

Käesolev dokument on vaid dokumenteerimisvahend ja institutsioonid ei vastuta selle sisu eest

► **B**

TEINE KOMISJONI DIREKTIIV,

14. mai 1982,

kosmeetikatoodete koostise kontrolliks vajalikke analüüsimeetodeid käsitlevate liikmesriikide õiguskäitide ühtlustamise kohta

(82/434/EMÜ)

(EÜT L 185 , 30.6.1982, lk 1)

Muudetud:

► **M1** Komisjoni direktiiv, 4. aprill 1990,

Euroopa Liidu Teataja		
nr	lehekülg	kuupäev
L 108	92	28.4.1990



TEINE KOMISJONI DIREKTIIV,

14. mai 1982,

kosmeetikatoodete koostise kontrolliks vajalikke analüüsimeetodeid käsitlevate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamise kohta

(82/434/EMÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 27. juuli 1976. aasta direktiivi 76/768/EMÜ liikmesriikides kosmeetikatoodete kohta vastuvõetud õigusaktide ühtlustamise kohta, ⁽¹⁾ muudetud direktiiviga 79/661/EMÜ, ⁽²⁾ eriti selle artikli 8 lõiget 1,

ning arvestades, et:

direktiiviga 76/768/EMÜ on ette nähtud kosmeetikatoodete ametlik katsetamine, et tagada kosmeetikatoodete koostist käsitlevate ühenduse õigusnormidega ettenähtud tingimuste täitmine;

kõik vajalikud analüüsimeetodid tuleks kehtestada võimalikult kiiresti; esimeseks sammuks selles suunas oli teatavate meetodite määratlemine komisjoni direktiivis 80/1335/EMÜ, ⁽³⁾ teise sammuna tuleb meetodite määratlusse lisada mõnede oksüdeerivate ainete identifitseerimine ja vesinikperoksiidi määramine juuksehooldusvahendites, teatavate oksüdeerivate värvainete identifitseerimine ja poolkvantitatiivne määramine juuksevärvides, nitriti identifitseerimine ja määramine, vaba formaldehüüdi identifitseerimine ja määramine, resortsinooli määramine šampoonides ja juuksevedelikes ning metanooli määramine etanooli või propaan-2-ooli suhtes;

käesolevas direktiivis sätestatud meetmed on kooskõlas direktiivi 76/768/EMÜ kohandamist tehnika arenguga käsitleva komitee arvamusga,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Liikmesriigid võtavad kõik vajalikud meetmed tagamaks, et kosmeetikatoodete ametliku katsetamise käigus:

- oksüdeerivate ainete identifitseerimine ja vesinikperoksiidi määramine juuksehooldusvahendites,
 - teatavate oksüdeerivate värvainete identifitseerimine ja poolkvantitatiivne määramine juuksevärvides,
 - nitriti identifitseerimine ja määramine,
 - vaba formaldehüüdi identifitseerimine ja määramine,
 - resortsinooli määramine šampoonides ja juuksevedelikes,
 - metanooli määramine etanooli ja propaan-2-ooli suhtes
- viiakse läbi kooskõlas lisas kirjeldatud meetoditega.

Artikkel 2

Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigus- ja haldusnormid hiljemalt 31. detsembriks 1983.

Liikmesriigid teatavad nendest viivitamata komisjonile.

⁽¹⁾ EÜT L 262, 27.9.1976, lk 169.

⁽²⁾ EÜT L 192, 31.7.1979, lk 35.

⁽³⁾ EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.

▼B

Artikkel 3

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.



LISA

I. OKSÜDEERIVATE AINETE IDENTIFITSEERIMINE JA VESINIKPEROKSIIDI MÄÄRAMINE JUUKSEHOOLDUSVAHENDITES

EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Vesinikperoksiidi on võimalik jodomeetriliselt määrata kosmeetikatoodetes ainult juhul, kui puuduvad muud jodiididest joodi tekitavad oksüdeerivad ained. Seetõttu on enne vesinikperoksiidi jodomeetrilist määramist vaja kindlaks teha ja identifitseerida kõik muud tootes leiduvad oksüdeerivad ained. Identifitseerimine toimub kahes etapis; esimeses etapis identifitseeritakse persulfaadid, bromaadid ja vesinikperoksiid ning teises etapis baariumperoksiid.

A. PERSULFAATIDE, BROMAATIDE JA VESINIKPEROKSIIDI IDENTIFITSEERIMINE

1. PÕHIMÕTE

Naatrium-, kaalium- ja ammooniumpersulfaati ning kaalium-, naatrium- ja vesinikperoksiidi, olenemata sellest, kas need pärinevad baariumperoksiidist või mitte, identifitseeritakse langeva paberchromatograafia abil, kasutades kaht eluenti.

2. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Järgmistest ühenditest koosnev 0,5(massi/mahu)protsendiline võrdlusvesilahus:

2.1.1. Naatriumpersulfaat.

2.1.2. Kaaliumpersulfaat.

2.1.3. Ammooniumpersulfaat.

2.1.4. Kaaliumbromaat.

2.1.5. Naatriumbromaat.

2.1.6. Vesinikperoksiid.

2.2. Eluent A, 80mahuprotsendiline etanool.

2.3. Eluent B, benseen, metanool, 3-metüülbutaan-1-ool, vesi (mahuvahekorras 34:38:18:10).

2.4. Ilmutuslahus A, 10(massi/mahu)protsendiline kaaliumjodiidi vesilahus.

2.5. Ilmutuslahus B, 1(massi/mahu)protsendiline tärglise vesilahus.

2.6. Ilmutuslahus C, 10massiprotsendiline soolhape.

2.7. 4 N soolhape.

3. SEADMED JA VARUSTUS

3.1. Kromatograafiapaber (*Whatman paper* nr 3 ja nr 4 või samaväärsed).

3.2. Mikropipett, 1 µl.

3.3. Mõõtekolvid, 100 ml.

3.4. Kurdfiltrid.

3.5. Langeva paberchromatograafia seadmed.

4. PROOVI ETTEVALMISTAMINE

4.1. **Vees lahustuvad tooted**

Igast proovist valmistatakse kaks lahust, lahustades 100 ml vees vastavalt 1 g ja 5 g toodet. Punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafia läbiviimiseks kasutatakse 1 µl kumbagi lahust.

▼B

4.2. **Vees raskesti lahustuvad tooted**

- 4.2.1. Kaalutakse 1 g ja 5 g proovi ning disperseeritakse 50 ml vees, täiendatakse mõlemal juhul veega 100 milliliitriini ning segatakse. Kaks dispersiooni filtreeritakse läbi kurdfiltrini (3.4) ja 1 µl kumbagi filtraati kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafia läbiviimiseks.
- 4.2.2. Kummaski proovist valmistatakse veelkord kaks dispersiooni, 50 ml vees disperseerides 1 g ja 5 g, hapestatakse lahjendatud soolhappega (2.7), täiendatakse veega 100 milliliitriini ja segatakse. Dispersioonid filtreeritakse läbi kurdfiltrini (3.4) ja 1 µl kumbagi filtraati kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafia läbiviimiseks.

4.3. **Kreemid**

5 g ja 20 g toodet disperseeritakse 100 ml vees ning dispersioone kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafia läbiviimiseks.

5. **MEETOD**

- 5.1. Langeva paberchromatograafia läbiviimiseks pannakse vajalik kogus eluente A (2.2) ja B (2.3) kahte eraldi chromatograafiakambrisse. Kõnealuseid chromatograafiakambreid küllastatakse lahustiaurudega vähemalt 24 tundi.
- 5.2. 1 µl üht proovilahust ja üht punktide 4 ja 2.1 kohaselt valmistatud võrdluslahust kantakse 40 cm pikkuse ja 20 cm laiuse või muu sobiva suurusega chromatograafiapaberi (*Whatman* nr 3 või samaväärne) (3.1) stardijoonele ning lastakse lahusel õhu käes kuivada.
- 5.3. Chromatograafiapaber (5.2) asetatakse eluendiga A (5.1) täidetud chromatograafiakambrisse ja elueeritakse, kuni lahusti piir on liikunud stardijoonest 35 cm kaugusele (umbes 15 tundi).
- 5.4. Korratatakse punktides 5.2 ja 5.3 kirjeldatud protseduuri chromatograafiapaberiga (*Whatman* nr 4 või samaväärne) (3.1) ja eluendiga B. Chromatografeeritakse nii kaua, kuni lahusti piir on liikunud stardijoonest 35 cm kaugusele (umbes viis tundi).
- 5.5. Pärast elueerimist võetakse chromatogrammid kambrit välja ja kuivatatakse õhu käes.
- 5.6. Laigud muudetakse chromatogrammil nähtavaks, pihustades sellele järjestikku:
- 5.6.1. ilmutuslahust A (2.4) ja kohe seejärel ilmutuslahust B (2.5). Kõigepealt ilmuvad chromatogrammile persulfaatide laigud ja seejärel vesinikperoksiidi laigud. Laigud märgistatakse pliitsiga;
- 5.6.2. ilmutuslahusega C (2.6) punkti 5.6.1 kohaselt saadud chromatogrammil; bromaatide olemasolule viitavad hallikassinised laigud chromatogrammil.
- 5.7. Eluentide A (2.2) ja B (2.3) puhul on eespool nimetatud tingimustel võrdlusainete (2.1) R_f väärtused ligikaudu järgmised:

	<i>Eluent A (2.2)</i>	<i>Eluent B (2.3)</i>
Naatriumpersulfaat	0,40	0,10
Kaaliumpersulfaat	0,40	0,02 + 0,05
Ammooniumpersulfaat	0,50	0,10 + 0,20
Naatriumbromaat	0,40	0,20
Kaaliumbromaat	0,40	0,10 + 0,20
Vesinikperoksiid	0,80	0,80

B. BAARIUMPEROKSIIDI IDENTIFITSEERIMINE

1. **PÕHIMÕTE**

Baariumperoksiid identifitseeritakse pärast proovi hapestamist (A.4.2) baariumiooni juuresolekul vesinikperoksiidi tekkimisega:

- persulfaatide (A) puudumisel lisatakse hapestatud proovilahusele (B.4.1) lahjendatud väävelhapet, mille tulemusena moodustub valge baariumsulfaadi sade. Baariumiooni olemasolu proovis (B.4.1) kinnitatakse uuesti paberchromatograafiaga allpool kirjeldatud viisil (B.5),

▼B

— kui proovis on nii baariumperoksiidi kui ka persulfaate (B.4.2), lahustatakse jääk leeliselises lahuses (B.4.2); pärast lahustumist soolhappes kinnitatakse baariumioonide olemasolu lahuses (B.4.2.3) paberchromatograafiliselt ja/või baariumsulfaadi sademega.

2. REAKTIIVID

- 2.1. Metanool.
- 2.2. 36massiprotsendiline kontsentreeritud soolhape.
- 2.3. 6 N soolhape.
- 2.4. 4 N väävelhape.
- 2.5. Dinaatriumrodisonaat.
- 2.6. Baariumkloriid ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- 2.7. Veevaba naatriumkarbonaat.
- 2.8. 1(massi/mahu)protsendiline baariumkloriidi vesilahus.
- 2.9. Eluent, mis koosneb metanoolist, kontsentreeritud soolhapest (36 %) ja veest (mahuvahekorras 80:10:10).
- 2.10. Ilmutuslahus, 0,1(massi/mahu)protsendiline dinaatriumrodisonaadi vesilahus, valmistatud vahetult enne kasutamist.

