektrometrií.

3. *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná ($d_{20} = 1,18$ g/ml)

3.2 Kyselina chlorovodíková, 1 % (V/V) roztok: k 500 ml vody v kádince se za neustálého míchání přidá 10 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové (3.1). Tento roztok se převede do odměrné baňky na 1 litr a doplní se po rysku vodou.

3.3 Zásobní standardní roztok hliníku, 1 000 µg/ml v 0,5 M roztoku kyseliny dusičné („SpectrosoL“ nebo ekvivalentní).

3.4 Činidlo s chloridem draselným: 10,0 g chloridu draselného se rozpustí ve 250 ml 1 % kyseliny chlorovodíkové (3.2).

4. *Přístroje a pomůcky*

4.1. Běžné laboratorní vybavení

4.2. Atomový absorpční spektrofotometr vybavený hliníkovou výbojkou s dutou katodou.

5. *Postup*5.1 *Příprava vzorku*

Pro stanovení hliníku se použije roztok připravený v části B bodu 5.1.3.

5.1.1 Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 5 ml roztoku vzorku (B 5.1.3) a 1 ml činidla s chloridem draselným (3.4). Doplní se po rysku 1 % roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá se.

5.2 *Podmínky atomové absorpční spektrometrie*

Plamen: oxid dusný/acetylen

Vlnová délka: 309,3 nm

Korekce pozadí: ne

Podmínka paliva: bohaté; pro maximální absorbanci je nutná optimalizace výšky hořáku a palivových podmínek.

5.3 *Kalibrace*

5.3.1 Do série odměrných baněk na 100 ml se odpipetuje 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 a 5,00 ml zásobního standardního roztoku hliníku (3.3). Do každé odměrné baňky se odpipetuje 10 ml činidla s chloridem draselným (3.4) a doplní se po rysku 1 % (V/V) roztokem kyseliny chlorovodíkové (3.2) a promíchá se. Tyto roztoky obsahují 10, 20, 30, 40 a 50 µg hliníku na mililitr.

Obdobně se připraví slepý pokus, vynechá se standardní roztok hliníku.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 5.3.2 Změří se absorbance slepého pokusu (5.3.1) a takto získaná hodnota se použije jako nulová koncentrace hliníku pro kalibrační křivku. Změří se absorbance každého kalibračního standardu hliníku. Sestrojí se kalibrační křivka vynesím závislosti hodnot absorbance na koncentraci hliníku.

5.4 Stanovení

Změří se absorbance roztoku vzorku (5.1.1). Z kalibrační křivky se odečte koncentrace hliníku odpovídající hodnotě absorbance naměřené pro roztok vzorku.

6. Výpočet

Obsah hliníku ve vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech se vypočte podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (B 5.1.1) v gramech;

c = koncentrace hliníku v roztoku vzorku (5.1.1) v $\mu\text{g/ml}$ odečtená z kalibrační křivky.

7. Opakovatelnost ⁽¹⁾

Při koncentraci hliníku 3,5 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,10 % (m/m).

8. Poznámka

Použití metody spektrometrie s indukčně vázanou plazmou – optická emisní spektrometrie je povoleno jako alternativa plamenové atomové absorpční spektrometrie.

D. Stanovení chloru

1. Rozsah a oblast použití

Tato metoda je vhodná pro stanovení chloru přítomného ve formě chloridových iontů v chloro(hydroxo)komplexech hliníku a zirkonia v neaerosolových antiperspirantech.

2. Podstata metody

Obsah chloridových iontů v prostředí se stanoví potenciometrickou titrací standardním roztokem dusičnanu stříbrného.

3. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1. Kyselina dusičná, koncentrovaná ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)

3.2. Kyselina dusičná, 5 % (V/V) roztok: ke 250 ml vody v kádince se za stálého míchání přidá 25 ml koncentrované kyseliny dusičné (3.1). Tento roztok se převede do odměrné baňky na 500 ml a doplní se po rysku vodou.

3.3. Aceton

3.4. Dusičnan stříbrný, 0,1 M odměrný roztok („AnalaR“ nebo ekvivalentní).

4. Přístroje a pomůcky

4.1. Běžné laboratorní vybavení

4.2. Topná deska s magnetickým míchadlem

4.3. Stříbrná elektroda

4.4. Kalomelová referenční elektroda

4.5. pHmetr nebo milivoltmetr vhodný pro potenciometrickou titraci

⁽¹⁾ ISO 5725.

