

31982L0434

30.6.1982

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

L 185/1

## TEINE KOMISJONI DIREKTIIV,

14. mai 1982,

**kosmeetikatoodete koostise kontrolliks vajalikke analüüsimeetodeid käsitlevate liikmesriikide õigusaktide ühtlustamise kohta**

(82/434/EMÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

identifitseerimine ja määramine, resortsinooli määramine šampoonides ja juuksevedelikes ning metanooli määramine etanooli või propaan-2-ooli suhtes;

võttes arvesse Euroopa Majandusühenduse asutamislepingut,

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

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

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

## Artikkel 1

ning arvestades, et:

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

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

— oksüdeerivate ainete identifitseerimine ja vesinikperoksiidi määramine juuksehooldusvahendites,

kõik vajalikud analüüsimeetodid tuleks kehtestada võimalikult kiiresti; esimeseks sammuks selles suunas oli teatavate meetodite määratlemine komisjoni direktiivis 80/1335/EMÜ, <sup>(3)</sup> 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

— teatavate oksüdeerivate värvainete identifitseerimine ja poolkvantitatiivne määramine juuksevärvides,

— nitriti identifitseerimine ja määramine,

<sup>(1)</sup> EÜT L 262, 27.9.1976, lk 169.

<sup>(2)</sup> EÜT L 192, 31.7.1979, lk 35.

<sup>(3)</sup> EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.

— 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.

*Artikkel 3*

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 14. mai 1982

*Komisjoni nimel*

*komisjoni liige*

Karl-Heinz NARJES

## 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 tärklise 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 paberkromatograafia 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 paberkromatograafia läbiviimiseks kasutatakse 1 µl kumbagi lahust.

## 4.2. Vees raskesti lahustuvad tooted

4.2.1. Kaalutakse 1 g ja 5 g proovi ning dispergeeritakse 50 ml vees, täiendatakse mõlemal juhul veega 100 milliliitriini ning segatakse. Kaks dispersiooni filtreeritakse läbi kurdfiltritri (3.4) ja 1 µl kumbagi filtraati kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberkromatograafia läbiviimiseks.

4.2.2. Kummastki proovist valmistatakse veelkord kaks dispersiooni, 50 ml vees dispergeerides 1 g ja 5 g, hapestatakse lahjendatud soolhappega (2.7), täiendatakse veega 100 milliliitriini ja segatakse. Dispersioonid filtreeritakse läbi kurdfiltritri (3.4) ja 1 µl kumbagi filtraati kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberkromatograafia läbiviimiseks.

## 4.3. Kreemid

5 g ja 20 g toodet dispergeeritakse 100 ml vees ning dispersioone kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberkromatograafia läbiviimiseks.

## 5. MEETOD

5.1. Langeva paberkromatograafia läbiviimiseks pannakse vajalik kogus eluente A (2.2) ja B (2.3) kahte eraldi kromatograafiakambrisse. Kõnealuseid kromatograafiakambreid 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 kromatograafiapaberi (*Whatman* nr 3 või samaväärne) (3.1) stardijoonele ning lastakse lahusel õhu käes kuivada.

5.3. Kromatograafiapaber (5.2) asetatakse eluendiga A (5.1) täidetud kromatograafiakambrisse 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 kromatograafiapaberiga (*Whatman* nr 4 või samaväärne) (3.1) ja eluendiga B. Kromatografeeritakse nii kaua, kuni lahusti piir on liikunud stardijoonest 35 cm kaugusele (umbes viis tundi).

5.5. Pärast elueerimist võetakse kromatogramm kambrist välja ja kuivatatakse õhu käes.

5.6. Laigud muudetakse kromatogrammil nähtavaks, pihustades sellele järjestikku:

5.6.1. ilmutuslahust A (2.4) ja kohe seejärel ilmutuslahust B (2.5). Kõigepealt ilmuvad kromatogrammide persulfaatide laigud ja seejärel vesinikperoksiidi laigud. Laigud märgistatakse pliiaatsiga;

5.6.2. ilmutuslahusega C (2.6) punkti 5.6.1 kohaselt saadud kromatogrammil; bromaatide olemasolule viitavad hallikassinised laigud kromatogrammil.