3. SEADMED JA VARUSTUS

- 3.1. Mikropipett, 5 µl.
- 3.2. Platinatiigid.
- 3.3. Mõõtekolvid, 100 ml.
- 3.4. Kromatograafiapaber *Schleicher and Schull 2043 b* või samaväärne. Paberi puhastamiseks elueeritakse seda öö läbi langeva kromatograafia kambris (A 3.5) eluendiga (B.2.9) ja seejärel kuivatatakse.
- 3.5. Kurdfilterpaber.
- 3.6. Tavalised tõusva paberchromatograafia seadmed.

4. PROOVI ETTEVALMISTAMINE

4.1. Tooded, mis ei sisalda persulfaate

- 4.1.1. 2 g toodet dispergeeritakse 50 ml vees ja dispersiooni pH viiakse soolhappes (B.2.3) umbes üheni.
- 4.1.2. Dispersioon viiakse koos veega 100 ml mõõtekolbi, kolb täidetakse veega märgini ja segatakse. Kõnealust dispersiooni kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafiliseks analüüsiks ja baariumi identifitseerimiseks sulfaadi sademena.

4.2. Tooded, mis sisaldavad persulfaate

- 4.2.1. 2 g toodet dispergeeritakse 100 ml vees ja filtreeritakse.
- 4.2.2. Kuivatatud jäägile lisatakse kaalust 7–10 korda rohkem naatriumkarbonaati (B.2.7), segatakse ja sulatatakse segu platinatiiglis (B.3.2) pool tundi.
- 4.2.3. Jahutatakse toatemperatuurini, sulam lahustatakse 50 ml vees ja filtreeritakse (B.3.5).
- 4.2.4. Sulatusjäák lahustatakse soolhappes (B.2.3) ja täiendatakse veega 100 milliliitrit. Kõnealust lahust kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberchromatograafiliseks analüüsiks ja baariumi identifitseerimiseks sulfaadi sademena.

5. MEETOD

- 5.1. Vajalik kogus eluenti (B.2.9) pannakse tõusva paberchromatograafia kambrisse ja seda küllastatakse vähemalt 15 tundi.

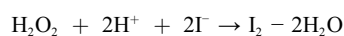
▼B

- 5.2. Jaotise B punktis 3.4 kirjeldatud viisil eelnevalt töödeldud kromatograafiapaberi tüki kolme stardipunkti kantakse 5 µl kõiki jaotise B punktide 4.12 ja 4.2.4 kohaselt valmistatud lahuseid ning jaotise B punktis 2.8 nimetatud võrdluslahust.
- 5.3. Proovi ja võrdluslaike kuivatatakse õhu käes. Kromatografeeritakse, kuni lahusti piir on tõusnud 30 cm.
- 5.4. Kromatogramm võetakse kambrist välja ja seda kuivatatakse õhu käes.
- 5.5. Laigud muudetakse kromatogrammil nähtavaks, pihustades paberile ilmutuslahust B.2.10. Baariumi olemasolu korral ilmuvad kromatogrammile punased laigud, mille R_f väärtus on umbes 70.

C. VESINIKPEROKSIIDI MÄÄRAMINE

1. PÕHIMÕTE

Vesinikperoksiidi jodomeetriline määramine põhineb järgmisel reaktsioonil:



See reaktsioon toimub aeglaselt, aga seda saab kiirendada ammooniummolübdaadi lisamisega. Moodustunud jood määratakse titrimetriliselt naatriumtiosulfaadiga ja selle põhjal arvutatakse vesinikperoksiidi sisaldus.

2. MÄÄRATLUS

Allpool kirjeldatud viisil mõõdetud vesinikperoksiidi sisaldust väljendatakse massiprotsendina (% m/m) tootes.

3. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. 2 N väävelhape.
- 3.2. Kaaliumjodiid.
- 3.3. Ammooniummolübdaat.
- 3.4. 0,1 N naatriumtiosulfaat.
- 3.5. 10(massi/mahu)protsendiline kaaliumjodiidi lahus, valmistatakse vahetult enne kasutamist.
- 3.6. 20(massi/mahu)protsendiline ammooniummolübdaadi lahus.
- 3.7. 1(massi/mahu)protsendiline tärgliselahus.

4. SEADMED JA VARUSTUS

- 4.1. Keeduklaasid, 100 ml.
- 4.2. Bürett, 50 ml.
- 4.3. Mõõtekolvid, 250 ml.
- 4.4. Mõõtsilindrid, 25 ja 100 ml.
- 4.5. Pipetid, 10 ml.
- 4.6. Koonilised kolvid, 250 ml.

5. MEETOD

- 5.1. 100 ml keeduklaasi kaalutakse 10 g (m grammi) toodet, mis sisaldab umbes 0,6 g vesinikperoksiidi. Keeduklaasi sisu viiakse koos veega 250 ml mõõtekolbi, kolb täidetakse veega märgini ja segatakse.
- 5.2. 10 ml proovilahust (5.1) pipeteeritakse 250 ml koonilisse kolbi (4.6) ning lisatakse järjest 100 ml 2 N väävelhapet (3.1), 20 ml kaaliumjodiidi lahust (3.5) ja kolm tilka ammooniummolübdaadi lahust (3.6).

▼B

- 5.3. Moodustunud jood tiitritakse kohe 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (3.4) ning vahetult enne tiitrimise lõpp-punkti lisatakse indikaatoriks mõni milliliiter tärgliselahust (3.7). Märgitakse üles tiitrimiseks kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi (3.4) kogus milliliitrites (V).
- 5.4. Punktides 5.2 ja 5.3 kirjeldatud viisil tehakse pimekatse, asendades 10 ml proovilahust 10 ml veega. Märgitakse üles pimekatsel kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi kogus milliliitrites (V₀).

6. ARVUTAMINE

Toote vesinikperoksiidisaldus arvutatakse massiprotsendina (% m/m) järgmise valemi abil:

$$\begin{aligned} \% \text{ vesinikperoksiidi} &= \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1000} \\ &= \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m} \end{aligned}$$

kus:

- m = analüüsitava toote (5.1) kogus grammides,
 V₀ = pimekatsel (5.4) kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahuse hulk milliliitrites (5.4),
 V = proovilahuse (5.3) tiitrimisel kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahuse hulk milliliitrites.

7. KORRATAVUS (1)

Kui toote vesinikperoksiidisaldus on umbes 6 massiprotsenti, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,2 %.

II. TEATAVATE OKSÜDEERIVATE VÄRVAINETE IDENTIFITSEERIMINE JA POOLKVANTITATIIVNE MÄÄRAMINE JUUKSEVÄRVIDES

1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesolev meetod sobib järgmiste ainete identifitseerimiseks ja poolkvantitatiivseks määramiseks kreemjates ja vedelates juuksevärvides:

Ained	Tähis
<i>Fenüleendiamiinid</i>	
orto-fenüleendiamiin	(OPD)
meta-fenüleendiamiin	(MPD)
para-fenüleendiamiin (V lisa)	(PPD)
<i>Metüülfenüleendiamiinid</i>	
4-metüül-1,2-fenüleendiamiin (tolueen-3,4-diamiin)	(OTD)
4-metüül-1,3-fenüleendiamiin (tolueen-2,4-diamiin)	(MTD)
2-metüül-1,4-fenüleendiamiin (tolueen-2,5-diamiin)	(PTD)
<i>Diaminofenoolid</i>	
2,4-diaminofenool	(DAP)
<i>Hüdrokinoon</i>	
1,4-benseendiool	(H)
alfa-naftool	(α-N)
<i>Pürogallool</i>	
1,2,3-trihüdrosübenseen	(P)
<i>Resortsinool</i>	
1,3-dihüdrosübenseen	(R)

(1) Vt standard ISO 5725.

▼B

2. PÕHIMÕTE
- Oksüdeerivad värvained ekstraheeritakse kreemjatest või vedelatest värvidest pH 10 juures 96protsendilise etanooliga ja identifitseeritakse ühe- või kahemõõtmelise õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.
- Kõnealuste ainete poolkvantitatiivseks määramiseks võrreldakse proovide kromatogramme nelja eluendi abil samal ajal ja võimalikult samastes tingimustes saadud võrdlusainete kromatogrammidega.
3. REAKTIIVID
- Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.
- 3.1. Veevaba etanool.
- 3.2. Atsetoon.
- 3.3. Etanool, 96 mahuprotsenti.
- 3.4. Ammoniaagilahus, 25 % ($(d_4^{20} = 0,91) = 0.91$).
- 3.5. L(+)-askorbiinhape.
- 3.6. Kloroform.
- 3.7. Tsükloheksaan.
- 3.8. Lämmastik, tehniline.
- 3.9. Tolueen.
- 3.10. Benseen.
- 3.11. n-butanool.
- 3.12. Butaan-2-ool.
- 3.13. Hüpoposforishape, 50mahuprotsendiline lahus.
- 3.14. Diasoreaktiiv. Kas:
- 3-nitro-1-benseendiasooniumklorobenseensulfonaat (stabiilne soola vorm), näiteks *Red 2 JN – Francolor*,
 - 2-kloro-4-nitro-1-benseendiasooniumnaftaleenbensonaat (stabiilne soola vorm), näiteks *NNCD* reaktiiv – viitenumber 74 150 FLUKA, või samaväärne.
- 3.15. Hõbenitraat.
- 3.16. p-dimetüülaminobensaldehüüd.
- 3.17. 2,5-dimetüülfenool.
- 3.18. Raudkloriidheksahüdraat.
- 3.19. Soolhape, 10(massi/mahu)protsendiline lahus.
- 3.20. **Võrdlusained**
- Võrdlusained on esitatud punktis 1 “Eesmärk ja rakendusala”. Amiinide korral peab võrdlusaineks olema mono- või di-hüdrokloriid või vaba alus.
- 3.21. **0,5(massi/mahu)protsendilised võrdluslahused**
- Igast punktis 3.20 nimetatud võrdlusainest valmistatakse 0,5(massi/mahu)protsendiline lahus.
- 10 ml mõõtekolbi kaalutakse 50 mg ± 1 mg võrdlusainet.
- Lisatakse 5 ml 96 % etanooli (3.3) ja 250 mg askorbiinhapet (3.5).
- Ammoniaagilahuse (3.4) lisamisega muudetakse lahus leeliseliseks, viies pH 10ni (katsetatakse indikaatorpaberiga).
- Täidetakse 96 % etanooliga (3.3) 10 millimeetrini ja segatakse.
- Lahuseid võib säilitada nädal aega jahedas ja pimedas kohas.
- Teatavatel juhtudel võib pärast askorbiinhapet ja ammoniaagi lisamist tekkida sade. Sellel tuleks lasta enne katse jätkamist settida.