5. *Postup*
 - 5.1 *Příprava vzorku*
 - 5.1.1 Do kádinky na 250 ml se přesně odváží přibližně 1,0 g (m gramů) homogenního vzorku prostředku. Přidá se 80 ml vody a 20 ml roztoku 5 % (V/V) kyseliny dusičné (3.2).
 - 5.1.2 Kádinka se umístí na topnou desku s magnetickým míchadlem (4.2). Zapne se míchání a zahřeje se až k varu. Aby nedošlo k rychlému vypaření, umístí se na kádinku hodinové sklo. Vaří se 5 minut, kádinka se sejme z topné desky a ochladí se na pokojovou teplotu.
 - 5.1.3 Přidá se 10 ml acetonu (3.3), elektrody (4.3 a 4.4) se ponoří pod hladinu roztoku a spustí se míchání. Provede se potenciometrická titrace 0,1 M roztokem dusičnanu stříbrného (3.4) a sestrojí se diferenciální křivka za účelem stanovení bodu ekvivalence (V ml).
 6. *Výpočet*
- Obsah chloru ve vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech se vypočítá podle vzorce:

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

kde

m = hmotnost analyzovaného vzorku (5.1.1) v gramech

a

V = objem 0,1 M roztoku dusičnanu stříbrného spotřebovaného pro titraci do bodu ekvivalence v mililitrech.

7. *Opakovatelnost* ⁽¹⁾
- Při koncentraci chloru 4 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,10 % (m/m).

E. Výpočet poměru počtu atomů hliníku k počtu atomů zirkonia a výpočet poměru počtu atomů hliníku a zirkonia k počtu atomů chloru

1. *Výpočet poměru počtu atomů hliníku k počtu atomů zirkonia*

Poměr Al: Zr se vypočítá podle vzorce:

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

2. *Výpočet poměru počtu atomů hliníku a zirkonia k počtu atomů chloru*

Poměr (Al + Zr): Cl se vypočítá podle vzorce:

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

DŮKAZ A STANOVENÍ HEXAMIDINU, DIBROMHEXAMIDINU, DIBROMPROPAMIDINU A CHLORHEXIDINU

1. *Rozsah a oblast použití*

V této metodě je popsán důkaz a stanovení:

- hexamidinu a jeho solí, včetně 2-hydroxyethansulfonátu a 4-hydroxybenzoátu,
- dibromhexamidinu a jeho solí, včetně 2-hydroxyethansulfonátu,
- dibrompropamidinu a jeho solí, včetně 2-hydroxyethansulfonátu,
- diacetátu, diglukonátu a dihydrochloridu chlorhexidinu v kosmetických prostředcích.

2. *Definice*

Koncentrace hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu a chlorhexidinu stanovené touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech (% m/m).

3. *Podstata metody*

Důkaz a stanovení se provádí pomocí chromatografie iontových párů za použití vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s obrácenými fázemi s následnou detekcí UV spektrofotometrií. Důkaz hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu a chlorhexidinu provádí prostřednictvím jejich retenčních časů v chromatografické koloně.

⁽¹⁾ ISO 5725.

4. Reakční činidla

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a. a případně vhodná pro HPLC.

4.1 Methanol

4.2 Natriumheptan1sulfonát monohydrát

4.3 Ledová kyselina octová ($d_{20} = 1,05$ g/ml)

4.4 Chlorid sodný

4.5 Mobilní fáze

4.5.1 Eluent I: 0,005 M roztok natriumheptan1sulfonátu monohydrátu (4.2) v methanolu (4.1) upravený ledovou kyselinou octovou (4.3) na přibližnou hodnotu pH 3,5.

4.5.2 Eluent II: 0,005 M roztok natriumheptan1sulfonátu monohydrátu (4.2) ve vodě upravený ledovou kyselinou octovou (4.3) na hodnotu pH 3,5.