5.7. Eluente A (2.2) ja B (2.3) puhul on eespool nimetatud tingimustel võrdlusainete (2.1) R<sub>f</sub> väärtused ligikaudu järgmised:

	Eluent A (2.2)	Eluent B (2.3)
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),
- 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 soolhappest (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. **Tooted, mis ei sisalda persulfaate**

## 4.1.1. 2 g toodet dispergeeritakse 50 ml vees ja dispersiooni pH viiakse soolhappega (B.2.3) umbes üheni.

- 4.1.2. Dispersioon viiakse koos veega 100 ml mõõtekolbi, kolb täidetakse veega margini ja segatakse. Kõnealust dispersiooni kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberkromatograafiliseks analüüsiks ja baariumi identifitseerimiseks sulfaadi sademena.
- 4.2. **Tooted, 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 plaatinatiiglis (B.3.2) pool tundi.
- 4.2.3. Jahutatakse toatemperatuurini, sulam lahustatakse 50 ml vees ja filtreeritakse (B.3.5).
- 4.2.4. Sulatusjääk lahustatakse soolhappes (B.2.3) ja täiendatakse veega 100 milliliitriini. Kõnealust lahust kasutatakse punktis 5 kirjeldatud paberkromatograafiliseks analüüsiks ja baariumi identifitseerimiseks sulfaadi sademena.
5. **MEETOD**
- 5.1. Vajalik kogus eluenti (B.2.9) pannakse tõusva paberkromatograafia kambrisse ja seda küllastatakse vähemalt 15 tundi.
- 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<sub>f</sub> väärtus on umbes 70.

### C. VESINIKPEROKSIIDI MÄÄRAMINE

#### 1. PÕHIMÕTE

Vesinikperoksiidi jodomeetriline määramine põhineb järgmisel reaktsioonil:



See reaktsioon toimub aeglaselt, aga seda saab kiirendada ammooniummolüüdaadi 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. Ammooniummolüüdaat.
- 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 tärkliiselahus.
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).
- 5.3. Moodustunud jood tiitritakse kohe 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (3.4) ning vahetult enne tiitrimise lõpppunkti lisatakse indikaatoriks mõni milliliiter tärkliiselahust (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 ( $V_0$ ).
6. ARVUTAMINE

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

$$\begin{aligned} \% \text{ vesinikperoksiidi} &= \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1\,000} \\ &= \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m} \end{aligned}$$

kus:

m = analüüsitava toote (5.1) kogus grammides,

$V_0$  = 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 %.

(1) Vt standard ISO 5725.

## 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	( $\alpha$ -N)
<i>Pürogallool</i>	
1,2,3-trihüdroksübenseen	(P)
<i>Resortsinool</i>	
1,3-dihüdroksübenseen	(R)

### 2. PÕHIMÕTE

Oksüdeerivad värvained ekstraheeritakse kreemjatest või vedelatest värvidest pH 10 juures 96protsendilise etanooliga ja identifitseeritakse ühe- või kahemõtmelise õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.

Kõnealuste ainete poolkvantitatiivseks määramiseks võrreldakse proovide kromatogramme nelja eluendi abil samal ajal ja võimalikult sarnastes 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. Hüpfosforishape, 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 indikaatorpaberi-ga).
- Täidetakse 96 % etanooliga (3.3) 10 millimeetrini ja segatakse.
- Lahuseid võib säilitada nädal aega jahedas ja pimedas kohas.
- Teatavatel juhtudel võib pärast askorbiinhappe ja ammoniaagi lisamist tekkida sade. Sellel tuleks lasta enne katse jätkamist settida.
- 3.22. **Eluendid.**
- 3.22.1. Atsetoon, kloroform, tolueen (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.

