

382L0434

30.6.82

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 185/1

TOINEN KOMISSION DIREKTIIVI,

annettu 14 päivänä toukokuuta 1982,

kosmeettisten valmisteiden koostumuksen tarkastamisessa tarvittavia analyysimenetelmiä koskevan jäsenvaltioiden lainsäädännön lähentämisestä

(82/434/ETY)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, JOKA

ottaa huomioon Euroopan talousyhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon kosmeettisia valmisteita koskevan jäsenvaltioiden lainsäädännön lähentämisestä 27 päivänä heinäkuuta 1976 annetun neuvoston direktiivin 76/768/ETY⁽¹⁾, sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna direktiivillä 79/661/ETY⁽²⁾, ja erityisesti sen 8 artiklan 1 kohdan,

sekä katsoo, että

direktiivissä 76/768/ETY säädetään kosmeettisten valmisteiden virallisesta tarkastamisesta, jotta varmistettaisiin, että kosmeettisten valmisteiden koostumusta koskeviissa yhteisön säännöksissä asetettuja vaatimuksia noudatetaan,

kaikki tarvittavat analyysimenetelmät olisi vahvistettava niin pian kuin mahdollista; ensimmäinen vaihe tämän tavoitteen saavuttamiseksi on jo toteutettu, kun komission direktiivissä 80/1335/ETY⁽³⁾ säädetään tietyistä menetelmistä, ja toisena vaiheena on menetelmien määrittäminen hapettavien aineiden tunnistamiseksi ja vetyperoksidin määrittämiseksi kosmeettisissa hiustenhoitovalmisteissa, tiettyjen hapettavien väriaineiden tunnistamiseksi ja semikvantitatiiviseksi määrittämiseksi hiusten värjäysaineissa, nitriitin tunnistamiseksi ja määrittämiseksi, vapaan formaldehydin tunnistamiseksi ja määrittämiseksi, resorsinolin määrittämiseksi shampoissa ja hiusvesissä ja metanolin määrittämiseksi suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin, ja

tässä direktiivissä säädetyt toimenpiteet ovat direktiivin 76/768/ETY mukauttamista tekniikan kehitykseen käsittelevän komitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

1 artikla

Jäsenvaltioiden on toteutettava kaikki tarvittavat toimenpiteet sen varmistamiseksi, että kosmeettisten valmisteiden virallisessa tarkastuksessa:

- hapettavien aineiden tunnistaminen ja vetyperoksidin määrittäminen hiustenhoitovalmisteissa,
- tiettyjen hapettavien väriaineiden tunnistaminen ja semikvantitatiivinen määrittäminen hiusten värjäysaineissa,
- nitriitin tunnistaminen ja määrittäminen,
- vapaan formaldehydin tunnistaminen ja määrittäminen,
- resorsinolin määrittäminen shampoissa ja hiusvesissä,
- metanolin määrittäminen suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin

suoritetaan liitteessä selostettujen menetelmien mukaisesti.

2 artikla

Jäsenvaltioiden on saatettava tämän direktiivin noudattamisen edellyttämät lait, asetukset tai hallinnolliset määräykset voimaan viimeistään 31 päivänä joulukuuta 1983.

Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.

3 artikla

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 14 päivänä toukokuuta 1982.

Komission puolesta

Karl-Heinz NARJES

Komission jäsen⁽¹⁾ EYVL N:o L 262, 27.9.1976, s. 169⁽²⁾ EYVL N:o L 192, 31.7.1979, s. 35⁽³⁾ EYVL N:o L 383, 31.12.1980, s. 27

LIITE

**I. HAPETTAVIEN AINEIDEN TUNNISTAMINEN JA VETYPEROKSIDIN MÄÄRITTÄMINEN
HIUSTENHOITOVALMISTEISSA**

TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Vetyperoksidin jodometrinen määrittäminen kosmeettisissa aineissa on mahdollista vain, kun aine ei sisällä muita jodideista jodia muodostavia hapettavia aineita. Tämän vuoksi on ennen vetyperoksidin jodometristä määrittämistä tarpeen löytää ja tunnistaa aineessa mahdollisesti olevat muut hapettavat aineet. Tämä tunnistaminen jakautuu kahteen vaiheeseen: ensimmäinen käsittää persulfaattit, bromaattit ja vetyperoksidin ja toinen bariumperoksidin.

A. PERSULFAATTIEN, BROMAATTIEN JA VETYPEROKSIDIN TUNNISTAMINEN

1 PERIAATE

Natriumpersulfaatti, kaliumpersulfaatti ja ammoniumpersulfaatti; kaliumbromaatti, natriumbromaatti ja vetyperoksidi — bariumperoksidista tai muualta peräisin oleva — tunnistetaan laskevan paperikromatografian avulla, käyttäen kahta kehiteliuosta.

2 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

- 2.1 0,5 % (m/v) vesipitoinen vertailuliuos seuraavista yhdisteistä:
 - 2.1.1 Natriumpersulfaatti
 - 2.1.2 Kaliumpersulfaatti
 - 2.1.3 Ammoniumpersulfaatti
 - 2.1.4 Kaliumbromaatti
 - 2.1.5 Natriumbromaatti
 - 2.1.6 Vetyperoksidi
- 2.2 Kehiteliuos A, 80 % (v/v) etanoli
- 2.3 Kehiteliuos B, bentseeni — metanoli — 3-metyyli-1-butanoli — vesi (34:38:18:10 tilavuuksina)
- 2.4 Värjäysliuos A, 10 % (m/v) kaliumjodidin vesiliuos
- 2.5 Värjäysliuos B, 1 % (m/v) tärkkelyksen vesiliuos
- 2.6 Värjäysliuos C, 10 % (m/m) suolahappo
- 2.7 4 N suolahappoliuos

3 LAITTEET JA VARUSTEET

- 3.1 Kromatografiapaperi (Whatman-paperi N:o 3 ja 4 tai niitä vastaava)
- 3.2 Mikropipetti, 1 μ l
- 3.3 Mittapulloja, 100 ml
- 3.4 Laskostettuja suodattimia
- 3.5 Laskevan paperikromatografian laitteisto

4 NÄYTTEEN ESIKÄSITTELY

4.1 Vesiliukoiset valmisteet

Kustakin näytteestä tehdään kaksi liuosta liuottamalla erikseen 1 g ja 5 g valmistetta 100 ml:aan vettä. Kumpaakin näistä liuksista käytetään 1 μ l 5 kohdassa kuvatun paperikromatografian suorittamiseksi.

4.2 Huonosti veteen liukenevat valmisteet

4.2.1 Näytteestä punnitaan 1 g ja 5 g ja dispergoidaan ne 50 ml:aan vettä, täytetään vedellä 100 ml:aan saakka ja sekoitetaan. Kumpikin dispersio suodatetaan laskostetun suodattimen (3.4) läpi ja kumpaakin suodosta käytetään 1 μ l 5 kohdassa kuvatun paperikromatografian suorittamiseksi.

4.2.2 Valmistetaan taas kaksi dispersiota kustakin näytteestä dispergoimalla 1 g ja 5 g näytettä 50 ml:aan vettä, tehdään happamaksi laimealla suolahapolla (2.7), täytetään vedellä 100 ml:aan saakka ja sekoitetaan. Dispersiot suodatetaan laskostetun suodattimen (3.4) läpi ja kumpaakin suodosta käytetään 1 μ l 5 kohdassa kuvatun paperikromatografian suorittamiseksi.

4.3 Voiteet

Kutakin valmistetta dispergoidaan 5 g ja 20 g 100 ml:aan vettä ja käytetään näitä dispersioita 5 kohdassa kuvatun paperikromatografian suorittamiseksi.

5 MENETTELY

5.1 Sopiva määrä liuosta A (2.2) ja B (2.3) laitetaan kahteen erilliseen kromatografia-astiaan laskevan paperikromatografian suorittamiseksi. Kromatografia-astioita kyllästetään vähintään 24 tuntia liuotinhöyryllä.

5.2 Lisätään 1 μ l yhtä näyteliuosta ja yhtä vertailuliuosta, jotka on valmistettu 4 ja 2.1 kohtien mukaisesti kuhunkin 40 cm pitkän ja 20 cm leveän tai muun sopivan mallisen kromatografiapaperin (3.1) aloituspisteeseen (Whatman N:o 3 tai vastaava) ja annetaan liuoksen haihtua ilmaan.

5.3 Kromatografiapaperi (5.2) laitetaan kromatografia-astiaan, joka on täytetty kehiteliuksella A (5.1) ja kehitetään, kunnes kehiteliuos on edennyt 35 cm (noin 15 tuntia).

5.4 Toistetaan 5.2 ja 5.3 kohdassa kuvatut toiminnot käyttäen kromatografiapaperia (Whatman N:o 4 tai vastaava) (3.1) ja kehiteliuosta B. Kromatografoidaan, kunnes kehiteliuos on edennyt 35 cm (noin 5 tuntia).

5.5 Kehittämisen jälkeen kromatogrammit poistetaan astiasta ja ne kuivataan ilmassa.

5.6 Täplät kromatogrammissa saadaan näkyviin ruiskuttamalla sitä peräkkäin:

5.6.1 värjäysliuksella A (2.4) ja heti sen jälkeen värjäysliuksella B (2.5). Persulfaattitäplät ilmestyvät nyt ensin kromatogrammiin ja niitä seuraavat vetyperoksiditäplät. Täplät merkitään kynällä;

5.6.2 värjäysliuksella C (2.6) käyttäen kohdan 5.6.1 mukaisesti käsiteltyä kromatogrammia; harmaansiniset täplät kromatogrammissa osoittavat nyt valmisteeseen sisällyttämät bromaatit.