▼ **B**3.22. **Eluendid.**

- 3.22.1. Atsetoon, kloroform, toluen (mahuvahekorras 35:25:40).
- 3.22.2. Kloroform, tsükloheksaan, absoluutne alkohol, 25 % ammoniaak (mahuvahekorras 80:10:10:1).
- 3.22.3. Benseen, butaan-2-ool, vesi (mahuvahekorras 50:25:25). Loksutatakse korralikult ja kasutatakse ülemist faasi pärast eraldamist toatemperatuuril (20–25°C).
- 3.22.4. n-butanool, kloroform, reaktiiv M (mahuvahekorras 7:70:23). Eraldatakse hoolikalt toatemperatuuril (20–25°C) ja kasutatakse alumist faasi.

Reaktiivi M valmistamine

Ammoniaagilahus, 25 mahuprotsenti	24 osa
Hüpfosforishape, 50 % (3.13)	1 osa
Vesi	75 osa

Märkus

Ammoniaaki sisaldavaid eluente tuleb vahetult enne kasutamist hoolikalt loksutada.

3.23. **Ilmutid.**3.23.1. *Diasoreaktiiv.*

Valitud reaktiivist (3.14) valmistatakse 5(massi/mahu)protsendiline vesilahus. See lahus tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.

3.23.2. *Ehrlichi reaktiiv.*

2 g p-dimetüülaminobensaldehüüdi (3.16) lahustatakse 100 millimeetris 10(massi/mahu)protsendilises soolhappe vesilahuses (3.19).

3.23.3. *2,5-dimetüülfenool-raudkloriidheksahüdraat.*

Lahus 1: 1 g dimetüülfenooli (3.17) lahustatakse 100 millimeetris 96 % etanoolis (3.3).

Lahus 2: 4 g raudkloriidheksahüdraati (3.18) lahustatakse 100 millimeetris 96 % etanoolis (3.3).

Elueerimiseks pihustatakse kõnealuseid lahuseid eraldi, kõigepealt lahust 1 ja seejärel lahust 2.

3.23.4. *Ammoniaakaalne hõbenitraat*

25 % amooniaagilahust (3.4) lisatakse hõbenitraadi (3.15) 5(massi/mahu)protsendilisele vesilahusele, kuni sade on lahustunud. See reaktiiv tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.

Reaktiivi ei säilitata.

4. **SEADMED**

4.1. Tavalised ÖKK-ks kasutatavad laboriseadmed.

4.1.1. Plast- või klaaskate peab olema valmistatud nii, et kromatograafiaplaati saab proovide plaadile kandmise ja plaadi kuivatamise ajal hoida lämmastiku keskkonnas. See ettevaatusabinõu on vajalik, sest teatavad värvained oksüdeeruvad kergesti.

4.1.2. Mikrosüstal, 10 µl, gradueeritud 0,2 µl jaotustega, nelinurkse nõelaga, või 50 µl dispenser, mis on kinnitatud statiivi külge nii, et plaati saaks hoida lämmastiku all.

4.1.3. Silikageeliga ÖKK-plaadid, kasutusvalmis, paksus 0,25 mm, 20 × 20 cm (Macherey and Nagel, Silica G-HR, mis on plastikalusel, või samaväärsed)

4.2. Tsentrifuug, kiirus 4000 pööret minutis.

4.3. Tsentrifuugiküvetid, 10 ml, PTFE-tihendiga varustatud keeratava korgiga, või samaväärsed.

▼**B**

5. ANALÜÜSI KÄIK

5.1. **Proovide töötlemine**

Esimesed 2–3 cm tuubist väljapigistatud kreemi visatakse ära.

Eelnevalt lämmastikuga läbipuhutud tsentrifuugiküvetti (4.3) pannakse järgmised ained: 300 mg askorbiinhapet ja 3 g kreemi või 3 g homogeniseeritud vedelikku.

Tilkhaaval lisatakse 25 % ammoniaak (3.4), kuni pH on 10. Täidetakse 96 % etanooliga (3.3) 10 millimeetrini.

Homogeniseeritakse lämmastiku (3.8) all, tsentrifuugiküvett suletakse korgiga ja tsentrifuugitakse kiirusel 4000 pööret minutis kümme minutit.

Kasutatakse supernatanti.

5.2. **Kromatograafia**5.2.1. *Plaatidele kandmine*

Lämmastiku (3.8) keskkonnas kantakse ÖKK-plaadile (4.1.3) 1 µl kõiki eespool kirjeldatud võrdluslahuseid üheksasse üksteisest umbes 1,5 cm kaugusel ja plaadi servast ligikaudu 1,5 cm asuvasse punkti.

Kõnealused võrdluslahused kantakse plaadile järgmiselt:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	α-N							

Lisaks kantakse punktidesse 10 ja 11 vastavalt 2 µl punkti 5.1 kohaselt saadud uuritava proovi lahuseid.

Plaati hoitakse lämmastiku (3.8) keskkonnas kuni kromatografeerimiseni.

5.2.2. *Elueerimine*

Plaat asetatakse eelnevalt lämmastikuga (3.8) läbipuhutud kambrisse, mida on küllastatud ühega neljast lahustist (3.22), ja elueeritakse toatemperatuuril (20–25 °C) pimedas, kuni lahusti piir on tõusnud umbes 15 cm stardijoonest kõrgemale.

Plaat võetakse kambrist välja ja kuivatatakse toatemperatuuril lämmastiku (3.8) keskkonnas.

5.2.3. *Ilmutamine*

Plaadile pihustatakse kohe üht punktis 3.23 nimetatud neljast lahusest.

5.2.4. *Identifitseerimine*

Võrreldakse proovi ja kromatografeeritud võrdlusainete R_f väärtust ja värvust.

I tabelis on esitatud kõigi ainete R_f väärtused ja värvused sõltuvalt kasutatud eluendist ja ilmutist.

Kaheldava identifitseerimise kinnituseks võib mõnikord kasutada lisamismeetodit, lisades prooviekstraktile vastava võrdlusaine lahust.

5.2.5. *Poolkvantitatiivne hindamine*

Kõigi punkti 5.2.4 kohaselt identifitseeritud ainete laikude intensiivsust võrreldakse visuaalselt vastavas kontsentratsioonis võrdlusainetega.

Kui ühe või mitme proovis tuvastatud aine kontsentratsioon on liiga suur, lahjendatakse prooviekstrakti ja korratakse mõtmist.

I TABEL

Laikude R_f väärtus ja värvus vahetult pärast ilmutamist

Võrdlusaine (3.20)	Eluendid				Ilmutid			
	R_f väärtused				Ilmutamisel saadud värvused			
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Diasoreaktiiv (3.23.1)	Ehrlichi reaktiiv (3.23.2)	Dimetüülfenool (3.23.3)	AgNO (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,47	kahvatupruun	—	—	kahvatupruun
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	violetne pruun (*)	kollane	kahvatupruun	kahvatupruun
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	pruun	erepunane (*)	violetne	hall
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	pruun (*)	kahvatuoranž	kahvatupruun	hallikaspruun
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	punakaspruun (*)	kollane	pruun	must
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	pruun	oranž	violetne (*)	hall
DAP	0,07	—	0	0,05	pruun (*)	oranž	violetne	pruun
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	oranž	violetne	must (*)
α -N	0,90	0,80	0,90	0,75	oranžikaspruun	—	violetne (*)	must
P	0,37	—	0,67	0,05	pruun	väga kahvatu violetne	väga kahvatu pruun	pruun (*)
R	0,50	0,37	0,80	0,17	oranž (*)	kahvatu violetne	väga kahvatu pruun	kahvatupruun

Märkus

- OPD on ainult nõrgalt nähtav; OPD ja OTD teineteisest selgelt eristamiseks tuleb kasutada lahustit (3.22.3).
- (*) Osutab parimale ilmutamistulemusele.

▼B

6. KAHEMÕÕTMELINE ÕHEKIHKROMATOGRAAFILINE KONTROLLIMINE

Käesolevaks kahemõõtmeliseks õhekihikromatograafeerimiseks on vaja täiendavaid standardeid ja reaktiive.

6.1. Täiendavad võrdluslahused ja -ained

- 6.1.1. β -naftool (β -N)
- 6.1.2. 2-aminofenool (OAP)
- 6.1.3. 3-aminofenool (MAP)
- 6.1.4. 4-aminofenool (PAP)
- 6.1.5. 2-nitro-1,4-fenüleendiamiin (2-NPPD)
- 6.1.6. 4-nitro-1,2-fenüleendiamiin (4-NOPD)

Kõigist täiendavatest võrdlusainetest valmistatakse 0,5(massi/mahu)protsendiline lahus, nagu on kirjeldatud punktis 3.21.

6.2. Täiendav eluent

- 6.2.1. Etüülatsetaat, tsükloheksaan, 25 % ammoniaagilahus (mahuvahekorras 65:30:0,5)

6.3. Täiendav ilmutussüsteem

ÕKK-kambrisse asetatakse klaasnõu, lisatakse sinna umbes 2 g joodikristalle ja suletakse kamber nõuetekohase kaanega.

6.4. Kromatografeerimine

- 6.4.1. ÕKK-plaadi (4.1.3) absorbeerivale pinnale tõmmatakse kaks joont vastavalt joonisele 1.
- 6.4.2. Lämmastiku keskkonnas (4.1.1) kantakse 1–4 μ l ekstrakti põhipunkti 1 (joonis 1), mis on 2 cm kaugusel kummastki servast. Ekstrakti kogus sõltub laigu intensiivsusest kromatogrammidel (5.2).
- 6.4.3. Punktide 2 ja 3 (joonis 1) vahel jaotatakse punkti 5.2 kohaselt identifitseeritud või eeldatavalt identifitseeritud oksüdeerivad värvained (punktidevaheline kaugus 1,5 cm). Kõiki võrdluslahuseid kantakse plaadile 2 μ l, v.a DAP, mida tuleb kanda 6 μ l. Seda tehakse lämmastiku keskkonnas (6.4.2).
- 6.4.4. Punktis 6.4.3 kirjeldatud toimingut korratakse põhipunktides 4 ja 5 (joonis 1) ning plaati säilitatakse lämmastiku keskkonnas kuni kromatografeerimiseni (punktidevaheline kaugus 1,5 cm).
- 6.4.5. Kromatograafiakamber puhutakse läbi lämmastikuga ja sellesse viiakse sobiv kogus eluent (3.22.2). Plaat asetatakse kambrisse (6.4.4) ja elueeritakse pimedas esimeses elueerimissuunas (joonis 1).
Elueeritakse nii kaua, kuni lahusti piir jõuab plaadil märgitud jooneni (ligikaudu 13 cm kaugusel).
- 6.4.6. Plaat võetakse kambrist välja ja asetatakse eelnevalt lämmastikuga läbi puhutud kromatograafiakambrisse ning lastakse eluendil vähemalt 60 minutit aurustuda.
- 6.4.7. Lämmastikuga (3.8) läbipuhutud kambrisse viiakse büretiga sobiv kogus eluent (6.2), plaat asetatakse kambrisse (6.4.6) 90° all ja kromatografeeritakse teises suunas (samuti pimedas) nii kaua, kuni lahusti piir jõuab absorbeerivale pinnale märgitud jooneni. Plaat võetakse kambrist välja ja eluendil lastakse õhu käes aurustuda.
- 6.4.8. Plaat asetatakse kümneks minutiks joodiauruga täidetud kromatograafiakambrisse (6.3) ja kahe-suunalise kromatogrammi tõlgendamisel kasutatakse samaaegselt kromatografeeritud võrdlusainete R_f väärtusi ja värvusi (II tabelis on esitatud R_f väärtuste ja värvuste juhised).