**5. ANALÜÜSI KÄIK****5.1. Proovide töötlemine**

Esimesed 2–3 cm tuubist väljapigistatud kreemi visatakse ära.

Eelnevalt lämmastikuga läbipuhutud tsentrifuugiküveti (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 ÕKK-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.

Plaat 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 mõõtmist.

I TABEL

Laikude  $R_f$  väärtus ja värvus vahetult pärast ilmutamist

Võrdlusaine (3.20)	Eluendid				Ilmutid			
	$R_f$ väärtused				Ilmutamisel saadud värvid			
	(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 (°)
$\alpha$ -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

1. OPD on ainult nõrgalt nähtav; OPD ja OTD teineteisest selgelt eristamiseks tuleb kasutada lahustit (3.22.3).

2. (°) Osutab parimale ilmutamistulemusele.

## 6. KAHEMÕÖTMELINE ÕHEKIHKROMATOGRAAFILINE KONTROLLIMINE

Käesolevaks kahemõõtmeliseks õhekihikromatograaferimiseks on vaja täiendavaid standardeid ja reaktiive.

## 6.1. Täiendavad võrdluslahused ja -ained

6.1.1.  $\beta$ -naftool ( $\beta$ -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. ÖKK-plaadi (4.1.3) absorbeerivale pinnale tõmmatakse kaks joont vastavalt joonisele 1.
- 6.4.2. Lämmastiku keskkonnas (4.1.1) kantakse 1–4 µl 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 µl, v.a DAP, mida tuleb kanda 6 µl. 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 eluenti (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 läbipuhutud kromatograafiakambrisse ning lastakse eluendil vähemalt 60 minutit aurustuda.
- 6.4.7. Lämmastikuga (3.8) läbipuhutud kambrisse viiakse büretiga sobiv kogus eluenti (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.

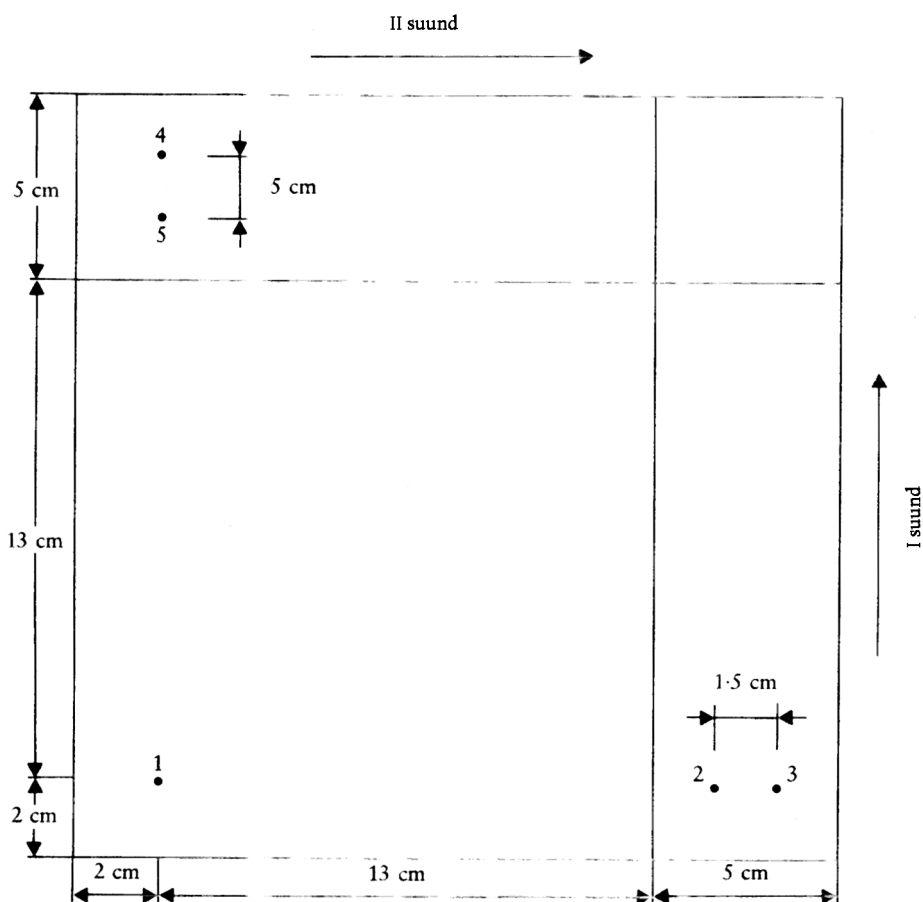
- 6.4.9. Punktis 6.4.8 tuvastatud oksüdeerivate värvainete olemasolu lõplikuks tõendamiseks korratakse punktides 6.4.1–6.4.8 kirjeldatud toiminguid, kandes plaadile põhipunkti 1 lisaks punktis 6.4.2 määratletud ekstraktikogusele ka 1 µl punktis 6.4.8 kindlaksmääratud võrdlusaineid. Kui võrreldes punkti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