5.7 Edellä mainituissa ajo-olosuhteissa kehiteliuksilla A (2.2) ja B (2.3) ovat vertailuaineiden (2.1) Rf-arvot keskimäärin seuraavat:

| | <i>Kehiteliuos A (2.2)</i> | <i>Kehiteliuos B (2.3)</i> |
|----------------------|----------------------------|----------------------------|
| Natriumpersulfaatti | 0,40 | 0,10 |
| Kaliumpersulfaatti | 0,40 | 0,02 + 0,05 |
| Ammoniumpersulfaatti | 0,50 | 0,10 + 0,20 |
| Natriumbromaatti | 0,40 | 0,20 |
| Kaliumbromaatti | 0,40 | 0,10 + 0,20 |
| Vetyperoksidi | 0,80 | 0,80 |

B. BARIUMPEROKSIDIN TUNNISTAMINEN

1 PERIAATE

Bariumperoksidi tunnistetaan vetyperoksidin muodostumisesta sen jälkeen, kun näyte (A.4.2) on tehty happamaksi sekä bariumionin läsnäolosta.

- Kun persulfaatteja ei ole (A): lisätään laimeaa rikkihappoa annokseen hapanta näyteliuosta (B.4.1), jonka seurauksena muodostuu valkoinen bariumsulfaattisakka. Bariumionien esiintyminen näytteessä (B.4.1) vahvistetaan taas paperikromatografialla kuten jäljempänä 5 kohdassa on kuvattu.
- Kun bariumperoksidia ja persulfaatteja esiintyy samanaikaisesti (B.4.2), sulatetaan saostuma (B.4.2) emäkseen; suolahappoon liuottamisen jälkeen bariumionien esiintyminen sulatteen liuoksessa (B.4.2.3) vahvistetaan paperikromatografialla ja/tai bariumsulfaatin saostumisella.

2 REAGENSIT

2.1 Metanoli

2.2 36 % (m/m) väkevä suolahappo

2.3 6 N suolahappo

2.4 4 N rikkihappo

2.5 Roditsonihapon dinatriumsuola

2.6 Bariumkloridi ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

2.7 Vedetön natriumkarbonaatti

2.8 1 % (m/v) bariumkloridin vesiliuos

2.9 Kehiteliuos, joka koostuu metanolista, väkevästä suolahaposta (36 %) ja vedestä (80:10:10 tilavuuksina)

2.10 Värjäysliuos, 0,1 % (m/v) roditsonihapon dinatriumsuolan vesiliuos, joka valmistetaan välittömästi ennen käyttöä.

3 LAITTEET

3.1 Mikropipetti, 5 μl

3.2 Platinaupokkaita

3.3 Mittapulloja, 100 ml

3.4 Kromatografiapaperia Schleicher and Schüll 2043 b tai vastaava. Paperi puhdistetaan ajamalla sitä yön yli laskevan kromatografian astiassa (A.3.5), jossa on kehiteliuosta (B.2.9), jonka jälkeen se kuivataan.

3.5 Laskostettua suodatinpaperia

3.6 Tavallinen laite nousevan paperikromatografian suorittamiseksi

4 NÄYTTEEN ESIKÄSITTELY

4.1 Valmisteet, joissa ei ole persulfaatteja

4.1.1 Dispergoidaan 2 g valmistetta 50 ml:aan vettä ja säädetään dispersion pH suolahapolla (B.2.3) suunnilleen arvoon 1.

- 4.1.2 Siirretään dispersio veden avulla 100 ml:n mittapulloon, täytetään vedellä merkkiin saakka ja sekoitetaan. Tätä dispersiota käytetään kohdassa 5 kuvatun paperikromatografia-analyysin suorittamiseksi ja bariumin tunnistamiseksi sulfaatin saostumisen avulla.
- 4.2 **Valmisteet, joissa on persulfaatteja**
- 4.2.1 Dispergoidaan 2 g valmistetta 100 ml:an vettä ja suodatetaan.
- 4.2.2 Lisätään kuivattuun saostumaan sen 7–10-kertainen painomäärä natriumkarbonaattia (B.2.7), sekoitetaan ja sulatetaan seosta platinaupokkaassa (B.3.2) puolen tunnin ajan.
- 4.2.3 Jäähdytetään huonelämpötilaan, liuotetaan sulate 50 ml:an vettä ja suodatetaan (B.3.5).
- 4.2.4 Liuotetaan jäämä sulatteesta suolahappoon (B.2.3) ja täytetään vedellä 100 ml:an. Tätä liuosta käytetään 5 kohdassa kuvatussa paperikromatografia-analyysissä ja bariumin tunnistamisessa sulfaatin saostumisen avulla.
- 5 **MENETTELY**
- 5.1 Sopiva määrä kehiteliuosta (B.2.9) laitetaan nousevan paperikromatografian astiaan ja kylästetään astiaa vähintään 15 tunnin ajan.
- 5.2 Kromatografiapaperille, joka on esikäsitelty B.3.4 kohdan mukaisesti, lisätään 5 µl kutakin liuosta, jotka on valmistettu B.4.1.2 ja B.4.2.4 kohdan mukaisesti, sekä vertailuliuosta B.2.8 kolmeen aloituspisteeseen.
- 5.3 Näyte- ja vertailutäplät kuivataan ilmassa. Kehitetään kromatogrammia, kunnes kehiteliuos on noussut 30 cm.
- 5.4 Kromatogrammi poistetaan astiasta ja kuivataan ilmassa.
- 5.5 Täplät kromatogrammissa saadaan näkyviin ruiskuttamalla paperia värjäysliuoksella B.2.10. Jos näytteessä on bariumia, kromatogrammille ilmestyy punaisia täpliä, joiden RF-arvo on n. 0,10.

C. VETYPEROKSIDIN MÄÄRITTÄMINEN

1 PERIAATE

Vetyperoksidin jodometrinen määrittäminen perustuu seuraavaan reaktioon:



Tämä reaktio etenee hitaasti, mutta sitä voidaan nopeuttaa lisäämällä ammoniummolybdaattia. Muodostunut jodi määritetään titrimetrisesti natriumtiosulfaattilla ja sen perusteella lasketaan vetyperoksidipitoisuus.

2 MÄÄRITELMÄ

Edellä kuvatulla tavalla mitattu vetyperoksidipitoisuus ilmoitetaan prosentteina (% m/m) valmisteen painosta.

3 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

- 3.1 2 N rikkihappo
- 3.2 Kaliumjodidi
- 3.3 Ammoniummolybdaatti
- 3.4 0,1 N natriumtiosulfaatti

- 3.5 10 % (m/v) kaliumjodidiliuos, joka on valmistettava välittömästi ennen käyttöä
- 3.6 20 % (m/v) ammoniummolybdaattiliuos
- 3.7 1 % (m/v) tärkkelysliuos

4 LAITTEET

- 4.1 Dekanterilaseja, 100 ml
- 4.2 Byretti, 50 ml
- 4.3 Mittapulloja, 250 ml
- 4.4 Mittalaseja, 25 ja 100 ml
- 4.5 Täyspipettejä, 10 ml
- 4.6 Erlenmeyerpulloja, 250 ml

5 MENETTELY

- 5.1 Punnitaan 100 ml:n dekanterilasiin 10 g (m grammaa) valmistetta, joka sisältää noin 0,6 g vetyperoksidia. Näyte siirretään veden avulla 250 ml:n mittapulloon, täytetään vedellä merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- 5.2 Näyteliuosta (5.1) pipetoidaan 10 ml 250 ml:n erlenmeyerpulloon (4.6) ja lisätään peräkkäin 100 ml 2N rikkihappoa (3.1), 20 ml kaliumjodidiliuosta (3.5) ja kolme tippaa ammoniummolybdaattiliuosta (3.6).
- 5.3 Muodostunut jodi titrataan välittömästi 0,1 N natriumtiosulfaattiliuksella (3.4) ja juuri ennen kuin päätepiste on saavutettu lisätään muutama millilitra tärkkelysliuosta indikaattoriksi (3.7). 0,1 N Natriumtiosulfaatin (3.4) kulutus kirjataan millilitroina (V).
- 5.4 Edellä 5.2 ja 5.3 kohdassa selostetulla tavalla suoritetaan sokeakoe, jossa 10 ml:n näyteliuos korvataan 10 ml:lla vettä. Kirjataan 0,1 N natriumtiosulfaatin kulutus millilitroina sokeakokeessa (V₀ ml).

6 TULOSTEN LASKEMINEN

Valmisteen vetyperoksidipitoisuus lasketaan painoprosenteina (% m/m) seuraavan kaavan mukaan:

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

jossa:

- m = analysoidun valmisteen määrä grammoina (5.1),
- V₀ = 0,1 N tiosulfaattiliuksen kulutus millilitroina sokeatestissä (5.4),
- V = 0,1 N tiosulfaattiliuksen kulutus millilitroina näyteliuksen titrauksessa (5.3).

7 TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Valmisteella, joka sisältää noin 6 % m/m vetyperoksidia ei saman näytteen rinnakkaismääritysten tulosten eron absoluuttinen arvo saa olla yli 0,2 %.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti

II. TIETTYJEN HAPETTUVIEN VÄRIAINEDIEN TUNNISTAMINEN JA SEMIKVANTITATIIVINEN MÄÄRITTÄMINEN HIUSTEN VÄRJÄYSAINEISSA

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä sopii seuraavien aineiden tunnistamiseen ja semikvantitatiiviseen määrittämiseen voiteina tai nestemäisessä muodossa olevissa hiustenvärijäysaineissa:

| Aineet | Tunnus |
|---------------------------------------------------------|----------------|
| <i>Fenyleenidiamiinit</i> | |
| o-fenyleenidiamiini | (OPD) |
| m-fenyleenidiamiini | (MPD) |
| p-fenyleenidiamiini (liite V) | (PPD) |
| <i>Metyylifenyleenidiamiinit</i> | |
| 4-metyyli-1,2-fenyleenidiamiini (tolueeni-3,4-diamiini) | (OTD) |
| 4-metyyli-1,3-fenyleenidiamiini (tolueeni-2,4-diamiini) | (MTD) |
| 2-metyyli-1,4-fenyleenidiamiini (tolueeni-2,5-diamiini) | (PTD) |
| <i>Diaminofenolit</i> | |
| 2,4-diaminofenoli | (DAP) |
| <i>Hydrokinoni</i> | |
| 1,4-dihydroksibentseeni | (H) |
| α -naftoli | (α -N) |
| <i>Pyrogalloli</i> | |
| 1,2,3-trihydroksibentseeni | (P) |
| <i>Resorsinoli</i> | |
| 1,3-dihydroksibentseeni | (R) |

2 PERIAATE

Hapettuvat väriaineet uutetaan 96 % etanolilla pH-arvossa 10 voiteena tai nestemäisenä olevista värijäysaineista ja tunnistetaan ohutkerroskromatografisesti, joko yksi- tai kaksisuuntaisesti.