Märkus

Laikude maksimaalseks värvumiseks jäetakse kromatogramm pärast elueerimist pooleks tunniks õhu kätte.

▼B

- 6.4.9. Punktis 6.4.8 tuvastatud oksüdeerivate värvainete olemasolu lõplikuks tõendamiseks korratakse punktides 6.4.1–6.4.8 kirjeldatud toiminguid, kandes plaadile põhipunkti 1 lisaks punktis 6.4.2 määratletud ekstrakti-kogusele ka 1 µl punktis 6.4.8 kindlaksmääratud võrdlusaineid. Kui võrreldes punkti 6.4.8 kohaselt saadud kromatogrammiga uusi laike ei teki, on punkti 6.4.8 kohane kromatogrammi tõlgendus õige.

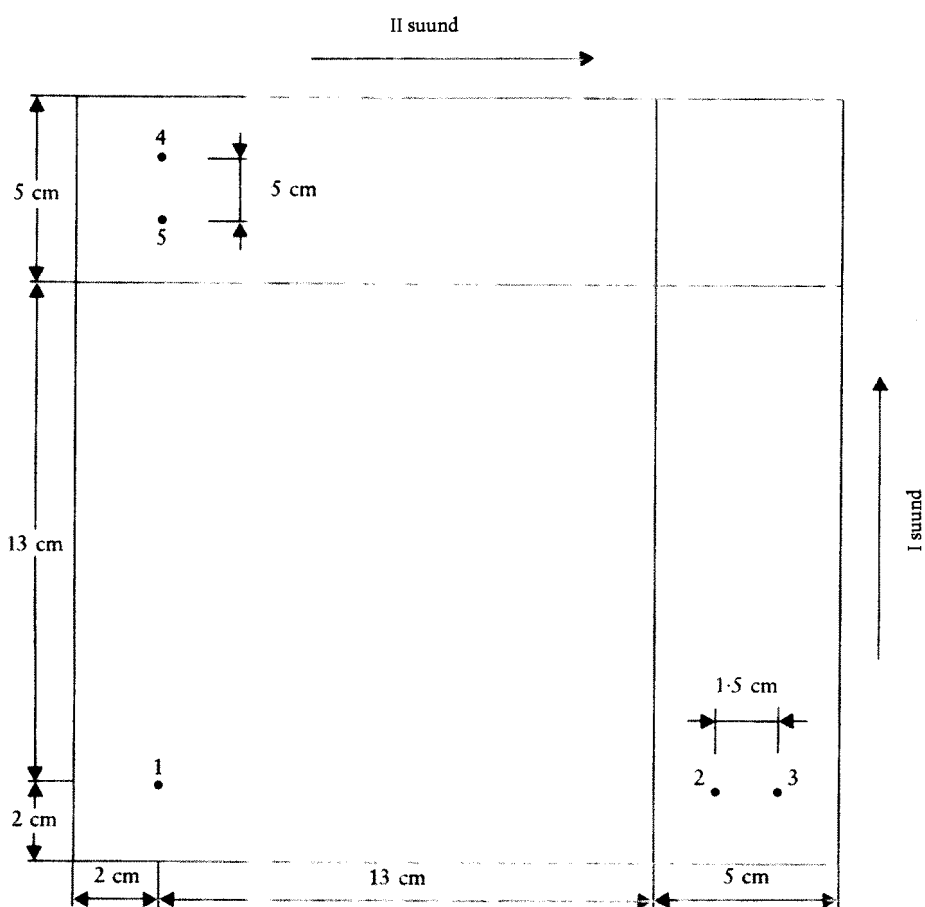
▼B

II TABEL

Võrdlusainete värvus pärast kromatografeerimist ja joodiaurus ilmutamist

Võrdlusained	Värv pärast joodiaurus ilmutamist
R	beež
P	pruun
α -N	violetne
β -N	kahvatupruun
H	violetne pruun
MPD	kollakaspruun
PPD	violetne pruun
MTD	tumepruun
PTD	kollakaspruun
DAP	tumepruun
OAP	oranž
MAP	kollakaspruun
PAP	violetne pruun
2-NPPD	pruun
4-NOPD	oranž

Joonis 1



▼B

III. NITRITI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesolev meetod sobib nitriti identifitseerimiseks kosmeetikatoodetes, eelkõige kreemides ja pastades.

2. PÕHIMÕTE

Nitriti olemasolule viitab 2-aminobensaldehüüd-fenüülhüdrosooni (Nitrin®) sisaldavate värviliste derivaatide teke.

3. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Lahjendatud väävelhape: 2 ml kontsentreeritud väävelhapet ($(d_4^{20} = 1,84) = 1,84$) lahjendatakse 11 ml destilleeritud veega.

3.2. Lahjendatud soolhape: 1 ml kontsentreeritud soolhapet ($(d_4^{20} = 1,19) = 1,19$) lahjendatakse 11 ml destilleeritud veega.

3.3. Metanool.

3.4. 2-aminobensaldehüüd-fenüülhüdrosooni (Nitrin® reaktiiv) metanoolilahus.

Kaalutakse 2,0 g Nitriini® ja viiakse see kvantitatiivselt 100 ml mõõtekolbi. Lisatakse tilkhaaval 4 ml lahjendatud soolhapet (3.2) ja loksutatakse. Kolb täidetakse metanooliga märgini ja segatakse, kuni lahus on täiesti selge. Lahust säilitatakse tumedas klaaspudelil (4.3).

4. SEADMED

4.1. Keeduklaasid, 50 ml.

4.2. Mõõtekolb, 100 ml.

4.3. Tume klaaspudel, 125 ml.

4.4. Klaasplaat, 10 × 10 cm.

4.5. Plastspaatel.

4.6. Filterpaber, 10 × 10 cm.

5. ANALÜÜSI KÄIK

5.1. Osa uuritavast proovist jaotatakse ühtlaselt klaasplaadile (4.4) maksimaalselt 1 cm paksuse kihina.

5.2. Filterpaberileht (4.6) niisutatakse destilleeritud vees. See asetatakse proovile ja vajutatakse plastspaatliga (4.5) vastu proovi.

5.3. Oodatakse umbes üks minut ja filterpaberi keskele kantakse:

— kaks tilka lahjendatud väävelhapet (3.1),

— seejärel kaks tilka Nitriini® lahust (3.4).

5.4. Kümne sekundi pärast eemaldatakse filterpaber ja uuritakse seda vastu päevavalgust. Nitriini olemasolule viitab purpurpunakas värvus.

Kui nitritisaldus on väike, muutub purpurpunakas värv 5–15 sekundi pärast kollaseks. Kui nitritisaldus on suur, muutub värv alles 1–2 minuti pärast.

▼B

6. MÄRKUS
Purpurpunaka värv intensiivsus ja selle kollaseks muutumisele kuluv aeg võib osutada proovi nitritisaldusele.

B. MÄÄRAMINE

1. EESMÄRK
Meetod kirjeldab nitriti määramist kosmeetikatoodetes.
2. MÄÄRATLUS
Käesoleva meetodiga määratud nitritisaldust proovis väljendatakse naatriumnitriti massiprotsendina.
3. PÕHIMÕTE
Pärast proovi lahustamist vees ja selitamist lastakse proovis sisalduval nitritil reageerida sulfaniilamiidi ja N-1-naftüületüleendiamiiniga ning saadud värvi optiline tihedus mõõdetakse 538 nm juures.
4. REAKTIIVID
Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.
- 4.1. Selitamisreaktiivid: kõnealuseid reaktiive ei või kasutada kauem kui üks nädal pärast valmistamist.
- 4.1.1. I Carrez' reaktiiv:
106 g kaaliumkaaliumtsüanoferraati (II) ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) lahustatakse destilleeritud vees ja lahjendatakse veega 1 000 milliliitriini.
- 4.1.2. II Carrez' reaktiiv:
219,5 g tsinkatsetaati ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) ja 30 ml jää-äädikat lahustatakse destilleeritud vees ja lahjendatakse veega 1 000 milliliitriini.
- 4.2. Naatriumnitriti lahus:
0,500 g naatriumnitritit lahustatakse destilleeritud vees 1000 ml mõõtekolvis ja lahjendatakse veega märgini. 10,0 ml kõnealust standardpõhilahust lahjendatakse 500 milliliitriini; 1 ml viimati nimetatud lahust = 10 mikrogrammi $NaNO_2$.
- 4.3. 1 N naatriumhüdrosiidi lahus.
- 4.4. 0,2 % sulfaniilamiidhüdrokloriidi lahus:
2,0 g sulfaniilamiidi lahustatakse 800 ml vees seda soojendades. Jahutatakse ja lisatakse segades 100 ml kontsentreeritud soolhapet. Lahjendatakse veega 1 000 milliliitriini.
- 4.5. 5 N soolhape
- 4.6. N-1-naftüülreaktiiv:
See lahus tuleb valmistada kasutamispäeval. 0,1 g N-1-naftüületüleendiamiini lahustatakse vees ja lahjendatakse 100 milliliitriini.
5. SEADMED
- 5.1. Analüütilised kaalud.
- 5.2. 100, 250, 500 ja 1000 ml mõõtekolvid.
- 5.3. Maht- või mõõtepipetid.
- 5.4. 100 ml mõõtesilindrid.
- 5.5. Kurdfiltrid, nitritivabad, läbimõõduga 15 cm.
- 5.6. Veevann.
- 5.7. Spektrofotomeeter, millel on 1 cm optilise teepikkusega küvetid.
- 5.8. pH-meeter.
- 5.9. 10 ml mikrobürett.
- 5.10. 250 ml keeduklaasid.

▼B

6. ANALÜÜSI KÄIK

- 6.1. Kaalutakse umbes 0,5 g (m grammi) homogeniseeritud proovi täpsusega 0,1 g, kantakse see kuuma destilleeritud veega kvantitatiivselt 250 ml keeduklaasi (5.10) ja viiakse maht kuuma destilleeritud veega umbes 150 milliliitri. Keeduklaas (5.10) asetatakse pooleks tunniks veevanni (5.6) temperatuurile 80 °C. Sel ajal loksutatakse sisu aeg-ajalt.
- 6.2. Jahutatakse toatemperatuurini ja segades lisatakse järjest 2 ml I Carrez' reaktiivi (4.1.1) ja 2 ml II Carrez' reaktiivi (4.1.2).
- 6.3. Lisatakse 1 N naatriumhüdroksiidi lahust (4.3), et tõsta pH 8,3ni. (Kasutatakse pH-meetrit (5.8)). Sisu viiakse kvantitatiivselt 250 ml mõõtekolbi (5.2) ja täidetakse see destilleeritud veega märgini.
- 6.4. Sisu segatakse ja filtreeritakse läbi kurdfiltrit (5.5).
- 6.5. Pipeteeritakse (5.3) sobiv kogus (V ml), aga mitte rohkem kui 25 ml, selget filtraati 100 ml mõõtekolbi (5.2) ja lisatakse destilleeritud vett 60 milliliitri.
- 6.6. Pärast segamist lisatakse 10,0 ml sulfaniilamiidhüdrokloriidi lahust (4.4) ja seejärel 6,0 ml 5 N soolhapet (4.5). Segatakse ja lastakse seista viis minutit. Lisatakse 2,0 ml N-1-naftüülreaktiivi (4.6), segatakse ja lastakse seista kolm minutit. Lahjendatakse veega märgini ja segatakse.
- 6.7. Tehakse pimekatse, korrates punktides 6.5 ja 6.6 nimetatud toiminguid ilma N-1-naftüülreaktiivi (4.6) lisamata.
- 6.8. Mõõdetakse punkti 6.6 kohaselt saadud lahuse optiline tihedus 538 nm juures, kasutades võrdluseks pimelahust (6.7).
- 6.9. Kalibreerimisgraafikult (6.10) loetakse naatriumnitriti sisaldus mikrogrammides 100 ml lahuse kohta (m_1 mikrogrammi), mis vastab punkti 6.8 kohaselt mõõdetud optilisele tihedusele.
- 6.10. Kasutades 10 µg/ml naatriumnitriti lahust (4.2), koostatakse kalibreerimisgraafik kontsentratsioonidega 0, 20, 40, 60, 80 ja 100 µg naatriumnitritit 100 ml kohta.