II TABEL

## Võrdlusainete värvus pärast kromatografeerimist ja joodiaurus ilmutamist

Võrdlusained	Värv pärast joodiaurus ilmutamist
R	beež
P	pruun
$\alpha$ -N	violetne
$\beta$ -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



## 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-fenüülhüdrosiooni (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-fenüülhüdrosiooni (Nitrin® reaktiiv) metanoolilahus.

Kaalutakse 2,0 g Nitrini® 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 Nitrini® lahust (3.4).

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

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

#### 6. MÄRKUS

Purpurpunaka värvi intensiivsus ja selle kollaseks muutumisele kuluv aeg võib osutada proovi nitritisisaldusele.

### B. MÄÄRAMINE

#### 1. EESMÄRK

Meetod kirjeldab nitriti määramist kosmeetikatoodetes.

#### 2. MÄÄRATLUS

Käesoleva meetodiga määratud nitritisisaldust proovis väljendatakse naatriumnitriti massiprotsendina.

#### 3. PÕHIMÕTE

Pärast proovi lahustamist vees ja selitamist lastakse proovis sisalduval nitritil reageerida sulfaniilamiidi ja N-1-naftüületüleendiamiini 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.
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 milliliitriini. 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 kurdfiltri (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 milliliitriini.
  - 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<sub>1</sub> = punkti 6.9 kohaselt tuvastatud naatriumnitriti sisaldus mikrogrammides,

V = mõõtmiseks kasutatud filtraadi maht milliliitrites (6.5).

#### 8. KORRATAVUS (\*)

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

### IV. VABA FORMALDEHÜÜDI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

#### 1. EESMÄRK JA RAKENDUSALA

Käesolev meetod kirjeldab vaba formaldehüüdi identifitseerimist ja määramist. Seda kohaldatakse kõigi kosmeetikatoodete suhtes ja see koosneb kolmest osast.

##### 1.1. Identifitseerimine.

##### 1.2. Määramine pentaan-2,4-diooniga kolorimeetriliselt.

See meetod on ebapiisav, kui formaldehüüd on seotud või polümeriseerunud, näiteks formaldehüüdi doonorite puhul. Kui tulemus ületab maksimaalse lubatud kontsentratsiooni, tuleb kasutada järgmist meetodit.

##### 1.3. Määramine bisulfitiga.

Selle meetodi puhul ei võeta arvesse enamikes seotud või polümeriseerunud ühendites sisalduvat formaldehüüdi. Teatavad ebastabiilsed ühendid (näiteks heksametüleentetramiin) siiski määratakse. Peale selle on raske mõõta leeliselisust puhverlahuse olemasolu korral.

#### 2. MÄÄRATLUS

Käesoleva meetodi kohaselt määratud vaba formaldehüüdi sisaldust proovis väljendatakse massiprotsendina.