Näiden aineiden semikvantitatiiviseksi määrittämiseksi näytteiden kromatogrammeja verrataan neljän kehittelioksen avulla samanaikaisesti ja mahdollisimman samanlaisissa olosuhteissa valmistettujen vertailuaineiden vastaaviin.

3 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

3.1 Etanoli, vedetön

3.2 Asetoni

3.3 Etanoli, 96 % v/v

3.4 Ammoniakkiliuos, 25 % ($d_4^{20} = 0,91$)

- 3.5 L(+)-askorbiinihappo
- 3.6 Kloroformi
- 3.7 Sykloheksaani
- 3.8 Typpi, tekninen laatu
- 3.9 Tolueeni
- 3.10 Bentseeni
- 3.11 n-butanoli
- 3.12 2-butanoli
- 3.13 Hypofosforihapoke, 50 % v/v -liuos
- 3.14 Diatsoreagenssi, joko:
- 3-nitro-1-bentseenidiatsoniumklooribentseenisulfonaatti, (stabiloituna suolana), kuten "Red 2 JN - Francolor",
 - 2-kloro-4-nitro-1-bentseenidiatsoninaftaleenibentsoaatti (stabiloituna suolana), kuten NNCD-reagenssi — viitenumero 74150 FLUKA,
- tai vastaava.
- 3.15 Hopeanitraatti
- 3.16 p-dimetyyliaminobentsaldehydi
- 3.17 2,5-dimetyylifenoli
- 3.18 Ferrikloridiheksahydraatti
- 3.19 Suolahappo, 10 % m/v -liuos
- 3.20 **Vertailuaineet**
- Vertailuaineet ovat samat kuin 1 kohdassa "Tarkoitus ja soveltamisala" mainitut. Mikäli määritetään amii-niyhdisteit , on vertailuaineen oltava joko hydrokloridi (mono tai di) tai vapaa em s.
- 3.21 **Vertailuliukset 0,5 % (m/v)**
- Valmistetaan 0,5 % (m/v) liuos kustakin 3.20 kohdassa mainitusta vertailuaineesta.
- Punnitaan 50 mg \pm 1 mg vertailuainetta 10 ml:n mittapulloon.
- Lis t t n 5 ml 96 % etanolia (3.3) ja 250 mg askorbiinihappoa (3.5).
- Liuos tehd n alkaliseksi lis m ll  ammoniakki-liuosta (3.4) niin, ett  pH-arvoksi tulee 10 (tarkastetaan indikaattoripaperilla).
- T ytet n 96 % etanolilla (3.3) 10 ml:aan ja sekoitetaan.
- Liuoksia voidaan s ilytt n viikon ajan viile ss  ja pime ss  paikassa.
- Tietyiss  tapauksissa voi askorbiinihapon ja ammoniakkin lis misen j lkeen muodostua sakkaa. Sen on silloin annettava laskeutua ennen kokeen jatkamista.
- 3.22 **Kehitelliukset**
- 3.22.1 Asetoni-kloroformi-tolueeni (35:25:40 tilavuuksina)
- 3.22.2 Kloroformi-sykloheksaani-absoluuttinen etanoli-25 % ammoniakki (80:10:10:1 tilavuuksina)
- 3.22.3 Bentseeni-2-butanoli-vesi (50:25:25 tilavuuksina). Ravistetaan hyvin ja k ytet n ylemp n kerrosta erot-tumisen j lkeen huoneenl mmess  (20–25  C).
- 3.22.4 n-butanoli-kloroformi-reagenssi M (7:70:23 tilavuuksina). Erotetaan huonel mp tilassa (20–25  C) huolellisesti ja k ytet n alemp n kerrosta.

Reagenssin M valmistaminen

| | |
|-------------------------------------|-----------------|
| Ammoniakkiliuosta, 25 % (v/v) (3.4) | 24 tilavuusosaa |
| Hypofosforihapoketta, 50 % (3.13) | 1 tilavuusosaa |
| Vettä | 75 tilavuusosaa |

Huomautus

Ammoniakkia sisältävät kehiteliuokset on ravistettava hyvin välittömästi ennen käyttöä.

3.23 Indikaattoriaineet**3.23.1 Diatsoreagenssi**

Valitusta reagenssistä (3.14) tehdään 5 %:n (m/v) vesiliuos. Tämä liuos on tehtävä juuri ennen käyttöä.

3.23.2 Ehrlichin reagenssi

Liuotetaan 2 g p-dimetyyliaminobentsaldehydiä (3.16) 100 ml:aan 10 %:ista (m/v) suolahapon vesiliuosta (3.19).

3.23.3 2,5-dimetyylifenoli-ferrikloridiheksahydraatti

Liuos 1: Liuotetaan 1 g dimetyylifenolia (3.17) 100 ml:aan 96 % etanolia (3.3).

Liuos 2: Liuotetaan 4 g ferrikloridiheksahydraattia (3.18) 100 ml:aan 96 % etanolia (3.3).

Värjäyksessä näitä liuoksia ruiskutetaan erikseen, ensin liuosta 1, sitten liuosta 2.

3.23.4 Ammoniakkipitoinen hopeanitraatti

25 % ammoniakkia (3.4) lisätään hopeanitraatin (3.15) 5 % (m/v) vesiliuokseen, kunnes sakka juuri liukenee. Tämä reagenssi on valmistettava välittömästi ennen käyttöä. Ei voida säilyttää.

4 LAITTEET**4.1 Tavalliset ohutkerroskromatografiassa tarvittavat laboratoriolaitteet.**

4.1.1 Muovinen tai lasinen suojus, joka on suunniteltu sellaiseksi, että kromatografialevy voidaan ympäröidä tyypellä täplien aplikoimisen ja kuivaamisen aikana. Tämä varotoimenpide on tarpeen, koska tietyt väriaineet ovat herkkiä hapettumaan.

4.1.2 Mikroruisku 10 µl, jossa 0,2 µl:n asteikko ja neliöprofiilineula, tai mieluummin 50 µl:n annostelija asennettuna telineeseen siten, että levyä voidaan pitää työssä.

4.1.3 Silikageeli-ohutkerroslevyjä, käyttövalmiita, paksuus 0,25 mm, mitoiltaan 20 x 20 cm (Macherey and Nagel, Silica G-HR, jotka ovat muovilevyillä, tai vastaavia).

4.2 Sentrifuugi, 4 000 kierrosta/ minuutti.

4.3 Sentrifuugiputkia, 10 ml, joissa PTFE-kierrekorkit, tai vastaavat.

5 MENETTELY**5.1 Näytteiden käsittely**

Ensimmäiset 2–3 cm putkilosta puristetusta voiteesta heitetään pois.

Etukäteen tyypellä käsiteltyyn sentrifuugiputkeen (4.3) laitetaan: 300 mg askorbiinihappoa ja 3 g voidetta tai 3 g homogenisoitua nestettä.

Lisätään 25 % ammoniakkia (3.4) tipottain, kunnes pH on 10. Täytetään 10 ml:aan 96 % etanolilla (3.3).

Homogenisoidaan typpi-atmosfäärissä (3.8), peitetään tulpalla ja sentrifugoidaan nopeudella 4 000 kierrosta minuutissa 10 minuutin ajan.

Käytetään supernatanttia.

5.2 Kromatografia

5.2.1 Levyjen aplikointi

Kromatografialevyille (4.1.3) laitetaan typpi-atmosfäärissä (3.8) 1 μ l kutakin yllämainituista vertailuliok-sista lähtöviivalle yhdeksään pisteeseen, jotka ovat noin 1,5 cm:n päässä toisistaan ja noin 1,5 cm päässä levyn reunasta.

Vertailuliuosnäplät sijoitetaan seuraavasti:

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

Sen lisäksi laitetaan pisteisiin 10 ja 11 kumpaankin 2 μ l koeliuosnäytteitä, jotka on saatu 5.1 kohdan mukaisesti.

Levyä pidetään typpi-atmosfäärissä (3.8), siihen asti kun se kromatografoidaan.

5.2.2 Kehittäminen

Levy laitetaan astiaan, joka on aiemmin käsitelty tyypellä (3.8), kyllästetty yhdellä neljästä liuksesta (3.22) ja annetaan kehittyä huoneenlämmössä (20–25 °C) pimeässä, kunnes kehiteliuos on noussut noin 15 cm.

Levy poistetaan ja kuivataan typpi-atmosfäärissä (3.8) huonelämpötilassa.

5.2.3 Värjääminen

Levy värjätään välittömästi yhdellä neljästä 3.23 kohdassa esitetystä liuksesta.

5.2.4 Tunnistaminen

Verrataan näytteestä saatua R_f -arvoa ja väriä kromatografoidujen vertailuaineiden vastaaviin.

Taulukossa I ovat esimerkkinä R_f -arvot ja värit kullekin aineelle käytetystä liuksesta ja indikaattorista riippuen.

Epävarma tunnistus saadaan joskus varmistettua lisäysmenetelmällä siten, että vastaavaa vertailuaineliuosta lisätään näyteuutteeseen.

5.2.5 Semikvantitatiivinen määrittäminen

Verrataan silmämääräisesti kunkin 5.2.4 kohdan mukaisesti tunnistetun aineen täplän värin intensiteettiä sopivaan vertailuaineen pitoisuuteen.

Jos yhden tai useamman näytteestä löydetyn aineen pitoisuus on liian suuri, näyteute laimennetaan ja mittaus toistetaan.