Poznámka: Jeli nutné zlepšit tvar píků, lze mobilní fáze upravit a připravit níže uvedeným způsobem:

— eluent I: 5,84 g chloridu sodného (4.4) a 1,1013 g natriumheptan1sulfonátu monohydrátu (4.2) se rozpustí ve 100 ml vody. Přidá se 900 ml methanolu (4.1) a upraví se ledovou kyselinou octovou (4.3) na přibližnou hodnotu pH 3,5.

— eluent II: 5,84 g chloridu sodného (4.4) a 1,1013 g natriumheptan1sulfonátu monohydrátu (4.2) se rozpustí v jednom litru vody a nastaví se ledovou kyselinou octovou (4.3) na hodnotu pH 3,5.

4.6 Hexamidindi(2hydroxyethansulfonát) [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]4.7 Dibromhexamidindi(2hydroxyethansulfonát) [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]4.8 Dibrompropamidindi(2hydroxyethansulfonát) [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]4.9 Chlorhexidindiacetát [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]

4.10 Referenční roztoky: v eluentu I (4.5.1) se připraví 0,05 % (m/V) roztoky všech čtyř konzervačních přísad (4.6 až 4.9).

4.11 3,4,4'-Trichlorkarbanilid (Triclocarban) (INN)

4.12 4,4'-Dichlor-3-(trifluormethyl)karbanilid (Halocarban) (INN)

5. Přístroje a pomůcky

5.1 Běžné laboratorní vybavení

5.2 Chromatograf pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii vybavený UV detektorem s nastavitelnou vlnovou délkou

5.3 Analytická dělicí kolona: kolona z korozivzdorné oceli o délce 30 cm a vnitřním průměru 4 mm, s náplní μ Bondapack C_{18} , 10 μ m, nebo s ekvivalentní náplní.

5.4 Ultrazvuková lázeň

6. Důkaz

6.1 Příprava vzorku

Do odměrné baňky na 10 ml se přesně naváží asi 0,5 g vzorku a doplní se po rysku fluátem I (4.5.1). Baňka se na 10 minut vloží do ultrazvukové lázně (5.4). Roztok se zfiltruje nebo odstředí. Filtrát nebo supernatant se použije pro chromatografii.

6.2 Chromatografie

6.2.1 Gradient mobilní fáze

Čas (min)	eluát I (% V/V) (4.5.1)	eluát II (% V/V) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

- 6.2.2 Průtok mobilní fáze (6.2.1) se nastaví na 1,5 ml/min a teplota kolony se nastaví na 35 °C.
- 6.2.3 Vlnová délka detektoru se nastaví na 264 nm.
- 6.2.4 Provede se nástřik 10 µl každého z referenčních roztoků (4.10) a zaznamenají se jejich chromatogramy.
- 6.2.5 Provede se nástřik 10 µl roztoku vzorku (6.1) a zaznamená se jeho chromatogram.
- 6.3 Důkaz přítomnosti hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu nebo chlorhexidinu se provede porovnáním retenčních časů píků zaznamenaných v bodu 6.2.5 s píky získanými pro referenční roztoky v bodu 6.2.4.
7. Stanovení
- 7.1 Stanovení
- Příprava standardních roztoků.
- Jako vnitřní standard se použije jedna z konzervačních přísad (4.6 až 4.9), který není ve vzorku přítomen. Není-li to možné, může být použit Triclocarban (4.11) nebo Halocarban (4.12).
- 7.1.1 Zásobní roztok konzervační přísady, jejíž přítomnost je prokázána v bodu 6.3, 0,05 % (m/V) v eluátu I (4.5.1).
- 7.1.2 Zásobní roztok konzervační přísady zvolené jako vnitřní standard, 0,05 % (m/V) v eluátu I (4.5.1).
- 7.1.3 Pro každou prokázanou konzervační přísadu se připraví čtyři standardní roztoky tak, že se do odměrných baněk na 10 ml odměří podle níže uvedené tabulky množství zásobního roztoku nalezené konzervační přísady (7.1.1) a množství zásobního roztoku vnitřního standardu (7.1.2). Každá banka se doplní po rysku eluentem I (4.5.1) a promíchá se.

Standardní roztok	Zásobní roztok vnitřního standardu	Zásobní roztok konzervační přísady, jejíž přítomnost byla prokázána	
	počet přidanych ml (7.1.2)	počet přidanych ml (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

(*) Tyto hodnoty jsou uvedeny jako ukazatele a odpovídají koncentracím standardních roztoků prokázaných konzervačních přísad připravených ze zásobních roztoků obsahujících přesně 0,05 % prokázané konzervační přísady.