#### 3. PÕHIMÕTE

##### 3.1. I osa – identifitseerimine

Formaldehüüd muudab Schiffi reaktiivi väävelhappe keskkonnas roosaks või kahvatulillaks.

##### 3.2. II osa – määramine pentaan-2,4-diooniga

Formaldehüüd reageerib pentaan-2,4-diooniga ammoniumatsetaadi juuresolekul, moodustades 3,5-diatsetüül-1,4-dihüdrolutiini. See ekstraheeritakse butaan-1-ooliga ja ekstrakti neeldumist mõõdetakse 410 nm juures.

(\*) Vt standard ISO 5725.

**3.3. III osa – määramine bisulfitiga**

Formaldehüüd reageerib sulfitiga happelises keskkonnas temperatuuril 0 °C, moodustades adukti. Üleliigsed prootonid tiitritakse naatriumhüdroksiidiga. Kasutatud prootonid võetakse aluseks formaldehüüdi koguse määramise arvutustes. Ilma sulfitita tehtud pimekatse võimaldab mõõta keskkonna leeliselisust või happelisust.

**4. REAKTIIVID**

Kõik reaktiivid peaksid olema analüütiliselt puhtad.

**4.1. Jää-äädikas.****4.2. Veevaba ammooniumatsetaat.****4.3. Butaan-1-ool.****4.4. Väävelhape, umbes 2 N.****4.5. Vahetult enne kasutamist valmistatud 0,1 M naatriumsulfiti lahus.****4.6. Schifffi reaktiiv: 100 mg fuksiini kaalutakse keeduklaasi ja lahustatakse 75 ml vees temperatuuril 80°C.**

Pärast jahutamist lisatakse 2,5 g naatriumsulfitheptahüdraati ( $(\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$ ) ja 1,5 ml kontsentreeritud soolhapet ( $(d_4^{20} = 1,19) = 1,19$ ). Täiendatakse 100 milliliitri.

(Käesolevat reaktiivi ei või kasutada pärast kahe nädala möödumist.)

**4.7. Pentaan-2,4-diooni reaktiiv.**

1 000 ml mõõtekolvis lahustatakse:

150 g ammooniumatsetaati (4.2),

2 ml pentaan-2,4-diooni (värskelt destilleeritud vaakumis – 410 nm juures ei tohi esineda mingit neeldumist),

3 ml jää-äädikat (4.1).

Täiendatakse veega 1 000 millimeetrini (lahuse pH: umbes 6,4).

See reaktiiv tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.

**4.8. Väävelhappe standardlahus, 0,1 N.****4.9. Naatriumhüdroksiidi standardlahus, 0,1 N.****4.10. Joodilahus, 0,1 N.****4.11. Naatriumtiosulfaat, 0,1 N.****4.12. Formaldehüüdi põhilahus.**

5 g 37–40 % formaldehüüdi lahust valatakse 1 000 ml mõõtekolbi ja kolb täidetakse 1 000 millimeetrini.

Lahuse kontsentratsioon määratakse järgmiselt: eemaldatakse 10,00 ml; lisatakse 25,00 ml 0,1 N joodi standardlahust (4.10) ja 10 ml 1 N naatriumhüdroksiidi lahust.

Lastakse seista viis minutit.

Lisatakse 11 ml 1 N soolhapet ja tiitritakse üleliigne 0,1 N joodi standardlahus (4.10) 0,1 N naatriumtiosulfaadi standardlahusega (4.11), kasutades indikaatorina tärgliselahust.

1 ml 0,1 N joodilahust (4.10) on samaväärne 1,5 mg formaldehüüdiga.

**4.13. Formaldehüüdi võrdluslahus.**

5,00 ml põhilahust (4.12) pipeteeritakse 100 ml mõõtekolbi ja täiendatakse demineraliseeritud veega 100 millimeetrini.

5,00 ml eespool esitatud lahust pipeteeritakse 500 ml mõõtekolbi ja täiendatakse demineraliseeritud veega 500 millimeetrini.