TAULUKKO I

Välittömästi värjäyksen jälkeen saadut R_F-arvot ja värit

| Vertailuaine (3.20) | Kehiteliuos | | | | Indikaattoriaineet | | | |
|------------------------|-----------------------|----------|----------|----------|---------------------|-----------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| | R _F -arvot | | | | Syntyvät värit | | | |
| | (3.22.1) | (3.22.2) | (3.22.3) | (3.22.4) | Diatso (3.23.1) | Ehrlich (3.23.2) | Dimetyylifenoli (3.23.3) | AgNO ₃ (3.23.4) |
| OPD | 0,62 | 0,60 | 0,30 | 0,57 | vaaleanruskea | — | — | vaaleanruskea |
| MPD | 0,40 | 0,60 | 0,47 | 0,48 | violetin ruskea(*) | keltainen | vaaleanruskea | vaaleanruskea |
| PPD | 0,20 | 0,50 | 0,30 | 0,48 | ruskea | kirkkaanpunainen(*) | violetti | harmaa |
| OTD | 0,60 | 0,60 | 0,53 | 0,60 | ruskea(*) | vaaleanoranssi | vaaleanruskea | harmaanruskea |
| MTD | 0,40 | 0,67 | 0,45 | 0,60 | punertavanruskea(*) | keltainen | ruskea | musta |
| PTD | 0,33 | 0,65 | 0,37 | 0,70 | ruskea | oranssi | violetti(*) | harmaa |
| DAP | 0,07 | — | 0 | 0,05 | ruskea(*) | oranssi | violetti | ruskea |
| H | 0,50 | 0,35 | 0,80 | 0,20 | — | oranssi | violetti | musta(*) |
| α-N | 0,90 | 0,80 | 0,90 | 0,75 | oranssinruskea | — | violetti(*) | musta |
| P | 0,37 | — | 0,67 | 0,05 | ruskea | hyvin vaalea violetti | hyvin vaalea ruskea | ruskea(*) |
| R | 0,50 | 0,37 | 0,80 | 0,17 | oranssi(*) | vaaleanvioletti | hyvin vaalea ruskea | vaaleanruskea |

Huomaa: 1. OPD näkyy vain heikosti; liuosta (3.22.3) on käytettävä sen erottamiseksi selvästi OTD:stä.
2. (*) Osoittaa parhaan värinkehittymisen.

6 KAKSISUUNTAINEN OHUTKERROSKROMATOGRAFIATUTKIMUS

Tämä kaksisuuntainen kromatografiamenetelmä edellyttää lisäksi seuraavien standardien ja reagenssien käyttöä.

6.1 Vertailuliuokset ja -aineet

- 6.1.1 β-naftoli (β-N)
- 6.1.2 2-aminofenoli (OAP)
- 6.1.3 3-aminofenoli (MAP)
- 6.1.4 4-aminofenoli (PAP)
- 6.1.5 2-nitro-1,4-fenylenidiamiini (2-NPPD)
- 6.1.6 4-nitro-1,2-fenylenidiamiini (4-NOPD)

Kustakin näistä vertailuaineista valmistetaan 0,5 % m/v liuos, kuten 3.21 kohdassa on kuvattu.

6.2 Kehiteliuos

- 6.2.1 Etyyliasettaatti-sykloheksaani-ammoniakkiliuos, 25 % (65:30:0,5 tilavuuksina)

6.3 Indikaatiomenetelmä

Ohutlevykromatografian kehitysastiaan laitetaan lasiastia, johon lisätään noin 2 g jodikiteitä ja säiliö suljetaan sopivalla kannella.

6.4 Kromatografia

- 6.4.1 Ohutkerroslevyn (4.1.3) absorptiopinnalle vedetään kaksi viivaa kuvion 1 mukaisesti.
- 6.4.2 Tyypiatmosfäärissä (4.1.1) lisätään 1–4 μl uutetta (5.1) lähtöpisteeseen 1 (kuvio 1), joka on 2 cm:n päässä kummastakin viereisestä sivusta. Uutteen määrä riippuu täplien intensiteetistä kromatogrammeilla (5.2).
- 6.4.3 Pisteiden 2 ja 3 (kuvio 1) kesken jaetaan 5.2 kohdan mukaisesti tunnistetut tai tunnistetuiksi oletetut hapettuvat väriaineet (pisteiden välinen etäisyys 1,5 cm). Lisätään 2 μl kutakin vertailuliuosta, paitsi DAP, jota on lisättävä 6 μl . Operaatio suoritetaan tyypiatmosfäärissä (6.4.2).
- 6.4.4 Toistetaan 6.4.3 kohdan operaatio lähtöpisteissä 4 ja 5 (kuvio 1) ja levyä pidetään tyypiatmosfäärissä siihen asti, kunnes se kromatografoidaan (pisteiden välinen etäisyys 1,5 cm).
- 6.4.5 Kromatografia-astia käsitellään typellä (3.8) ja siihen laitetaan sopiva määrä kehietiliuosta 3.22.2. Levy laitetaan säiliöön (6.4.4) ja sitä kehitetään ensimmäisessä eluointisuunnassa (kuvio 1) pimeässä. Eluoidaan, kunnes liuottimen reuna saavuttaa levyyn merkityn viivan (n. 13 cm).
- 6.4.6 Levy poistetaan astiasta ja se laitetaan kromatografia-astiaan, jota on etukäteen käsitelty typellä, ja haihdutetaan eluointiliuosta vähintään 60 minuutin ajan.
- 6.4.7 Mittalasilalla laitetaan sopiva määrä eluointiliuosta (6.2) typellä käsitelyyn (3.8) astiaan, johon laitetaan 90° käännetty levy astiasta (6.4.6) ja kromatografoidaan toisessa suunnassa (myös pimeässä), kunnes liuottimen reuna saavuttaa absorptiopinnalle vedetyn viivan. Levy otetaan pois säiliöstä ja eluointiliuos haihdutetaan ilmassa.
- 6.4.8 Levy laitetaan 10 minuutiksi kromatografia-astiaan, jossa on jodihöyryä (6.3) ja tulkitaan kaksisuuntainen kromatogrammi käyttäen samanaikaisesti kromatografoitujen vertailuaineiden R_f -arvoja ja värejä (Taulukossa II opastetaan R_f -arvoja ja värejä).

Huomaa:

Täplien värityksen maksimoimiseksi tehty kromatogrammi jätetään atmosfääriin tunniksi kehittämisen jälkeen.

- 6.4.9 Hapettuvien väriaineiden esiintymisen havaitseminen 6.4.8 kohdan mukaisesti voidaan vahvistaa toistamalla 6.4.1–6.4.8 kohdassa kuvatut toiminnot ja lisäämällä lähtöpisteeseen 1 6.4.2 kohdassa tarkoitettua uutetta päälle 1 μl 6.4.8 kohdassa tunnistettuja vertailuaineita. Jos ylimääräisiä täpliä ei löydy verrattaessa 6.4.8 kohdassa saadun kromatogrammin kanssa, 6.4.8 kohdan kromatogrammin tulkinta on oikein.

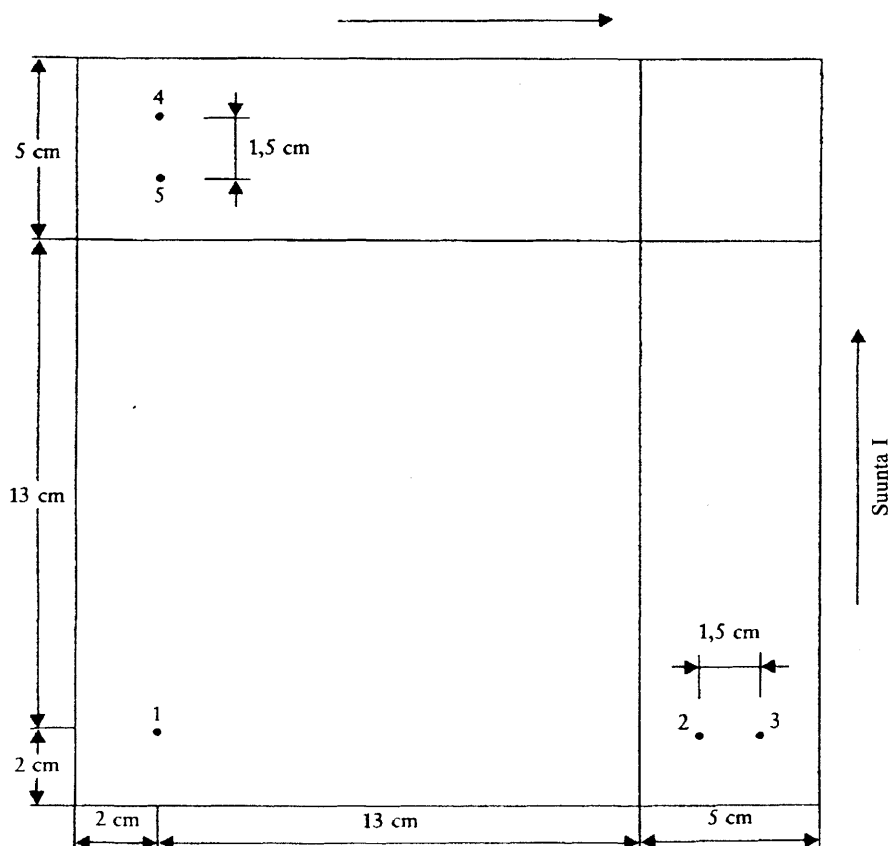
TAULUKKO II

Vertailuaineiden väri kromatografian ja jodihöyryssä kehittämisen jälkeen

| Vertailuaineet | Väri jodihöyryssä kehittämisen jälkeen |
|----------------|----------------------------------------|
| R | beige |
| P | ruskea |
| α -N | violetti |
| β -N | vaaleanruskea |
| H | violetin ruskea |
| MPD | keltaisen ruskea |
| PPD | violetin ruskea |
| MTD | tummanruskea |
| PTD | keltaisen ruskea |
| DAP | tummanruskea |
| OAP | oranssi |
| MAP | keltaisen ruskea |
| PAP | violetin ruskea |
| 2-NPPD | ruskea |
| 4-NOPD | oranssi |

Kuvio 1

Suunta II



III. NITRIITIN TUNNISTAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN

A. TUNNISTAMINEN

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu nitriitin tunnistamiseen kosmeettisissa valmisteissa, erityisesti voiteissa ja tahnoissa.