7. ARVUTAMINE

Proovi naatriumnitriti sisaldus massiprotsendina arvutatakse järgmise valemi abil:

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

kus:

m = analüüsiks võetud proovi mass grammides (6.1),

m_1 = punkti 6.9 kohaselt tuvastatud naatriumnitriti sisaldus mikrogrammides,

V = mõõtmiseks kasutatud filtraadi maht milliliitrites (6.5).

8. KORRATAVUS ⁽¹⁾

Kui naatriumnitritisaldus on umbes 0,2 massiprotsenti, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,005 %.

▼M1

IV. VABA FORMALDEHÜÜDI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesolev meetod kirjeldab identifitseerimist ja kaht määramisviisi sõltuvalt sellest, kas formaldehüüdi doonoreid esineb või mitte. Seda kohaldatakse kõikide kosmeetikatoodete puhul.

1.1. Identifitseerimine

⁽¹⁾ Vt standard ISO 5725.

▼ **M1**

- 1.2. **Üldine määramine pentaan-2,4-diooniga kolorimeetriliselt**
- Seda meetodit kasutatakse, kui formaldehüüdi on kasutatud üksinda või koos teiste säilitusainetega, mis ei ole formaldehüüdi doonorid.
- Kui ei ole tegemist sellise juhuga ja kui tulemus ületab maksimaalse lubatud kontsentratsiooni, tuleb kasutada järgmist tõestusmeetodit.
- 1.3. **Määramine formaldehüüdi doonorite juuresolekul**
- Eespool nimetatud meetodi (1.2) puhul lagunevad formaldehüüdi doonorid derivatiseerimise käigus ja seetõttu saadakse liiga suur tulemus (seotud või polümeriseerunud formaldehüüd).
- Vaba formaldehüüd tuleb eraldada vedelikkromatograafiliselt.
2. **MÄÄRATLUS**
- Käesoleva meetodi kohaselt määratud vaba formaldehüüdi sisaldust proovis väljendatakse massiprotsendina.
3. **IDENTIFITSEERIMINE**
- 3.1. **Põhimõte**
- Vaba ja seotud formaldehüüd muudab Schiffi reaktiivi väävelhappe keskkonnas roosaks või kahvatulillaks.
- 3.2. **Reaktiivid**
- Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad ja vesi peab olema demineraliseeritud.
- 3.2.1. Fuksiin.
- 3.2.2. Naatriumsulfitheptahüdraat.
- 3.2.3. Kontsentreeritud soolhape ($d = 1,19$).
- 3.2.4. Väävelhape, umbes 1 M.
- 3.2.5. *Schiffi reaktiiv:*
- 100 mg fuksiini (3.2.1) kaalutakse keeduklaasi ja lahustatakse 75 ml vees temperatuuril 80°C. Pärast jahutamist lisatakse 2,5g naatriumsulfitit (3.2.2). Täiendatakse 100 ml-ni.
- Kasutatakse kahe nädala jooksul.
- 3.3. **Analüüsi käik**
- 3.3.1. 2 g proovi kaalutakse 10-ml keeduklaasi.
- 3.3.2. Lisatakse kaks tilka väävelhapat (3.2.4) ja 2 ml Schiffi reaktiivi (3.2.5). See reaktiiv peab olema kasutamise ajal täiesti värvitu.
- Loksutatakse ja jäetakse viieks minutiks seisma.
- 3.3.3. Kui viie minuti jooksul ilmneb roosa või kahvatulilla toon, on formaldehüüdi sisaldus suurem kui 0,01 % ja see tuleb määrata vabale ja seotud formaldehüüdile sobiva meetodi kohaselt (4) ning vajaduse korral punktis 5 esitatud meetodi kohaselt.
4. **ÜLDINE MÄÄRAMINE PENTAAN-2,4-DIOONIGA KOLORIMEETRISELT**
- 4.1. **Põhimõte**
- Formaldehüüd reageerib pentaan-2,4-diooniga ammooniumatsetaadi juuresolekul, moodustades 3,5-diatsetüül-1,4-dihüdrolutidiini. See ekstraheeritakse butaan-1-ooliga ja ekstrakti neeldumist mõõdetakse 410 nm juures.
- 4.2. **Reaktiivid**
- Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad ja vesi peab olema demineraliseeritud.

▼ **M1**

- 4.2.1. Veevaba ammooniumatsetaat.
- 4.2.2. Kontsentreeritud äädikhape, $d_4^{20} = 1,05$.
- 4.2.3. Pentaan-2,4-dioon, värskest destilleeritud vaakumis 25 mm Hg juures temperatuuril 25 °C – 410 nm juures ei tohi esineda mingit neeldumist.
- 4.2.4. Butaan-1-ool.
- 4.2.5. Soolhape, 1 M.
- 4.2.6. Soolhape, ligikaudu 0,1 M.
- 4.2.7. Naatriumhüdrosiid, 1 M.
- 4.2.8. Tärgliselahus, värskest valmistatud Euroopa Farmakopöa (teine väljaanne 1980, osa I-VII-1-1) järgi (1 g 50 ml vee kohta).
- 4.2.9. 37–40-massi/mahu% formaldehüüd.
- 4.2.10. Joodi standardlahus, 0,05 M.
- 4.2.11. Naatriumtiosulfaadi standardlahus, 0,1 M.
- 4.2.12. *Pentaan-2,4-diooni reaktiiv:*
1 000-ml mõõtekolvis lahustatakse:
— 150 g ammooniumatsetaati (4.2.1),
— 2 ml pentaan-2,4-diooni (4.2.3),
— 3 ml äädikhapet (4.2.2).
Täiendatakse veega 1 000 ml-ni (lahuse pH umbes 6,4).
See reaktiiv tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.
- 4.2.13. Reaktiiv (4.2.12) ilma pentaan-2,4-dioonita.
- 4.2.14. *Formaldehüüdi standard: põhilahus.*
5 g formaldehüüdi (4.2.9) valatakse 1 000-ml mõõtekolbi ja täiendatakse veega 1 000 ml-ni.
Lahuse kontsentratsioon määratakse järgmiselt:
eemaldatakse 10,00 ml; lisatakse 25,00 ml joodi standardlahust (4.2.10) ja 10,00 ml naatriumhüdrosiidi lahust (4.2.7).
Lastakse seista viis minutit.
Hapestatakse 11,00 ml soolhappesega (4.2.5) ja määratakse joodi liig naatriumtiosulfaadi standardlahusega (4.2.11), kasutades indikaatorina tärgliselahust (4.2.8).
1 ml kasutatud 0,05 M joodi (4.2.10) on samaväärne 1,5 mg formaldehüüdiga.
- 4.2.15. *Formaldehüüdi standard: lahjendatud lahus*
Formaldehüüdi põhilahus lahjendatakse veega kõigepealt 20 korda ja seejärel 100 korda.
1 ml kõnealust lahust sisaldab umbes 1 µg formaldehüüdi.
Arvutatakse täpne sisaldus.
- 4.3. **Seadmed**
- 4.3.1. Tavalised laboriseadmed.
- 4.3.2. Faasijaotusfilter, *Whatman 1 PS* (või samaväärne).
- 4.3.3. Tsentrifuug.
- 4.3.4. Veevann, reguleeritud temperatuurile 60 °C.
- 4.3.5. Spektrofotomeeter.
- 4.3.6. Klaasküvetid, optilise tee pikkusega 1 cm.
- 4.4. **Analüüsi käik**

▼ **M1**4.4.1. *Proovilahus*

100-ml mõõtekolbi kaalutakse 0,001 g täpsusega uuritavat proovi sellises koguses (grammides), milles on formaldehüüdi eeldatavalt umbes 150 µg.

Täiendatakse veega 100 ml-ni ja segatakse (lahus S).

(Kontrollitakse, et pH oleks ligikaudu 6; vastasel juhul lahjendatakse soolhappe lahusega (4.2.6).)

50-ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

- 10,00 ml lahust S,
- 5,00 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.2.12),
- demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

4.4.2. *Võrdluslahus*

Võimalikud uuritava proovi taustavärvist tingitud häired kõrvaldatakse käesoleva võrdluslahusega:

50-ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

- 10,00 ml lahust S,
- 5,00 ml reaktiivi (4.2.13),
- demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

4.4.3. *Pimekatse*

50-ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

- 5,0 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.2.12),
- demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

4.4.4. *Määramine*

4.4.4.1. Loksutada punktides 4.4.1, 4.4.2 ja 4.4.3 esitatud segusid. Erlenmeyeri kolvid pannakse veevanni temperatuuril 60 °C täpselt 10 minutiks. Lastakse jahtuda vannis jäävees kaks minutit.

4.4.4.2. Lahused kantakse 50-ml jaotuslehtritesse, mis sisaldavad 10 ml butaan-1-ooli (4.2.4). Kõiki kolbe loputatakse 3–5 ml veega. Loksutatakse segu tugevasti täpselt 30 sekundit. Lastakse kihistuda.

4.4.4.3. Butaan-1-ooli faas filtreeritakse läbi faasijaotusfiltri mõõtküvettesse (4.3.2). Võib kasutada ka tsentrifuugimist (3 000 g_n viis minutit).

4.4.4.4. Mõõdetakse punktis 4.4.1 esitatud proovilahuse ekstrakti neeldumine A₁ 410 nm juures punktis 4.4.2 esitatud võrdluslahuse ekstrakti suhtes.

4.4.4.5. Analoogselt mõõdetakse punktis 4.4.3 esitatud pimelahuse ekstrakti neeldumine A₂ butaan-1-ooli suhtes.

NB: Kõik kõnealused toimingud tuleb läbi viia 25 minuti jooksul alates hetkest, kui Erlenmeyeri kolvid asetatakse veevanni temperatuurile 60 °C.