1 ml kõnealust lahust sisaldab umbes 1 µg formaldehüüdi.

Arvutatakse täpne sisaldus.

**4.14. Tümooltaleiini lahus, 0,1 g/100 ml 50 % etanooli kohta.****4.15. Reaktiivi võrdluslahus: nagu punktis 4.7 esitatud reaktiiv, kuid ilma pentaan-2,4-dioonita.****5. SEADMED****5.1. Tavalised laboriseadmed.****5.2. Faasijaotusfilter, Whatman 1 PS (või samaväärne).****5.3. Tsentrifuug.**

- 5.4. Spektrofotomeeter.
- 5.5. Klaasküvetid optilise tee pikkusega 1 cm.
- 5.6. Lintmeerikuga potentsiomeeter.
- 5.7. Klaas-/kalomelektroodid (soovitav on kasutada spetsiaalseid madala temperatuuri elektroode).

## 6. ANALÜÜSI KÄIK

### 6.1. Identifitseerimine

- 6.1.1. 2 g uuritavat proovi kaalutakse 10 ml keeduklaasi.
- 6.1.2. Lisatakse kaks tilka 2 N väävelhapet (4.4) ja 2 ml Schiffi reaktiivi (4.6) (kõnealune reaktiiv peab olema kasutamisel täiesti värvitu).

Loksutatakse ja jäetakse viieks minutiks seisma.

- 6.1.3. Kui viie minuti jooksul ilmneb roosa või kahvatulilla toon, on formaldehüüdi sisaldus suurem kui 0,01 % ja see tuleb määrata punktis 6.2 esitatud protseduuri kohaselt ning vajaduse korral punktis 6.3 esitatud menetluse kohaselt.

### 6.2. Määramine pentaan-2,4-diooniga kolorimeetriliselt

#### 6.2.1. Proovilahus

- 6.2.1.1. 100 ml mõõtekolbi kaalutakse 0,001 g täpsusega uuritavat proovi sellises koguses (m grammi), milles on eeldatavalt umbes 150 mikrogrammi formaldehüüdi.

- 6.2.1.2. Täiendatakse demineraliseeritud veega 100 millimeetrini ja segatakse.

- 6.2.1.3. 50 ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

10,00 ml punktis 6.2.1.2 esitatud lahust,

5,00 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.7) ja

demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

#### 6.2.2. Võrdluslahus

Võimalikud uuritava proovi taustavärvist tingitud häired kõrvaldatakse käesoleva võrdluslahusega.

50 ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

10,00 ml punktis 6.2.1.2 esitatud lahust,

5,00 ml reaktiivi võrdluslahust (4.15) ja

demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

#### 6.2.3. Pimelahus

50 ml Erlenmeyeri kolbi lisatakse:

5,00 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.7) ja

demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

#### 6.2.4. Määramine

- 6.2.4.1. Punktides 6.2.1.3, 6.2.2 ja 6.2.3 esitatud kolbide sisu loksutatakse ja pannakse need täpselt kümneks minutiks veevanni temperatuurile 60 °C. Lastakse jahtuda vannis jäävees kaks minutit.

- 6.2.4.2. Lahused kantakse 50 ml jaotuslehtritesse, mis sisaldavad 10,00 ml butaan-1-ooli (4.3). Loputatakse iga kolbi 3–5 ml veega ja lisatakse loputusveed lehtritesse. Loksutatakse segu tugevasti täpselt 30 sekundit. Lastakse kihistuda.
- 6.2.4.3. Filtreeritakse läbi faasijaotusfiltri mõõtküvettesse. Tsentrifugimine (viis minutit kiirusel 5000 pöört minutis) ei ole nii otstarbekas ja võtab kauem aega.
- 6.2.4.4. Mõõdetakse punktis 6.2.1.3 esitatud proovilahuse ekstrakti optiline tihedus  $A_1$  410 nm juures punktis 6.2.2 esitatud võrdluslahuse ekstrakti suhtes.
- 6.2.4.5. Analoogselt mõõdetakse punktis 6.2.3 esitatud pimelahuse ekstrakti optiline tihedus butaan-1-ooli suhtes ( $A_2$ ).