2 PERIAATE

Nitriitin esiintymisen osoittaa värillisten johdannaisten muodostuminen 2-aminobentsaldehydifenylihydratsonin kanssa (Nitrin®).

3 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

3.1 Laimea rikkihappo: laimennetaan 2 ml väkevää rikkihappoa ($d_4^{20} = 1,84$) 11 ml:lla tislattua vettä.

3.2 Laimea suolahappo: laimennetaan 1 ml väkevää suolahappoa ($d_4^{20} = 1,19$) 11 ml:lla tislattua vettä.

3.3 Metanoli

3.4 2-aminobentsaldehydifenylihydratsonin (Nitrin® reagenssi) metanoliliuos.

Punnitaan 2,0 g Nitriniä® ja siirretään se kvantitatiivisesti 100 ml:n mittapulloon. Lisätään tipoitain 4 ml laimeaa suolahappoa (3.2) ja ravistellaan. Täytetään merkkiin saakka metanolilla ja sekoitetaan, kunnes liuos on täysin kirkas. Liuosta säilytetään ruskeassa lasipullossa (4.3).

4 LAITTEET

4.1 Dekantterilaseja, 50 ml

4.2 Mittapulloja, 100 ml

4.3 Ruskea lasipullo, 125 ml

4.4 Lasilevy, 10 x 10 cm

4.5 Muovilasta

4.6 Suodatinpaperi, 10 x 10 cm

5 MENETTELY

5.1 Osa tutkittavasta näytteestä levitetään tasaisesti lasilevylle (4.4) niin, että se peittää levyn pinnan enintään 1 cm:n paksuudelta.

5.2 Pala suodatinpaperia (4.6) liotetaan tislatussa vedessä. Suodatinpaperi levitetään näytteen päälle ja painetaan näytteeseen muovilastalla (4.5).

5.3 Odotetaan noin minuutti ja lisätään suodatinpaperin keskelle:

— kaksi tippaa laimeaa rikkihappoa (3.1),

— sen jälkeen kaksi tippaa Nitrin®-liuosta (3.4).

5.4 Viidestä kymmeneen sekunnin kuluttua suodatinpaperi poistetaan ja sitä tutkitaan päivänvaloa vasten. Nitriitin olemassaolon ilmaisee suodatinpaperin värjäytyminen purppuranpunertavaksi.

Jos nitriittipitoisuus on pieni, punertavan purppura väri muuttuu keltaiseksi 5–15 sekunnin kuluttua. Tämä värinmuutos tapahtuu vasta yhden tai kahden minuutin kuluttua, jos nitriittiä on suurina määrinä.

6 HUOMAUTUS

Punertavan purppuran värin intensiteetti ja aika, joka kuluu, ennen kuin se muuttuu keltaiseksi voi olla osoituksena näytteen nitriittipitoisuudesta.

B. MÄÄRITTÄMINEN

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Menetelmässä kuvataan nitriitin määrittämistä kosmeettisissa valmisteissa.

2 MÄÄRITELMÄ

Tämän menetelmän mukaisesti määritetty näytteen nitriittipitoisuus ilmaistaan natriumnitriitin painoprosenteina.

3 PERIAATE

Näyte laimennetaan vedellä ja selkeytetään, minkä jälkeen sen sisältämän nitriitin annetaan reagoida sulfaniilamidin ja N-1-naftyylietyleenidiamiinin kanssa ja saadun värin absorbanssi mitataan 538 nm:ssä.

4 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

4.1 Selkeytsreagenssit: näitä reagensseja ei saa käyttää pitempään kuin viikon valmistamisesta.

4.1.1 Carrez I -reagenssi:

Liutetaan 106 g kaliumsyaaniferraattia (II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, tislattuun veteen ja laimennetaan vedellä 1 000 ml:aan.

4.1.2 Carrez II -reagenssi:

Liutetaan 219,5 g sinkkiasetaattia, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ ja 30 ml jäätikkää tislattuun veteen ja laimennetaan vedellä 1 000 ml:an.

4.2 Natriumnitriittiliuos:

Liutetaan 0,500 g natriumnitriittiä tislattuun veteen 1 000 ml mittapulloon ja laimennetaan vedellä merkkiin saakka. Laimennetaan 10,0 ml tätä standardiperusliuosta 500 ml:ksi; 1 ml viimeksi mainittua liuosta = 10 μg $NaNO_2$:ta.

4.3 1N natriumhydroksidiliuos

4.4 0,2% sulfaniilamidihydrokloridi -liuos:

Liutetaan 2,0 g sulfaniilamidia 800 ml:an vettä lämmittäen. Jäähdytetään ja lisätään 100 ml väkevää suolahappoa samalla sekoittaen. Laimennetaan vedellä 1 000 ml:ksi.

4.5 5 N suolahappoliuos

4.6 N-1-naftyylireagenssi:

Tämä liuos on valmistettava käyttöpäivänä. Liutetaan 0,1 g N-1-naftyylietyleenidiamiinidihydrokloridia veteen ja laimennetaan vedellä 100 ml:aan saakka.

5 LAITTEET

5.1 Analyysivaaka

5.2 100, 250, 500 ja 1 000 ml:n mittapullot

5.3 Pallo- tai mittapipettejä

- 5.4 100 ml:n mittalaseja
- 5.5 Laskostettuja suodatinpapereita, nitriittömiä, halkaisija 15 cm
- 5.6 Vesihaude
- 5.7 Spektrofotometri, jossa 1 cm:n kyvetit
- 5.8 pH-mittari
- 5.9 10 ml:n mikrobyretti
- 5.10 250 ml:n dekantterilaseja

6 MENETTELY

- 6.1 Homogenisoitua näytettä punnitaan 0,5 g (m grammaa) 0,1 mg:n tarkkuudella, se siirretään kvantitatiivisesti kuuman tislatun veden avulla 250 ml dekantterilasiin (5.10), joka täytetään noin 150 ml:n tilavuuteen kuumalla tislatulla vedellä. Dekantterilasi (5.10) laitetaan vesihauteeseen (5.6) 80 °C:n lämpötilaan puoleksi tunniksi. Tänä aikana sisältöä ravistellaan ajoittain.
- 6.2 Jäähdytetään huoneenlämpöiseksi ja lisätään, samalla sekoittaen, ensin 2 ml Carrez I -reagenssia (4.1.1) ja sitten 2 ml Carrez II -reagenssia (4.1.2).
- 6.3 Lisätään 1N natriumhydroksidiliuosta (4.3) niin että pH-arvoksi tulee 8,3. (Käytetään pH-mittaria (5.8)). Sisältö siirretään kvantitatiivisesti 250 ml mittapulloon (5.2) ja täytetään tislatulla vedellä merkkiin saakka.
- 6.4 Sisältö sekoitetaan ja suodatetaan laskostetun suodatinpaperin läpi (5.5).
- 6.5 Pipetoidaan (5.3) sopiva määrä (V ml) kirkasta suodosta, kuitenkin korkeintaan 25 ml, 100 ml mittapulloon (5.2) ja täytetään tislatulla vedellä 60 ml:n tilavuuteen.
- 6.6 Sekoittamisen jälkeen lisätään 10,0 ml sulfaniiliamidihydrokloridi -liuosta (4.4) ja sen jälkeen 6,0 ml 5 N suolahappoa (4.5). Sekoitetaan ja annetaan seistä viisi minuuttia. Lisätään 2,0 ml N-1-naftyylireagenssia (4.6), sekoitetaan ja annetaan seistä kolme minuuttia. Laimennetaan vedellä merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- 6.7 Suoritetaan sokeakoe toistamalla 6.5 ja 6.6 kohdassa kuvatut toiminnot lisäämättä N-1-naftyylireagenssia (4.6).
- 6.8 Mitataan (5.7) 6.6 kohdan mukaisesti saadun liuoksen absorbanssi 538 nm:ssä sokealiuosta vastaan (6.7).
- 6.9 Luetaan standardikäyrältä (6.10) natriumnitriittipitoisuus mikrogrammoina 100 ml:n liuosmäärää kohti (m_1 mikrogrammaa), joka vastaa 6.8 kohdassa mitattua absorbanssia.
- 6.10 Tehdään standardikäyrä pitoisuuksille 0, 20, 40, 60, 80, 100 μg natriumnitriittiä 100 ml:ssa käyttäen 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$:n natriumnitriittiliuosta (4.2).

7 TULOSTEN LASKEMINEN

Näytteen natriumnitriittipitoisuus lasketaan painoprosenteina seuraavan kaavan avulla:

$$\% \text{NaNO}_2 = 20 \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

jossa:

m = analysoitavaksi otettu näytemäärä grammoina (6.1),

m_1 = kohdan 6.9 mukainen natriumnitriittipitoisuus mikrogrammoina,

V = mittauksessa käytetty suodoksen määrä millilitroina (6.5).

8 TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Natriumnitriittipitoisuuden ollessa noin 0,2 % m/m ei saman näytteen rinnakkaismääritysten tulosten eron absoluuttinen arvo saa olla enempää kuin 0,005 %.

IV. VAPAAAN FORMALDEHYDIN TUNNISTAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tässä menetelmässä kuvataan vapaan formaldehydin tunnistaminen ja määrittäminen. Sitä voidaan soveltaa kaikille kosmeettisille valmisteille ja se koostuu kolmesta osasta:

1.1 Tunnistaminen

1.2 Määrittäminen 2,4-pentaanidionin avulla kolorimetrisesti

Tämä menetelmä on riittämätön, mikäli formaldehydi on sitoutunut tai polymeroitunut, kuten formaldehydin luovuttajien kohdalla. Jos tulos ylittää suurimman sallitun pitoisuuden, on käytettävä seuraavaa menetelmää.