4.4.5. *Kalibreerimiskõver*

4.4.5.1. 50-ml Erlenmeyeri kolbi viiakse:

- 5,00 ml punktis 4.2.15 esitatud lahjendatud standardlahust,
- 5,00 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.2.12),
- demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

4.4.5.2. Jätkatakse vastavalt punktis 4.4.4 kirjeldatule ja mõõdetakse neeldumine butaan-1-ooli (4.2.4) suhtes.

4.4.5.3. Korratatakse protseduuri 10, 15, 20 ja 25 ml lahjendatud standardlahusega (4.2.15).

4.4.5.4. Nullväärtuse saamiseks (vastavalt reaktiivide värvusele) jätkatakse punktis 4.4.4.5 kirjeldatud viisil.

4.4.5.5. Kalibreerimiskõver konstrueeritakse pärast seda, kui kõigist punktide 4.4.5.1 ja 4.4.5.3 kohaselt saadud neeldumistest lahutatakse null-väärtus. Beeri seadus kehtib kuni 30 µg suuruse formaldehüüdi sisalduse puhul.

▼ **M1**4.5. **Arvutamine**

- 4.5.1. A_1 -st lahutatakse A_2 ja kalibreerimiskõveralt (4.4.5.5) loetakse proovilahuse (4.4.1) formaldehüüdisisaldus C mikrogrammides.
- 4.5.2. Proovi formaldehüüdisisaldus massiprotsentides arvutatakse järgmise valemis abil:

$$\text{formaldehüüdisisaldus \%} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

kus:

m = katsekoguse mass grammides.

4.6. **Korratavus** ⁽¹⁾

Kui formaldehüüdisisaldus on 0,2 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe olla pentaal-2,4-diooniga kolorimeetriselt määramise puhul olla suurem kui 0,005 %.

Kui vaba formaldehüüdi määramisel saadud tulemus on suurem direktiiviga 76/768/EMÜ ettenähtud maksimumsisaldusest, st:

- a) 0,05–0,2 % märgistamata tootes;
- b) üle 0,2 % märgistatud või märgistamata tootes,
- tuleb kohaldada järgmises punktis 5 kirjeldatud meetodit.

5. **MÄÄRAMINE FORMALDEHÜÜDI DOONORITE JUURESOLEKUL**5.1. **Põhimõte**

Eraldatud formaldehüüd muudetakse pentaan-2,4-diooniga kollaseks lutidiini derivaadiks kolonnijärgses reaktoris ja saadud derivaadi neeldumine mõõdetakse 420 nm juures.

5.2. **Reaktiivid**

Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad ja vesi peab olema demineraliseeritud.

- 5.2.1. Vesi, puhas kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (*HPLC*) jaoks või samaväärne.
- 5.2.2. Veevaba ammooniumatsetaat.
- 5.2.3. Kontsentreeritud äädikhape.
- 5.2.4. Pentaan-2,4-dioon (hoitud temperatuuril 4 °C).
- 5.2.5. Veevaba dinaatriumfosfaat.
- 5.2.6. 85 % ortofosforhape ($d = 1,7$).
- 5.2.7. Metanool, puhas *HPLC* jaoks.
- 5.2.8. Diklorometaan.
- 5.2.9. 37–40-massi/mahu% formaldehüüd.
- 5.2.10. Naatriumhüdrokksiid, 1 M.
- 5.2.11. Soolhape, 1 M.
- 5.2.12. Soolhape, 0,002 M.
- 5.2.13. Tärgliselahus, värskelt valmistatud Euroopa Farmakopöa järgi (vt punkt 4.2.8).
- 5.2.14. Joodi standardlahus, 0,05 M.
- 5.2.15. Naatriumtiosulfaadi standardlahus, 0,1 M.

⁽¹⁾ Standard ISO 5725.

▼ **M1**

- 5.2.16. *Liikuv faas:*
0,006 M dinaatriumfosfaadi (5.2.5) vesilahus, mille pH on ortofosforhappega (5.2.6) viidud 2,1-ni.
- 5.2.17. *Kolonnijärgne reaktiiv:*
1 000-ml mõõtekolvis lahustatakse:
— 62,5 g ammooniumatsetaati (5.2.2),
— 7,5 ml äädikhapet (5.2.3),
— 5 ml pentaan-2,4-diooni (5.2.4).
Täiendatakse veega (5.2.1) 1 000 ml-ni.
Kõnealust reaktiivi hoitakse pimedas.
Säilitusaeg: maksimaalselt kolm päeva temperatuuril 25 °C.
Värvus ei tohi muutuda.
- 5.2.18. *Formaldehüüdi standard: põhilahus*
10 g formaldehüüdi (5.2.9) valatakse 1 000-ml mõõtekolbi ja täiendatakse veega 1 000 ml-ni.
Lahuse kontsentratsioon määratakse järgmiselt:
eemaldatakse 5,00 ml; lisatakse 25,00 ml joodi standardlahust (5.2.14) ja 10,00 ml naatriumhüdroksiidi lahust (5.2.10).
Lastakse seista viis minutit.
Hapestatakse 11,00 ml soolhappega (5.2.11) ja tiitritakse joodi standardlahuse liig naatriumtiosulfaadi standardlahusega (5.2.15), kasutades indikaatorina tärkliselahust (5.2.13).
1 ml joodilahust (5.2.14) on samaväärne 1,5 mg formaldehüüdiga.
- 5.2.19. *Formaldehüüdi standard: lahjendatud lahus*
Põhilahust lahjendatakse 100 korda liikuva faasiga (5.2.16).
1 ml kõnealust lahust sisaldab umbes 37 mg formaldehüüdi.
Arvutatakse täpne sisaldus.
- 5.3. **Seadmed**
- 5.3.1. Tavalised laboriseadmed.
- 5.3.2. *HPLC* pump, pulseerimisvaba.
- 5.3.3. Madalsurvepump, pulseerimisvaba, reaktiivide jaoks (või teine *HPLC* pump).
- 5.3.4. Sissepritseventiil, 10- μ l silmusega.
- 5.3.5. Kolonnijärgne reaktor, milles on järgmised osad:
+ üks 1-liitrine kolmkaelkolb,
+ üks 1-liitrine kolvikuumuti,
+ kaks *Vigreux* kolonni, vähemalt 10 taldrikuga, kaks neist õhkjahutusega,
+ roostevabast terasest 1,6-mm toru (soojavahetuseks) – siseläbimõõt 0,23 mm, pikkus = 400 mm,
+ 1,6-mm teflontoru – siseläbimõõt 0,30 mm, pikkus 5 m (*French knitting* – vt 1. liide),
+ üks tühimahuta T-kolmik (*Valco* või samaväärne),
+ kolm tühimahuta ühendlüli.
Või: üks 1-ml reaktoriga varustatud kolonnijärgne moodul, *Applied Biosystems PCRS 520* või samaväärne.
- 5.3.6. Membraanfilter, poori suurusega 0,45 μ m.
- 5.3.7. SEP-PAK^R C₁₈-kolonn või samaväärne.
- 5.3.8. Kasutusvalmis kolonnid:
— *Bischoff hypersil RP 18* (tüüp NC, viitenumber C 25.46 1805)

▼ **M1**

- (5 µm, pikkus = 250 mm, siseläbimõõt = 4,6 mm),
- või Dupont, Zorbax ODS
- (5 µm, pikkus = 250 mm, siseläbimõõt = 4,6 mm),
- või Phase SEP, spherisorb ODS 2
- (5 µm, pikkus = 250 mm, siseläbimõõt = 4,6 mm).

5.3.9. *Eelkolonn*

Bischoff K₁ hypersil RP 18 (viitenumber K1 G 6301 1805)

(5 µm, pikkus = 10 mm, või samaväärne).

5.3.10. Kolonn ja eelkolonn on ühendatud *Ecotube*-süsteemi (viitenumber A 15020508 *Bischoff*) või samaväärse abil.

5.3.11. Aparaat (5.3.5) pannakse kokku vastavalt 2. liites esitatud plokk skeemile.

Sissepritseventiilijärgsed ühendused peavad olema võimalikult lühikesed. Sel juhul on reaktori väljundi ja detektori sisendi vahel asuv roosteabast terasest toru ette nähtud segu jahutamiseks enne määramist ning detektori temperatuur ei ole teada, kuid see on konstantne.

5.3.12. UV-VIS detektor.

5.3.13. Isekirjuti.

5.3.14. Tsentrifuug.

5.3.15. Ultrahelivann.

5.3.16. Vibrosegisti (*vortex* või samaväärne).5.4. **Analüüsi käik**5.4.1. *Kalibreerimiskõver*

Kõvera konstrueerimisel võetakse aluseks piikide kõrgused lahjendatud formaldehüüdistandardi sisalduse suhtes.

Standardlahuste valmistamiseks lahjendatakse formaldehüüdi võrdluslahust (5.2.19) liikuva faasiga (5.2.16):

- 1,00 ml lahust (5.2.19) lahjendatakse 20,00 ml-ni (umbes 185 µg/100 ml),
- 2,00 ml lahust (5.2.19) lahjendatakse 20,00 ml-ni (umbes 370 µg/100 ml),
- 5,00 ml lahust (5.2.19) lahjendatakse 25,00 ml-ni (umbes 740 µg/100 ml),
- 5,00 ml lahust (5.2.19) lahjendatakse 20,00 ml-ni (umbes 925 µg/100 ml).

Standardlahuseid hoitakse üks tund laboritemperatuuril ja need peavad olema värskest valmistatud.

Kalibreerimisgraafik on lineaarne, kui sisaldus on 1,00–15,00 µg/ml.

5.4.2. *Proovide ettevalmistamine*5.4.2.1. *Emulsioonid (kreemid, jumestuse alused, silmalainerid)*

100-ml suletavasse mõõtekolbi kaalutakse täpsusega 0,001 g uuritavat proovi sellises koguses (m grammi), milles on eeldatavalt 100 µg formaldehüüdi. Lisatakse 20,00 ml diklorometaani (5.2.8) ja 20,00 ml soolhapet (5.2.12) täpselt mõõdetuna. Segatakse vibrosegistil (5.3.16) ja ultrahelivannis (5.3.15). Kaks faasi eraldatakse tsentrifuugimise teel (3 000 gⁿ kaks minutit). Vahepeal pestakse SEP-kolonn (5.3.7) 2 ml metaanooliga (5.2.7) ja seejärel konditsioneeritakse 5 ml veega (5.2.1).

4 ml ekstrakti vesifaasi lastakse läbi konditsioneeritud SEP-koloni, visatakse ära esimesed 2 ml ja kogutakse kokku järgmine fraktsioon.

5.4.2.2. *Losjoonid, šampoonid*

100-ml suletavasse mõõtekolbi kaalutakse täpsusega 0,001 g uuritavat proovi sellises koguses (m grammi), milles on eeldatavalt 500 µg formaldehüüdi.

Täiendatakse liikuva faasiga (5.2.16) 100 ml-ni.

▼ **M1**

Lahus filtreeritakse läbi filtri (5.3.6) ja lastakse läbi eelnevalt kirjeldatud viisil (5.4.2.1) konditsioneeritud SEP-kolonn (5.3.7). Kõiki lahuseid tuleb süstida vahetult pärast valmistamist.