#### Märkus

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

#### 6.2.5. Kalibreerimisköver

##### 6.2.5.1. 50 ml Erlenmeyeri kolbi viiakse:

5,00 ml standardlahust (4.13),

5,00 ml pentaan-2,4-diooni reaktiivi (4.7) ja

demineraliseeritud vett, et lõppmaht oleks 30 ml.

##### 6.2.5.2. Jätkatakse vastavalt punktis 6.2.4.5 kirjeldatule ja mõõdetakse optiline tihedus butaan-1-ooli (4.3) suhtes.

##### 6.2.5.3. Korratakse protseduuri 10, 15, 20 ja 25 ml standardlahusega.

##### 6.2.5.4. Null-väärtuse saamiseks jätkatakse punktis 6.2.4.5 kirjeldatud viisil.

##### 6.2.5.5. Kalibreerimisköver konstrueeritakse pärast seda, kui kõigist punktide 6.2.5.2 ja 6.2.5.3 kohaselt saadud optilistest tihedustest lahutatakse null-väärtus (6.2.4.5). Beer'i seadus kehtib kuni 30 µg suuruse formaldehüüdi sisalduse puhul.

#### 6.3. Määramine bisulfitiga

##### 6.3.1. Uuritava proovi ettevalmistamine

###### 6.3.1.1. Katse läbiviimiseks

Tareeritud keeduklaasi kaalutakse täpsusega 0,001 g uuritavat proovi sellises koguses (m grammi), milles on eeldatavalt 3–20 mg formaldehüüdi.

###### 6.3.1.2. Võrdluskatse jaoks

Kaalutakse analoogselt võrdluskatseks võetavat proovi (m grammi).

##### 6.3.2. Määramine

###### 6.3.2.1. 50,00 ml 0,1 M naatriumsulfitit (4.5) viiakse 100 ml keeduklaasi ja lisatakse 10,00 ml 0,1 N väävelhapet (4.8). Loksutatakse.

###### 6.3.2.2. Keeduklaas kastetakse jää ja soola segusse, et säilitada temperatuuri + 2 °C. Valatakse juurde punktis 6.3.1.1 nimetatud uuritav proov.

###### 6.3.2.3. Tiitritakse kiiresti potentsiomeetriliselt 0,1 N naatriumhüdroksiidiga (4.9), loksutades pidevalt ja säilitades temperatuuri vahemikus + 2 kuni + 4°C (neutraalpunkt asub pH 9 ja 11 vahel). Kasutatud 0,1 N naatriumhüdroksiidi (4.9) maht tähistatakse $V_1$ -ga.

6.3.3. *Pimekatse*

Teine punkti 6.3.2.1 kohaselt valmistatud lahus nitreeritakse punktis 6.3.2 kirjeldatud tingimustes.

Kasutatud 0,1 N naatriumhüdroksiidi (4.9) maht tähistatakse  $V_2$ -ga.

6.3.4. *Võrdluskatse*

Uuritava proovi  $m'$  happelisus või leeliselisus määratakse potentsiomeetriliselt tiitrides 0,1 N naatriumhüdroksiidiga (4.9) või 0,1 N väävelhappega (4.8). Kasutatud 0,1 N naatriumhüdroksiidi või 0,1 väävelhappe maht tähistatakse  $v'$ -ga.

6.3.5. *Märkused*

Oluline on täpselt järgida katsetingimusi.

Määramine on võimalik, kui indikaatorina kasutatakse tümoolftaleini (4.14).

## 7. TULEMUSTE ESITAMINE

7.1. **Kolorimeetrilise meetodi arvutus**

7.1.1.  $A_1$ -st lahutatakse  $A_2$  ja kalibreerimiskõveralt (6.2.5.5) loetakse katselahuse (6.2.1.3) formaldehüüdisisaldus  $C$  mikrogrammides.