1.3 Määrittäminen bisulfiitin avulla

Tämän menetelmän avulla ei useimmissa sitoutuneissa tai polymeroiduissa yhdisteissä olevaa formaldehydiä oteta huomioon. Kuitenkin tietyt epästabiilit yhdisteet (heksametyleenitramiini esimerkiksi) havaitaan. Lisäksi alkalisuuden mittaaminen on vaikeaa puskuriliuoksen läsnäollessa.

2 MÄÄRITELMÄ

Tämän menetelmän mukaisesti määritetty näytteen vapaa formaldehydipitoisuus ilmaistaan painoprosentteina.

3 PERIAATE

3.1 I osa — Tunnistaminen

Formaldehydi muuttaa rikkihapon läsnäollessa Schiffin reagenssin vaaleanpunaiseksi tai sinipunaiseksi.

3.2 II osa — Määrittäminen 2,4-pentaanidionin avulla

Formaldehydi reagoi 2,4-pentaanidionin kanssa ammoniumasetaatin läsnäollessa muodostaen 3,5-diaesityyli-1,4-dihydrolutiidiiniä. Tämä uutetaan 1-butanolilla ja uutteen absorbanssi mitataan 410 nm:ssä.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

3.3 III osa - Määrittäminen bisulfiitin avulla

Formaldehydi reagoi sulfiitin kanssa happamassa liuoksessa 0 °C:n lämpötilassa muodostaen additioyhdisteen. Ylimääräiset protonit titraataan natriumhydroksidilla. Kulutetut protonit muodostavat laskentapetusteen formaldehydin määrän määrittämiseksi. Ilman sulfiittia suoritettuna sokeakokeen avulla voidaan mitata väliaineen alkalisuus tai happamuus.

4 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

4.1 Jäätikka**4.2 Vedetön ammoniumasetaatti****4.3 1-Butanoli****4.4 Rikkihappo, noin 2N****4.5 Juuri valmistettu 0,1 M natriumsulfiittiliuos****4.6 Schiffin reagenssi**

Punnitaan 100 mg fuksiinia dekantterilasiin ja liuotetaan 75 ml:aan vettä 80 °C:n lämpötilassa.

Jäähdyttämisen jälkeen lisätään 2,5 g natriumsulfiittiheptahydraattia ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ja 1,5 ml väkevää suolahappoa ($d_4^{20} = 1,19$). Täytetään 100 ml:ksi.

(Tämä reagenssi ei kelpaa käytettäväksi pitempään kuin kaksi viikkoa.)

4.7 2,4-pentaanidionireagenssi

1 000 ml:n mittapulloon liuotetaan:

150 g ammoniumasetaattia (4.2),

2 ml 2,4-pentaanidionia (juuri tislattu alennetussa paineessa — sen ei pitäisi absorboida 410 nm:ssä),

3 ml jäätikkoa (4.1).

Täytetään vedellä merkkiin saakka (liuoksen pH: noin 6,4)

Tämä reagenssi on valmistettava juuri ennen käyttöä.

4.8 Rikkihapon mittaliuos, 0,1N**4.9 Natriumhydroksidin mittaliuos, 0,1N****4.10 Jodiliuos, 0,1N****4.11 Natriumtiosulfaatti, 0,1N****4.12 Formaldehydin perusliuos**

Kaadetaan 5 g 37–40 % formaldehydiliuosta 1 000 ml:n mittapulloon ja täytetään tislattulla vedellä merkkiin saakka.

Määritetään tämän liuoksen pitoisuus seuraavasti: otetaan 10,00 ml; lisätään 25,00 ml 0,1 N jodiliuosta (4.10) ja 10 ml 1 N natriumhydroksidiliuosta.

Annetaan seistä viisi minuuttia.

Lisätään 11 ml 1 N HCl:ää ja titraataan ylimääräinen 0,1 N jodiliuos (4.10) 0,1 N natriumtiosulfaattiliuoksella (4.11) käyttäen tarkkelysliuosta indikaattorina.

1 ml 0,1 N jodiliuosta (4.10) vastaa 1,5 mg:aa formaldehydiä.

4.13 Formaldehydin vertailuliuos

Pipetoidaan 5,00 ml perusliuosta (4.12) 100 ml:n mittapulloon ja täytetään ionivaihdetulla vedellä merkkiin saakka.

Pipetoidaan 5,00 ml yllä mainittua liuosta 500 ml:n mittapulloon ja täytetään ionivaihdetulla vedellä merkkiin saakka.

1 ml tätä liuosta sisältää noin 1 µg formaldehydiä.

Lasketaan tarkka pitoisuus.

4.14 Tymolftaleiiniliuos, 0,1 g/100 ml 50 % etanolia.**4.15 Vertailureagenssiliuos: kuten reagenssi 4.7 mutta ilman 2,4-pentaanidionia.**

5 LAITTEET

- 5.1 Tavalliset laboratoriolaitteet
- 5.2 Faasinerotussuodatin, Whatman 1 PS (tai vastaava)
- 5.3 Sentrifuugi
- 5.4 Spektrofotometri
- 5.5 1 cm:n kyvettejä
- 5.6 Potentiometri, jossa piirturi
- 5.7 Lasi/kalomelielektrodeja (suositellaan käytettäväksi erityisiä matalan lämpötilan elektrodeja).

6 MENETTELY

6.1 Tunnistaminen

- 6.1.1 Punnitaan 2 g testattavaa näytettä 10 ml:n dekantterilasiin.
- 6.1.2 Lisätään kaksi tippaa 2N rikkihappoa (4.4) ja 2 ml Schiffin reagenssia (4.6) (tämän reagenssin on oltava käytettäessä täysin väritöntä).

Ravistellaan ja jätetään seisomaan viideksi minuutiksi.

- 6.1.3 Jos havaitaan vaaleanpunainen tai sinipunainen värisävy viiden minuutin kuluessa, on formaldehydiä läsnä yli 0,01 % ja se on määritettävä 6.2 kohdassa esitetyllä menetelmällä ja tarvittaessa 6.3 kohdassa esitetyllä menetelmällä.

6.2 Määrittäminen 2,4-pentaanidionin avulla kolorimetrisesti

6.2.1 Näyteliuos

- 6.2.1.1 100 ml:n mittapulloon punnitaan 0,001 g:n tarkkuudella sellainen määrä testattavaa näytettä (m grammaa), että se vastaa noin 150 mikrogrammaa oletettua formaldehydimäärää.

- 6.2.1.2 Täytetään ionivaihdetulla vedellä merkkiin saakka ja sekoitetaan.

- 6.2.1.3 50 ml:n erlenmeyerpulloon laitetaan:

10,00 ml 6.2.1.2 kohdassa tarkoitettua liuosta,

5,00 ml 2,4-pentaanidionireagenssia (4.7),

ionivaihdettua vettä siten, että lopullinen tilavuus on 30 ml.

6.2.2 Vertailuliuos

Mahdollinen virhe testinäytteessä olevan taustavärin johdosta estetään käyttämällä tätä vertailuliuosta.

50 ml:n erlenmeyerpulloon laitetaan:

10,00 ml 6.2.1.2 kohdassa tarkoitettua liuosta,

5,00 ml vertailureagenssiluosta (4.15),

ionivaihdettua vettä siten, että lopullinen tilavuus on 30 ml.

6.2.3 *Sokealiuos*

50 ml:n erlenmeyerpulloon laitetaan:

5,00 ml 2,4-pentaanidionireagenssia (4,7),

ionivaihdettua vettä siten, että lopullinen tilavuus on 30 ml.

6.2.4 *Määrittäminen*

6.2.4.1 Edellä 6.2.1.3, 6.2.2 ja 6.2.3 kohdassa tarkoitettuja pulloja ravistellaan ja ne laitetaan vesihauteeseen 60 °C:n lämpötilaan tarkalleen 10 minuutiksi. Annetaan jäähtyä kahden minuutin ajan jäävesihauteessa.

6.2.4.2 Siirretään 50 ml:n erotussuppiloihin, joissa on 10,00 ml 1-butanolia (4.3). Huuhdellaan kukin pullo 3–5 ml:lla vettä, joka lisätään suppiloihin. Seosta ravistellaan voimakkaasti täsmälleen 30 sekunnin ajan. Annetaan erottua.

6.2.4.3 Suodatetaan kyvetteihin faasinerotussuodattimen läpi. Sentrifugointi (5 000 kierrosta minuutissa viiden minuutin ajan) ei ole yhtä käytännöllistä ja kestää kauemmin.

6.2.4.4 Mitataan 6.2.1.3 kohdan näyteliuoksen uutteen absorbanssi A_1 410 nm:ssä 6.2.2 kohdan vertailuliuoksen uutetta vastaan.

6.2.4.5 Samalla tavalla mitataan 6.2.3 kohdan sokealiuoksen uute 1-butanolia (A_2) vastaan.

Huomaa:

Kaikki nämä toiminnot on suoritettava 25 minuutin kuluessa siitä kun erlenmeyerpullo on laitettu 60 °C:n vesi-hauteeseen.

6.2.5 *Standardikäyrä*

6.2.5.1 50 ml:n erlenmeyerpulloon laitetaan:

5,00 ml standardiliuosta (4.13),

5,00 ml 2,4-pentaanidionireagenssia (4.7),

tislattua vettä siten, että lopullinen tilavuus on 30 ml.

6.2.5.2 Jatketaan, kuten 6.2.4.5 kohdassa on selostettu, mitataan absorbanssi 1-butanolia (4.3) vastaan.

6.2.5.3 Toistetaan menettely 10, 15, 20 ja 25 ml:lla standardiliuosta.

6.2.5.4 Nolla-arvon saamiseksi toimitaan 6.2.4.5 kohdan mukaisesti.

6.2.5.5 Standardikäyrä tehdään nolla-arvon (6.2.4.5) vähentämisen jälkeen kustakin 6.2.5.2 ja 6.2.5.3 kohdassa saadusta absorbanssin arvosta. Beerin laki on voimassa formaldehydille 30 µg:aan asti.