5.4.3. *Kromatograferimistingimused*

- Liikuva faasi voolukiirus: 1 ml minutis,
- reaktiivi voolukiirus: 0,5 ml minutis,
- üldine voolukiirus detektori väljundis: 1,5 ml minutis,
- süstitav maht: 10 µl,
- elueerimistemperatuur: juhul kui ainete lahutamine on raske, pannakse kolonn sulava jää vanni: oodatakse, kuni temperatuur stabiliseerub (15–20 minutit),
- kolonnijärgse reaktsiooni temperatuur: 100 °C,
- määramine: 420 nm juures.

NB: Kogu kromatograafiasüsteem ja järelkolonn tuleb pärast kasutamist veega (5.2.1) läbi pesta. Kui süsteemi ei ole kasutatud rohkem kui kaks päeva, tuleb lisaks veega pesemisele pesta ka metanooliga (5.2.7). Enne süsteemi konditsioneerimist lastakse sellest vesi läbi, et vältida rekrustalliseerumist.

5.5. **Arvutamine**

Emulsioonid: (5.4.2.1):

Formaldehüüdisisaldus massiprotsentides:

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{5 \text{ m}} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{5 \text{ m}}$$

Losjoonid, šampoonid:

Sel juhul on valem järgmine:

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{\text{m}} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{\text{m}}$$

kus:

m = analüüsitava proovi mass grammides (5.4.2.1),

C = formaldehüüdi sisaldus mikrogrammides 100 ml kohta kalibreerimisgraafiku (5.4.1) järgi.

5.6. **Korratavus ⁽¹⁾**

Kui formaldehüüdisisaldus on 0,05 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,001 %.

Kui formaldehüüdisisaldus on 0,2 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,005 %.

▼ **B**

V. RESORTSINOOLI MÄÄRAMINE ŠAMPOONIDES JA JUUKSEVEDELIKES

1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesoleva meetodiga määratakse gaasikromatograafiliselt resortsinool šampoonides ja juuksevedelikes. Meetod on sobiv proovide puhul, kus kontsentratsioon on 0,1–2,0 massiprotsenti.

2. MÄÄRATLUS

Käesoleva meetodi kohaselt määratud resortsinoolisisaldust proovis väljendatakse massiprotsendina.

⁽¹⁾ Standard ISO 5725.

▼B

3. PÕHIMÕTE
- Resortsinool ja 3,5-dihüdrosütolueen (5-metüülresortsinool), mida lisatakse sisestandardina, eraldatakse proovist õhekihkromatograafia (ÕKK) abil. Mõlema ühendi eraldamiseks kraabitakse laigud ÕKK-plaadilt ja ekstraheeritakse metanooliga. Lõpuks ekstraheeritud ühendid kuivatatakse, silüleeritakse ja määratakse gaasikromatograafiliselt.
4. REAKTIIVID
- Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.
- 4.1. Soolhape, 25 massiprotsenti.
- 4.2. Metanool.
- 4.3. Etanool, 96 mahuprotsenti.
- 4.4. Valmis silikageeliga ÕKK-plaadid (plastist või alumiiniumist), fluorestseeruva indikaatoriga. Deaktiveeritakse järgmiselt: tavalistele eelnevalt kaetud silikageeliplaatidele pihustatakse vett, kuni silikageel klaasistub. Lastakse pihustatud plaatidel kuivada õhu käes toatemperatuuril 1–3 tundi.
- Märkus*
- Kui plaate ei deaktiveerita, võib osa resortsinooli pöördumatult adsorbeeruda silikageelile.
- 4.5. Eluent; atsetoon, kloroform, äädikhape (mahuvahekorras 20:75:5).
- 4.6. Resortsinooli standardlahus; 400 mg resortsinooli lahustatakse 100 milliliitris 96 % etanoolis (4.3) (1 ml vastab 4 000 µg resortsinoolile).
- 4.7. Sisestandardi lahus; 400 mg 3,5-dihüdrosütolueeni (DHT) lahustatakse 100 milliliitris 96 % etanoolis (4.3) (1 ml vastab 4 000 µg DHT-le).
- 4.8. Standardsegu; 10 ml punktis 4.6 esitatud lahust ja 10 ml punktis 4.7 esitatud lahust segatakse 100 ml mõõtekolvis, täidetakse 96 % etanooliga (4.3) määrgini ning segatakse (1 ml vastab 400 µg resortsinoolile ja 400 µg DHT-le).
- 4.9. Silüleerivad ained:
- 4.9.1. N, O-bis-(trimetüülsilüül)trifluorotsetamiid (BSTFA).
- 4.9.2. Heksametüüldisilasaan (HMDS).
- 4.9.3. Trimetüülklorosilaan (TMCS).
5. SEADMED
- 5.1. Tavalised õhekihi- ja gaasikromatograafia seadmed.
- 5.2. Klaasesemed.
6. ANALÜÜSI KÄIK
- 6.1. **Proovi ettevalmistamine**
- 6.1.1. 150 ml keeduklaasi kaalutakse täpne katsekogus (m grammi) toodet, mis sisaldab ligikaudu 20–50 mg resortsinooli.
- 6.1.2. Hapestatakse soolhappega (4.1), kuni segu on happeline (vajalik ligikaudu 2–4 ml), lisatakse 10 ml (40 mg DHT) sisestandardi lahust (4.7) ja segatakse. Segu viiakse etanooliga (4.3) 100 ml mõõtekolbi, täidetakse etanooliga määrgini ja segatakse.
- 6.1.3. 250 µl lahust (6.1.2) kantakse deaktiveeritud silikageeli plaadile (4.4) ligikaudu 8 cm pikkuse pideva joonena. Joon peaks olema võimalikult kitsas.
- 6.1.4. Samamoodi (6.1.3) kantakse samale plaadile 250 µl standardsegu (4.8).
- 6.1.5. Stardijoonede kahte punkti kantakse 5 µl punktides 4.6 ja 4.7 nimetatud lahuseid, et hõlbustada laikude identifitseerimist pärast plaadi elueerimist.
- 6.1.6. Plaati elueeritakse voorderdamata (küllastamata) kambris, mis on täidetud punktis 4.5 nimetatud eluendiga, kuni lahusti piir on tõusnud 12 cm kaugusele stardijoonest; tavaliselt kulub selleks umbes 45 minutit. Plaat kuivatatakse õhu käes ja lokaliseeritakse resortsinooli/

▼B

DHT-tsoon lühilaine-UV-valguses (254 nm). Mõlemal ühendil on ligikaudu sama R_f väärtus. Lindid märgistatakse pliiatsiga 2 mm kauguselt väljaspool lindi tumedat serva. Kõnealusel tsoonid eemaldatakse ja iga lindi adsorbent kogutakse 10 ml pudelisse.

- 6.1.7. Nii proovi sisaldavat adsorbenti kui ka standardsegu sisaldavat adsorbenti ekstraheeritakse järgmiselt:
- lisatakse 2 ml metanooli (4.2) ja ekstraheeritakse üks tund pidevalt segades. Segu filtreeritakse ja korratakse ekstraheerimist 2 ml metanooliga veel 15 minutit.
- 6.1.8. Ekstraktid ühendatakse ja aurustatakse lahusti, kuivatades lahust üks ööpäev sobiva desikandiga täidetud vaakumeksikaatoris. Ei kuumutata.
- 6.1.9. Jäägid (6.1.8) silüleeritakse vastavalt punktile 6.1.9.1. või 6.1.9.2.
- 6.1.9.1. Mikrosüstlaga lisatakse 200 µl BSTFA-d (4.9.1) ja segu jäetakse suletud nõus 12 tunniks toatemperatuuril seisma.
- 6.1.9.2. Mikrosüstlaga lisatakse järjest 200 µl HMDSi (4.9.2) ja 100 µl TMCSi (4.9.3) ning kuumutatakse segu suletud nõus 30 minutit temperatuuril 60 °C. Segu jahutatakse.

6.2. Gaasikromatograafia

6.2.1. Kromatografeerimistingimused

Kolonna lahutusvõime R peab olema vähemalt 1,5, kus:

$$R = \frac{2 d' (r_2 - r_1)}{w_1 + w_2}$$

kus:

- r_1 ja r_2 = kahe piigi retentsiooniajad minutites,
 w_1 ja w_2 = samade piikide laiused millimeetrites poolkõrgusel,
 d' = lindi kiirus millimeetrites minutis.

On leitud, et järgmine kolonn ja järgmised kromatografeerimistingimused on sobivad:

Kolonna	Materjal:	roostevaba teras
	pikkus:	200 cm
	siseläbimõõt:	~ 3 mm
	täidis:	10 % <i>OV-17 Chromosorb</i> 'il <i>WAW</i> , 100–120 mešši.

Leekionisatsioonidetektor

Temperatuurid:

kolonn:	185 °C (isotermiline)
detektor:	250 °C
aurusti:	250 °C
Kandegaas:	lämmastik
voolukiirus:	45 ml minutis.

Vesiniku ja õhu voolukiiruste puhul tuleb järgida tootja juhiseid.

- 6.2.2. Gaasikromatograafi süstitakse 1–3 µl punkti 6.1.9 kohaselt saadud lahuseid. Iga lahusega (6.1.9) tehakse viis süsti, mõõdetakse piikide pindalad, leitakse nende keskmine ja arvutatakse piikide pindalade suhe: $S = \text{resortsinooli piigi pindala/DHT piigi pindala}$.

7. ARVUTAMINE

Proovi resortsinoolisisaldus massiprotsentides esitatakse järgmise valemi abil:

▼B

$$\% \text{ resortsinooli} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{proov}}}{S_{\text{standardsegu}}}$$

kus:

- M = katsekogus grammides (6.1.1),
 S_{proov} = proovilahuse piikide keskmise piigi suhe vastavalt punktidele 6.2.2,
 $S_{\text{standardsegu}}$ = standardsegu piikide keskmise piigi suhe vastavalt punktidele 6.2.2.

8. KORRATAVUS ⁽¹⁾

Kui resortsinoolisisaldus on umbes 0,5 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,25 %.

VI. METANOOLI MÄÄRAMINE ETANOOLI VÕI PROPAAAN-2-OOLI SUHTES

1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesolev meetod kirjeldab metanooli gaasikromatograafilist analüüsi kõikvõimalikes kosmeetikatoodetes (sh aerosoolides).

On võimalik määrata 0–10 % suurust suhtelist sisaldust.

2. MÄÄRATLUS

Käesoleva meetodiga määratud metanoolisisaldust väljendatakse metanooli massiprotsendina etanooli või propaan-2-ooli suhtes.

3. PÕHIMÕTE

Määratakse gaasikromatograafiliselt.

4. REAKTIIVID

Kasutatakse analüütiliselt puhtaid reaktiive.

4.1. Metanool.

4.2. Absoluutne etanool.

4.3. Propaan-2-ool.

4.4. Kloroform, vabastatud alkoholidest veega pesemise teel.

5. SEADMED

5.1. Gaasikromatograaf, mis on varustatud:

kataromeetriga aerosoolproovide jaoks,
 leekionisatsioonidetektoriga muude proovide, v.a aerosoolproovid, jaoks.

5.2. Mõõtekolvid, 100 ml.

5.3. Pipetid, 2 ml, 20 ml, 0–1 ml.

5.4. Mikrosüstlad, 0–100 µl ja 0–5 µl

ning (ainult aerosoolproovide jaoks) spetsiaalne gaasitihe liugklapiga süstal (vt proovivõtumeetod, joonis 1). ⁽²⁾

6. ANALÜÜSI KÄIK

⁽¹⁾ Vt standard ISO 5725.