7.1.2. Proovi formaldehüüdisisaldus arvutatakse massiprotsendina (% m/m) järgmise valemi abil:

$$\text{formaldehüüdi sisaldus protsentides} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2. **Bisulfitiga tiitrimise meetodi arvutus**

Võrdluskatseks võetud 0,1 N naatriumhüdroksiidi (4.9) või 0,1 N väävelhappe (4.8) maht sobitatakse massiga  $m$ :

$$v = \frac{v' \cdot m}{m'}$$

Neutraalses tootes on  $v$  väärtus loomulikult null.

7.2.1. Happelise toote puhul:

$$\text{formaldehüüdi sisaldus protsentides} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2. Leeliselise toote puhul:

$$\text{formaldehüüdi sisaldus protsentides} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3. **Märkus**

Kui kahe meetodi tulemused erinevad üksteisest, võetakse arvesse ainult väiksemat väärtust.

## 8. KORRATAVUS (1)

Kui formaldehüüdisisaldus on 0,2 %, ei tohiks ühest ja samast proovist samaaegselt tehtud kahe määramise tulemuste vahe olla suurem kui 0,005 % kolorimeetrilise meetodi puhul ja 0,05 % bisulfitimeetodi puhul.

(1) Vt standard ISO 5725.

## 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.

## 3. PÕHIMÕTE

Resortsinool ja 3,5-dihüdrosütolueen (5-metüülresortsinool), mida lisatakse sisestandardina, eraldatakse proovist õhekihikromatograafia (ÖKK) abil. Mõlema ühendi eraldamiseks kraabitakse laigud ÖKK-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 ÖKK-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) margini 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 märgini 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. Stardijooone 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 vooderdamata (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/DHT-tsoon lühilaine-UV-valguses (254 nm). Mõlemal ühendil on ligikaudu sama  $R_f$  väärtus. Lindid märgistatakse pliatsiga 2 mm kauguselt väljaspool lindi tumedat serva. Kõnealused 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. Jäädid (6.1.8) silüeeritakse vastavalt punktidele 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. *Kromatograferimistingimused*

Koloni 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 kromatograferimistingimused on sobivad:

Koloni	Materjal:	roostevaba teras
	pikkus:	200 cm
	siseläbimõõt:	~ 3 mm
	täidis:	10 % OV-17 Chromosorb'il WAW, 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:

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

kus:

$M$  = katsekogus grammides (6.1.1),

$S_{\text{proov}}$  = proovilahuse piikide keskmise piigi suhe vastavalt punktile 6.2.2,

$S_{\text{standardsegu}}$  = standardsegu piikide keskmise piigi suhe vastavalt punktile 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 PROPAAN-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.

(¹) Vt standard ISO 5725.

## 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).<sup>(1)</sup>

## 6. ANALÜÜSI KÄIK

## 6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Aerosooltoodetest võetakse proov kooskõlas komisjoni 22. detsembri 1980. aasta direktiivi 80/1335/EMÜ<sup>(1)</sup> lisa II peatükiga ja seejärel analüüsitakse gaasikromatograafiliselt punktis 6.2.1 esitatud tingimustel.

6.1.2. Muudest toodetest, v.a aerosooltoodet, 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	voolutugevus:	150 mA

<sup>(1)</sup> EÜT L 383, 31.12.1980, lk 27.

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
Elektrometri tundlikkus:	$8 \times 10^{-10}$ 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 standardseguisid. Segud valmistatakse pipeteerides, kuid täpne kogus leitakse pipeti või kolvi kaalumisega 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 standardseguisid. Segude valmistamisel mõõdetakse mikrosüstla ja pipetiga, kuid täpne kogus leitakse pipeti või kolvi kaalumise 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).

- 7.3. Standardgraafik peab olema sirgjoon.

8. KORRATAVUS <sup>(1)</sup>

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 %.

<sup>(1)</sup> Vt standard ISO 5725.