6.3 **Määrittäminen bisulfitilla**

6.3.1 *Näytteen esikäsittely*

6.3.1.1 Koetta varten

Punnitaan taarattuun dekantterilasiin lähimmän 0,001 g:n tarkkuudella sellainen määrä koenäytettä (m grammaa), että se vastaa 3–20 mg:n oletettua formaldehydimäärää.

6.3.1.2 Vertailukoetta varten

Punnitaan samalla tavoin vertailukoenäytettä (m grammaa).

6.3.2 *Määrittäminen*

6.3.2.1 Laitetaan 50,00 ml 0,1 M natriumsulfiittia (4.5) 100 ml:n dekanterilasiin ja lisätään 10,00 ml 0,1 N rikkihappoa (4.8). Ravistetaan.

6.3.2.2 Laitetaan dekanterilasiin jään ja suolan seokseen lämpötilan pitämiseksi + 2 °C:ssä. Kaadetaan siihen testinäyte 6.3.1.1.

6.3.2.3 Titrataan nopeasti potentiometrillä 0,1 N natriumhydroksidilla (4.9) ravistaen jatkuvasti ja pitäen lämpötila + 2 ja + 4 °C:n välillä (neutraali piste on pH 9:n ja 11:n välillä).

Olkoon V_1 käytetyn 0,1 N natriumhydroksidin (4.9) tilavuus.

6.3.3 *Sokeakoe*

Titrataan 6.3.2.1 kohdan mukaisesti tehty toinen liuos 6.3.2 kohdassa kuvatuissa olosuhteissa.

Olkoon V_2 käytetyn 0,1 N natriumhydroksidin (4.9) tilavuus.

6.3.4 *Vertailukoe*

Määritetään koenäytteen m' happamuus tai alkalisuus potentiometrisesti titraamalla 0,1 N natriumhydroksidilla (4.9) tai 0,1 N rikkihapolla (4.8). Olkoon v' käytetyn 0,1 N natriumhydroksidin tai rikkihapon 0,1 N tilavuus.

6.3.5 *Huomaa:*

Annettuja testausolosuhteita on noudatettava tarkasti.

Määrittäminen on mahdollista suorittaa tymolftaleiinin (4.14) ollessa indikaattorina.

7. TULOSTEN LASKEMINEN

7.1 **Laskenta kolorimetrisessä menetelmässä**

7.1.1 Vähennetään A_1 :stä A_2 ja luetaan standardikäyrältä (6.2.5.5) testiliuoksen (6.2.1.3) formaldehydimäärä C mikrogrammoina.

7.1.2 Lasketaan näytteen formaldehydipitoisuus painoprosenteina (% m/m) seuraavan kaavan avulla:

$$\text{formaldehydipitoisuus \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2 **Laskenta bisulfiittititrausmenetelmässä**

Suhteutetaan vertailutestissä käytetyn 0,1 N natriumhydroksidin (4.9) tai 0,1 N rikkihapon (4.8) tilavuus massaansa m :

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

Neutraalissa valmisteessa $v = 0$

7.2.1 Happamassa valmisteessa:

$$\text{formaldehydipitoisuus \%} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2 Alkalisessa valmisteessa:

$$\text{formaldehydipitoisuus \%} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3 **Huomautus**

Jos kahden menetelmän tulokset poikkeavat toisistaan, otetaan huomioon vain pienempi arvo.

8 TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Formaldehydipitoisuudelle 0,2 % ei saman näytteen rinnakkaismääritysten tulosten ero saa olla yli 0,005 % kolorimetrisellä menetelmällä ja 0,05 % bisulfiittimenetelmällä.

V. RESORSINOLIN MÄÄRITTÄMINEN SHAMPOISSA JA HIUSVESISSÄ

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tässä menetelmässä kuvataan resorsinolin kaasukromatografinen määrittäminen shampoissa ja hiusvesissä. Menetelmä soveltuu näytteille, joissa pitoisuus on 0,1–2,0 painoprosenttia.

2 MÄÄRITELMÄ

Tämän menetelmän mukaisesti määritetty näytteen resorsinolipitoisuus ilmaistaan painoprosentteina.

3 PERIAATE

Resorsinoli ja sisäisenä standardina lisätty 3,5-dihydroksitolueeni (5-metyyliresorsinoli) erotetaan näytteestä ohutkerroskromatografisesti. Molemmat yhdisteet eristetään raaputtamalla niiden täplät ohutkerroslevystä ja uuttamalla metanolilla. Sen jälkeen uutetut yhdisteet kuivataan, silyloidaan ja määritetään kaasukromatografisesti.

4 REAGENSIT

Kaikkien reagenssien tulee olla analyysilaatua.

4.1 Suolahappo 25 % (m/m)

4.2 Metanoli

4.3 Etanoli 96 % (v/v)

4.4 Valmiita silikageeli-TLC-levyjä (muovi tai alumiini), joissa fluoresoiva indikaattori. Deaktivoidaan seuraavasti: suihkutetaan tavanomaisesti esipinnoitetut silikalevyt vedellä kiiltäviksi. Annetaan suihkutettujen levyjen kuivua ilmassa huonelämpötilassa 1–3 tuntia.

Huomaa:

Jos levyjä ei deaktivoita, voi resorsinolihäviöitä syntyä irreversiibelin silikalevyyn adsorpoitumisen johdosta.

4.5 Kehitiliuos; asetoni-kloroformi-etikkahappo (20:75:5 tilavuuksina).

4.6 Resorsinolin standardiliuos; liuotetaan 400 mg resorsinolia 100 ml:aan 96 % etanolia (4.3) (1 ml vastaa 4 000 µg resorsinolia).

4.7 Sisäinen standardiliuos; liuotetaan 400 mg 3,5-dihydroksitolueenia (DHT) 100 ml:aan 96 % etanolia (4.3) (1 ml vastaa 4 000 µg DHT:tä).

4.8 Standardiseos: sekoitetaan 10 ml liuosta 4.6 ja 10 ml liuosta 4.7 100 ml:n mittapulloon, täytetään merkkiin saakka 96 % etanolilla (4.3) ja sekoitetaan (1 ml vastaa 400 µg resorsinolia ja 400 µg DHT:tä).

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

4.9 Silyointiaineet:

4.9.1 N, O-bis-(trimetyylisilyyli)trifluoroasetamidi (BSTFA)

4.9.2 Heksametyylidisilatsaani (HMDS)

4.9.3 Trimetyylikloorisilaani (TMCS)

5 LAITTEET

5.1 Tavanomaiset ohutkerros- ja kaasukromatografiavälineet

5.2 Lasitarvikkeita

6 MENETTELY

6.1 Näytteen esikäsittely

6.1.1 Punnitaan valmistetta tarkasti 150 ml:n dekanterilasiin testattava osa valmistetta (m grammaa), joka sisältää noin 20–50 mg resorsinolia.

6.1.2 Lisätään suolahappoa (4.1), kunnes seos on hapan (tarvitaan noin 2–4 ml), lisätään 10 ml (40 mg DHT) sisäistä standardiliuosta (4.7) ja sekoitetaan. Siirretään etanolin (4.3) avulla 100 ml:n mittapulloon, täytetään etanolilla merkkiin saakka ja sekoitetaan.

6.1.3 Laitetaan 250 µl liuosta (6.1.2) deaktivoitulle silikalevyille (4.4) noin 8 cm pituiseksi katkeamattomaksi nauhaksi. Nauha on pyrittävä saamaan niin kapeaksi kuin mahdollista.

6.1.4 Laitetaan 250 µl standardiliuosta (4.8) samalle levyille samalla tavalla (6.1.3).

6.1.5 Lisätään 5 µl:n täplä kumpaakin liuosta 4.6 ja 4.7 kahteen lähtöviivan pisteeseen yhdisteiden paikallistamisen helpottumiseksi levyn kehittämisen jälkeen.

6.1.6 Levy kehitetään ei-kyllästetyssä astiassa, joka on täytetty kehiteliuksella 4.5, kunnes liuotin on noussut 12 cm lähtöviivasta; tavallisesti tämä kestää noin 45 minuuttia. Levy kuivataan ilmassa ja paikallistetaan resorsinoli/DHT-vyöhyke lyhytaalto-UV-valossa (254 nm). Näillä kahdella yhdisteellä on suunnilleen samat R_f -arvot. Merkitään nauhat kynällä 2 mm etäisyydellä nauhojen ulkopuolen tummasta reunaviivasta. Poistetaan nämä vyöhykkeet ja kerätään kunkin nauhan adsorbentit 10 ml pulloihin.

6.1.7 Uutetaan adsorbentit, joissa on näyte ja standardiseos, kumpikin seuraavalla tavalla:

lisätään 2 ml metanolia (4.2) ja uutetaan tunnin ajan koko ajan sekoittaen. Suodatetaan seos ja toistetaan uuttamista vielä 15 minuutin ajan 2 ml:lla metanolia.

6.1.8 Yhdistetään uutteen ja haihdutetaan liuos kuivattamalla yön yli vakuumiyksikaattorissa, joka on täytetty sopivalla kuivausaineella. Ei saa lämmittää.

6.1.9 Silyloidaan jäännökset (6.1.8) joko 6.1.9.1 tai 6.1.9.2 kohdan mukaisesti.

6.1.9.1 Lisätään 200 µl BSTFA:ta (4.9.1) mikroruiskulla ja jätetään seos suljettuun astiaan 12 tunniksi huone-
lämpötilaan.6.1.9.2 Lisätään järjestyksessä 200 µl HMDS:ää (4.9.2) ja 100 µl TMCS:ää (4.9.3) mikroruiskulla ja kuumen-
netaan seosta 30 minuutin ajan 60 °C:n lämpötilassa suljetussa astiassa. Jäähdytetään seos.