⁽²⁾ EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.

▼ B

6.1. Proovi ettevalmistamine

- 6.1.1. Aerosooltoodetest võetakse proov kooskõlas komisjoni 22. detsembri 1980. aasta direktiivi 80/1335/EMÜ⁽¹⁾ lisa II peatükiga ja seejärel analüüsitakse gaasikromatograafiliselt punktis 6.2.1 esitatud tingimustel.
- 6.1.2. Muudest toodetest, v.a aerosooltooted, eespool nimetatud II peatüki kohaselt võetud proovid lahjendatakse veega, kuni etanooli või propaan-2-ooli sisaldus on 1–2 % ja seejärel analüüsitakse gaasikromatograafiliselt punktis 6.2.2 esitatud tingimustel.

6.2. Gaasikromatograafia

- 6.2.1. Aerosoolproovide puhul kasutatakse kataromeetrit.
- 6.2.1.1. Kolonni täidiseks on 10 % *Hallcomid M18 Chromosorb* 'il *WAW*, 100–200 mešši.
- 6.2.1.2. Kolonni lahutusvõime R peab olema vähemalt 1,5, kus:

$$R = 2 \frac{d' r_2 - d' r_1}{w_1 + w_2}$$

kus:

- r_1 ja r_2 = kahe piigi retentsiooniajad minutites,
 w_1 ja w_2 = samade piikide laiused millimeetrites poolkõrgusel,
 d' = lindi kiirus millimeetrites minutis.

- 6.2.1.3. Selline lahutusvõime on võimalik saavutada järgmistel tingimustel:

Kolonni	materjal:	roostevaba teras
	pikkus:	3,5 meetrit
	läbimõõt:	3 mm

Kataromeetrilise silla voolutu-
gevus: 150 mA

Kandegaas: heelium

rõhk: 0,5 baari

voolukiirus: 45 ml minutis

Temperatuurid:

aurusti: 150 °C

detektor: 150 °C

kolonnahi: 65 °C.

Piigi pindala on võimalik täpsemini mõõta elektroonilise integreerimise teel.

- 6.2.2. Muude proovide, v.a aerosoolproovid, puhul:
- 6.2.2.1. Kolonni täidiseks on *Chromosorb 105* või *Porapak QS* ning kasutatakse leekionisatsioonidetektorit.
- 6.2.2.2. Kolonni lahutusvõime R peab olema vähemalt 1,5, kus:

$$R = 2 \frac{d' r_2 - d' r_1}{w_1 + w_2}$$

- r_1 ja r_2 = kahe piigi retentsiooniajad minutites,
 w_1 ja w_2 = samade piikide laiused millimeetrites poolkõrgusel,
 d' = lindi kiirus millimeetrites minutis.

- 6.2.2.3. Selline lahutusvõime on saavutatud järgmistel tingimustel:

Kolonni	materjal:	roostevaba teras
	pikkus:	2 meetrit
	läbimõõt:	3 mm

(¹) EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.

▼B

Elektromeetri tundlikkus:	8×10^{-10} A
Gaasid:	
kandegaas:	lämmastik
rõhk:	2,1 baari
voolukiirus:	40 ml/minutis
Abigaas:	vesinik
rõhk:	1,5 baari
voolukiirus:	20 ml/minutis
Temperatuurid:	
aurusti:	150 °C
detektor:	230 °C
kolonnahi:	120–130 °C.

7. STANDARDGRAAFIK

- 7.1. Punktis 6.2.1 esitatud gaasikromatograafia korral (*Hallcomid M18* kolonniga) kasutatakse järgmisi standardsegusid. Segud valmistatakse pipeteerides, kuid täpne kogus leitakse pipeti või kolvi kaalumiseega vahetult pärast iga aine lisamist.

Suhteline kontsentratsioon (massiprotsentides)	Metanool (ml)	Etanool või propaan-2-ool (ml)	Kloroform, lisatakse kuni mahuni
ligikaudu 2,5 %	0,5	20	100 ml
ligikaudu 5,0 %	1,0	20	100 ml
ligikaudu 7,5 %	1,5	20	100 ml
ligikaudu 10,0 %	2,0	20	100 ml

2–3 µl süstitakse kromatograafi punktis 6.2.1 esitatud tingimustel.

Arvutatakse iga segu piikide pindalade suhe (metanool/etanool või metanool/propaan-2-ool). Standardgraafik konstrueeritakse järgmiselt:

X-telg: – metanooli % etanooli ja propaan-2-ooli suhtes,

Y-telg: piikide pindalade suhe (metanool/etanool või metanool/propaan-2-ool).

- 7.2. Punktis 6.2.2 esitatud gaasikromatograafia korral (*Porapak QS* või *Chromosorb 105* kolonniga) kasutatakse järgmisi standardsegusid. Segude valmistamisel mõõdetakse mikrosüstla ja pipetiga, kuid täpne kogus leitakse pipeti või kolvi kaalumiseega vahetult pärast iga aine lisamist.

Suhteline kontsentratsioon (massiprotsentides)	Metanool (µl)	Etanool või propaan-2-ool (ml)	Vesi, lisatakse kuni mahuni
ligikaudu 2,5 %	50	2	100 ml
ligikaudu 5,0 %	100	2	100 ml
ligikaudu 7,5 %	150	2	100 ml
ligikaudu 10,0 %	200	2	100 ml

2–3 µl süstitakse kromatograafi punktis 6.2.2 esitatud tingimustel.

Arvutatakse iga segu piikide pindalade suhe (metanool/etanool või metanool/propaan-2-ool). Standardgraafik konstrueeritakse järgmiselt:

X-telg: metanooli % etanooli ja propaan-2-ooli suhtes,

Y-telg: piikide pindalade suhe (metanool/etanool või metanool/propaan-2-ool).

▼B

7.3. Standardgraafik peab olema sirgjoon.

8. KORRATAVUS ⁽¹⁾

Kui metanoolisisaldus etanooli või propaan-2-ooli suhtes on 5 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,25 %.

⁽¹⁾ Vt standard ISO 5725.

▼ **M1**

1. liide

FRENCH KNITTING'U JUHEND

VAJALIKUD ABIVAHENDID

- Üks puitpool:
 - välisläbimõõt 5 cm, keskel ava läbimõõduga 1,5 cm. Lüüakse sisse neli teras-naela (nagu näidatud joonistel 1 ja 2). Naeltevaheline kaugus peab olema 1,8 cm ja need peavad olema avast 0,5 cm kaugusel,
- üks jäik nõel (heegelnõela tüüpi) teflontorust silmuste tegemiseks,
- 5 m 1,6-mm teflontoru, siseläbimõõt 0,3 mm.

TÖÖ KÄIK

French knitting'u alustamiseks tuleb teflontoru ajada läbi pooliava ülevalt alla (jättes umbes 10 cm toru pooli alt välja, mis võimaldab valmiskootud osa kudumise käigus läbi pooliava sisse tõmmata); seejärel keritakse toru järgemööda ümber nelja naela joonisel 3 näidatud viisil.

French knitting'u ülemine ja alumine ots kaitstakse metallrõngaste ja survekruidudega; tuleb jälgida, et teflontoru ei vigastataks kruvide pingutamisel. Toru keeratakse teist korda ümber iga naela ja "pisted" tehakse järgmiselt:

- alumine toru tõstetakse konksuga üle ülemise toru (vt joonis 4). Seda korratakse järjekorras iga naela puhul (1, 2, 3, 4 vastupäeva), kuni 5 m on ära kulutatud või on saavutatud soovitud kudumipikkus.

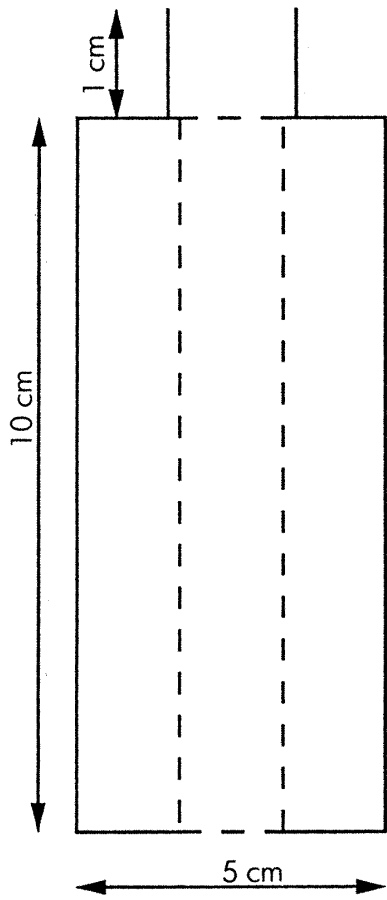
Umbes 10 cm jäetakse kudumiahela sulgemiseks. Toru aetakse läbi kõigist neljast silmusest ja tõmmatakse õrnalt, et ahela ots sulguks.

NB: Müüakse ka tööstuslikult valmistatud *French knitting*'ut kolonnijärgsete reaktorite jaoks (*Supelco*).

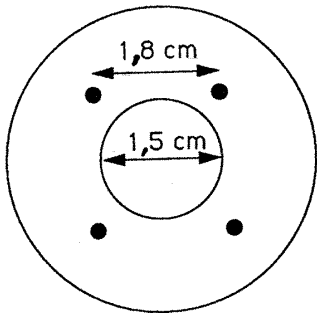
▼ **M1**

Pooli skemaatiline joonis

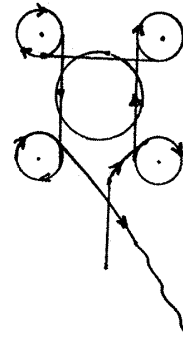
Joonis 1



Joonis 2

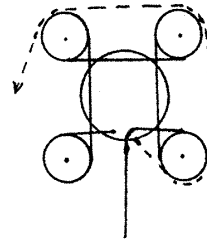


Joonis 3



Esimene toru

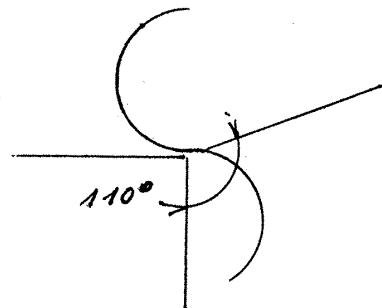
Joonis 4



Teine toru

"Piste" tegemiseks tõstetakse alumine toru (pidev joon) üle teise toru (punktirjoon).

Joonis 5



▼ M1

2. liide

- 1 = HPLC pump
- 2 = Sissepritseventiil
- 3 = Kolonn koos eelkolonniga
- 4 = Reaktiivipump
- 5 = T-kolmik, tühimahuta
- 5' = T-kolmik (*Vortex*)
- 6-6' = Tühimahuta ühendus
- 7 = *French knitting*
- 7' = Reaktor
- 8 = Kolmkaelkolb koos keeva veega
- 9 = Kolvi kuumuti
- 10 = Jahuti
- 11 = Roostevabast terasest soojusvaheti toru
- 11' = Soojusvaheti
- 12 = UV-VIS detektor
- 13 = Kolonnijärgne moodul *PCRS 520*.