- 7.2 Příprava vzorku
- 7.2.1 Do odměrné banky na 10 ml se přesně naváží asi 0,5 g (p gramů) vzorku, přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu (7.1.2) a 6 ml eluentu I (4.5.1) a promíchá se.
- 7.2.2 Banka se umístí na 10 minut do ultrazvukové lázně (5.4). Ochladí se. Doplní se po rysku eluentem I a promíchá. Odstředí se nebo se filtruje přes skládaný filtrační papír. Supernatant nebo popřípadě filtrát se použije pro chromatografii.
- 7.3 Chromatografie
- 7.3.1 Gradient mobilní fáze, průtok, teplota kolony a vlnová délka detektoru zařízení pro HPLC (5.2) se nastaví podle podmínek požadovaných při důkazu (6.2.1 až 6.2.3).
- 7.3.2 Nástříkne se 10 µl roztoku vzorku (7.2.2) a změří se plochy píků. Tento postup se opakuje s dalšími 10 µl alikvotními podíly roztoku vzorku tak dlouho, dokud se nezískají shodné výsledky. Vypočítá se poměr plochy píku analyzované sloučeniny k ploše píku vnitřního standardu.
- 7.4 Kalibrace
- 7.4.1 Nástříkne se 10 µl každého standardního roztoku (7.1.3) a změří se plochy píků.
- 7.4.2 Pro každý standardní roztok (7.1.3) se vypočítá poměr plochy píku hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu nebo chlorhexidinu k ploše píku vnitřního standardu. Kalibrační křivka se sestojí vynesemím těchto poměrů na osu y a odpovídajících koncentrací standardních roztoků prokázaných konzervačních přísad v µg/ml na osu x.
- 7.4.3 Z kalibrační křivky (7.4.2) se odečte koncentrace prokázané konzervační přísady odpovídající poměru ploch píků vypočítanému v bodu 7.3.2.

8. Výpočet
- 8.1 Obsah hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu nebo chlorhexidinu ve vzorku v hmotnostních procentech se vypočítá podle vzorce:

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

kde

p = hmotnost analyzovaného vzorku (7.2.1) v gramech;

c = koncentrace konzervační přísady v roztoku vzorku odečtená z kalibrační křivky v µg/ml;

MW₁ = molekulová hmotnost základní formy přítomné konzervační přísady,

MW₂ = molekulová hmotnost odpovídající soli (viz bod 10).

9. Opakovatelnost ⁽¹⁾

Při koncentracích hexamidinu, dibromhexamidinu, dibrompropamidinu nebo chlorhexidinu 0,1 % (m/m) by neměl rozdíl výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,005 %.

10. Tabulka molárních hmotností

Hexamin	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂	354,45
Hexamidindi(2-hydroxyethan-1-sulfonát)	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂ ·2C ₂ H ₆ O ₄ S	606,72
Hexamidindi(4-hydroxybenzoát)	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂ ·2C ₇ H ₆ O ₃	630,71
Dibromhexamin	C ₂₀ H ₂₄ Br ₂ N ₄ O ₂	512,24
Dibromhexamidindi(2-hydroxyethan-1-sulfonát)	C ₂₀ H ₂₄ Br ₂ N ₄ O ₂ ·2C ₂ H ₆ O ₄ S	764,51
Dibrompropamin	C ₁₇ H ₁₈ Br ₂ N ₄ O ₂	470,18
Dibrompropamidindi(2-hydroxyethan-1-sulfonát)	C ₁₇ H ₁₈ Br ₂ N ₄ O ₂ ·2C ₂ H ₆ O ₄ S	722,43
Chlorhexidin	C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₁₀	505,45
Chlorhexidindiacetát	C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₁₀ ·2C ₂ H ₄ O ₂	625,56
Chlorhexidindiglukonát	C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₁₀ ·2C ₆ H ₁₂ O ₇	897,76
Chlorhexidindihydrochlorid	C ₂₂ H ₃₀ Cl ₂ N ₁₀ ·2HCl	578,37

⁽¹⁾ ISO 5725.