6.2 Kaasukromatografia

6.2.1 *Kromatografian ajo-olosuhteet*

Kolonnin erotuskyvyn (R) on oltava joko 1,5 tai parempi, jolloin:

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

jossa:

- R_1 ja R_2 = kahden piikin retentioaika minuuteissa,
 W_1 ja W_2 = samojen piikkien puolileveydet millimetreinä
 d' = piirturin nopeus millimetreinä minuutissa

Seuraavat kolonni- ja kaasukromatografian ajo-olosuhteet on havaittu sopiviksi:

| | |
|----------------------|---------------------------------------|
| Kolonnin materiaali: | ruostumaton teräs |
| pituus: | 200 cm |
| sisähalkaisija: | ~ 3 mm |
| täyte: | 10% OV-17 Chromosorb WAW 100–120 mesh |

Liekki-ionisaatiodetektori

Lämpötilat:

| | |
|-------------|----------------------|
| kolonni: | 185 °C (isoterminen) |
| detektori: | 250 °C |
| injektori: | 250 °C |
| Kantokaasu: | typpi |
| virtaus: | 45 ml/min. |

Typen ja ilman virtauksen säädössä seurataan valmistajan antamia ohjeita.

- 6.2.2 Ruiskutetaan 1–3 μ l 6.1.9 kohdan mukaisesti saatuja liuoksia kaasukromatografiaan. Kutakin liuosta (6.1.9) ruiskutetaan viisi kertaa, mitataan piikkien pinta-alat, lasketaan niiden keskiarvo ja lasketaan piikkien pinta-alojen suhde: S = resorsinolin piikin pinta-ala/DHT:n piikin pinta-ala.

7 TULOSTEN LASKEMINEN

Resorsinolin pitoisuus näytteessä, ilmaistuna painoprosenteina (% m/m) saadaan seuraavasta kaavasta:

$$\% \text{ resorsinolia} = \frac{4}{M} \times \frac{S \text{ näyte}}{S \text{ standardiseos}}$$

jossa:

- M = näytemäärä grammoina (6.1.1),
 S näyte = 6.2.2 mukainen näyteliuoksen piikkien pinta-alojen keskiarvojen suhde,
 S standardiseos = 6.2.2 mukainen standardiseoksen piikkien pinta-alojen keskiarvojen suhde.

8 TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Resorsinolipitoisuudelle noin 0,5% ei saman näytteen rinnakkaismäärittysten tulosten ero saa ylittää absoluuttista arvoa 0,025 %:a.

VI. METANOLIN MÄÄRITTÄMINEN SUHTEESSA ETANOLIIN TAI 2-PROPANOLIIN

1 TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tässä menetelmässä kuvataan kaikenlaisissa kosmeettisissa valmisteissa (mukaan lukien aerosolit) olevan metanolin kaasukromatografisen analyysi.

0–10 %:n suhteelliset tasot voidaan määrittää.

2 MÄÄRITELMÄ

Tämän menetelmän mukaisesti määritetty metanolipitoisuus ilmaistaan metanolin painoprosenteina suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin.

3 PERIAATE

Määrittys suoritetaan kaasukromatografisesti.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

4 REAGENSIT

Käytetään reagensseja, jotka ovat analyysilaatua.

4.1 Metanoli

4.2 Absoluuttinen etanoli

4.3 2-Propanoli

4.4 Kloroformi, saatu vapaaksi alkoholeista pesemällä vedellä

5 LAITTEET

5.1 Kaasukromatografi, jossa on:

Katarometridetektori aerosolinäytteitä varten,
liekki-ionisaatiodetektori muita kuin aerosolinäytteitä varten.

5.2 Mittapulloja, 100 ml

5.3 Pipettejä, 2 ml, 20 ml, 0–1 ml

5.4 Mikroruiskuja 0–100 µl ja 0–5 µl

ja (vain aerosolinäytteitä varten) erityinen kaasutiivis ruisku, jossa on luistiventtiili, (ks. näytteenottomenetelmä, kuvio 5)⁽¹⁾.

6 MENETTELY

6.1 Näytteen esikäsittely

6.1.1 Aerosolivalmisteiden näytteenotto suoritetaan 22 päivänä joulukuuta 1980⁽¹⁾ annetun komission direktiivin 80/1335/ETY liitteessä olevan kappaleen II mukaisesti, minkä jälkeen näytteet analysoidaan kaasukromatografisesti 6.2.1 kohdassa annettujen ohjeiden mukaisesti.

6.1.2 Muut kuin aerosolivalmisteet, joiden näytteenotto on suoritettu edellä mainitun II kappaleen mukaisesti, laimennetaan vedellä 1–2 %:ksi etanolin tai 2-propanolin suhteen, minkä jälkeen ne analysoidaan kaasukromatografisesti 6.2.2 kohdassa annettujen ohjeiden mukaisesti.

6.2 Kaasukromatografia

6.2.1 Aerosolinäytteiden analysoinnissa käytetään katarometridetektoria.

6.2.1.1 Kolonnin täyte on 10 % Hallcomid M18 Chromosorb WAW 100–200 mesh.

6.2.1.2 Kolonnin erotuskyvyn (R) on oltava joko 1,5 tai suurempi, jolloin:

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

jossa

R_1 ja R_2 = kahden piikin retentioaika minuuteissa,

W_1 ja W_2 = samojen piikkien puolileveydet millimetreinä,

d' = piirturin nopeus millimetreinä minuutissa.

6.2.1.3 Tämä resoluutio voidaan saada seuraavissa ajo-olosuhteissa:

| | |
|----------------------|-------------------|
| Kolonnin materiaali: | ruostumaton teräs |
| pituus: | 3,5 metriä |
| halkaisija: | 3 mm |

⁽¹⁾ EYVL N:o L 383, 31.12.1980, s. 27

Katarometrin siltajännite: 150 mA
 Kantokaasu: helium — paine: 2,5 baaria; virtaus: 45 ml/min.

Lämpötilat:
 injektori: 150 °C
 detektori: 150 °C
 kolonniuuni: 65 °C

6.2.2 Muut kuin aerosolinäytteet:

6.2.2.1 Kolonni täytetään Chromosorb 105:llä tai Porapak QS:llä ja käytetään liekki-ionisaatiotektoriä.

6.2.2.2 Kolonnin erotuskyvyn (R) on oltava joko 1,5 tai suurempi, jolloin:

$$R = 2 \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

jossa

R_1 ja R_2 = kahden piikin retentioaika minuuteissa,
 W_1 ja W_2 = samojen piikkien puolilevydet millimetreinä,
 d' = piirturin nopeus millimetreinä minuutissa.

6.2.2.3 Tämä resoluutio on saatu seuraavissa ajo-olosuhteissa:

Kolonnin materiaali: ruostumaton teräs
 pituus: 2 metriä
 halkaisija: 3 mm
 Potentiometrin herkkyys: 8×10^{-10} A
 kantokaasu: tyyppi — paine: 2,1 baaria; virtaus: 40 ml/min
 muut kaasut: vety — paine: 1,5 baaria; virtaus: 20 ml/min

Lämpötilat:
 injektori: 150 °C
 detektori: 230 °C
 kolonniuuni: 120–130 °C

7 STANDARDIKÄYRÄ

7.1 Edellä 6.2.1 kohdassa kuvatussa kaasukromatografiassa (Hallcomid M 18 -kolonni) käytetään seuraavia standardiseoksia. Nämä seokset valmistetaan mittaamalla pipeteillä, mutta tarkat määrät todetaan punnitsemalla välittömästi kunkin lisäyksen jälkeen pipetti tai pullo.

| Suhteellinen vahvuus (m/m %) | Metanoli (ml) | Etanoli tai 2-propanoli (ml) | Täytetty kloroformilla tilavuuteen |
|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------------|
| keskimäärin 2,5 % | 0,5 | 20 | 100 ml |
| keskimäärin 5,0 % | 1,0 | 20 | 100 ml |
| keskimäärin 7,5 % | 1,5 | 20 | 100 ml |
| keskimäärin 10,0 % | 2,0 | 20 | 100 ml |

Injektoidaan 2–3 μ l kromatografiin 6.2.1 kohdan ajo-olosuhteita noudattaen.

Lasketaan kunkin seoksen piikkien pinta-alojen suhde (metanoli/etanoli) tai (metanoli/2-propanoli). Piirretään standardikäyrä seuraavasti:

X-akseli: % metanolia suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin,

Y-akseli: piikin pinta-alojen suhde (metanoli/etanoli) tai (metanoli/2-propanoli).

- 7.2 Edellä 6.2.2 kohdassa kuvatussa kaasukromatografiassa (Porapak QS tai Chromosorb 105) käytetään seuraavia standardiseoksia. Nämä seokset valmistetaan mittaamalla pipeteilla, mutta tarkat määrät todetaan punnitsemalla välittömästi kunkin lisäyksen jälkeen pipetti tai pullo.

| Suhteellinen vahvuus (m/m %) | Metanoli (μl) | Etanoli tai 2-propanoli (ml) | Täytetty vedellä tilavuuteen |
|------------------------------|---------------|------------------------------|------------------------------|
| keskimäärin 2,5 % | 50 | 2 | 100 ml |
| keskimäärin 5,0 % | 100 | 2 | 100 ml |
| keskimäärin 7,5 % | 150 | 2 | 100 ml |
| keskimäärin 10,0 % | 200 | 2 | 100 ml |

Injektoidaan 2–3 μl kromatografiin 6.2.2 kohdan olosuhteita noudattaen.

Lasketaan kunkin seoksen piikkien pinta-alojen suhde (metanoli/etanoli) tai (metanoli/2-propanoli). Piirretään standardikäyrä seuraavasti:

X-akseli: % metanolia suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin,

Y-akseli: piikin pinta-alojen suhde (metanoli/etanoli) tai (metanoli/2-propanoli).

- 7.3 Standardikäyrän on oltava suora viiva.

8. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Metanolipitoisuudella 5 % suhteessa etanoliin tai 2-propanoliin ei saman näytteen rinnakkaismääritysten tulosten ero saa olla enempää kuin 0,25 %.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.