

383L0514

24.10.83

EUROOPAN YHTEISÖJEN VIRALLINEN LEHTI

N:o L 291/9

KOLMAS KOMISSION DIREKTIIVI,

annettu 27 päivänä syyskuuta 1983,

kosmeettisten valmisteiden koostumuksen tarkastamisessa tarvittavia analyysimenetelmiä koskevan jäsenvaltioiden lainsäädännön lähentämisestä

(83/514/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 83/341/ETY⁽²⁾, ja erityisesti sen 8 artiklan 1 kohdan,

sekä katsoo, että

direktiivissä 76/768/ETY säädetään kosmeettisten valmisteiden virallisesta tarkastamisesta sen varmistamiseksi, että kosmeettisten valmisteiden koostumusta koskevissa yhteisön säännöksissä asetettuja vaatimuksia noudatetaan,

kaikki tarvittavat analyysimenetelmät tulisi vahvistaa niin pian kuin mahdollista; kaksi vaihtoa tämän tavoitteen saavuttamiseksi on jo toteutettu määrittelemällä tietyt menetelmät komission direktiivissä 80/1335/ETY 3 ja 82/434/ETY⁽⁴⁾, kolmantena vaiheena on vahvistaa menetelmät dikloorimetaanin ja 1,1,1-trikloorietaanin määrittämiseksi, 8-kinolinolin ja bis(8-hydroksikinolinium)sulfaatin toteamiseksi ja määrittämiseksi, ammoniakkin määrittämiseksi, nitrometaanin toteamiseksi ja määrittämiseksi, hiusten kähertämiseen tai suoristamiseen sekä ihokarvojen poistamiseen tarkoitetuissa valmisteissa olevan merkaptotetikkahapon toteamiseksi ja määrittämiseksi, heksaklorofeenin (INN) toteamiseksi ja määrittämiseksi, natriumtosyylikloramidin (INN) määrän määrittämiseksi,

hammastahnojen kokonaisfluoripitoisuuden määrittämiseksi, orgaanisten elohopeayhdisteiden toteamiseksi ja määrittämiseksi, alkalisulfidien ja maa-alkalisulfidien määrittämiseksi, 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 virallisissa tarkastuksissa:

- dikloorimetaanin ja 1,1,1-trikloorietaanin määrittäminen,
- 8-kinolinolin ja bis(8-hydroksikinolinium)sulfaatin toteaminen ja määrittäminen,
- ammoniakkin määrittäminen,
- nitrometaanin toteaminen ja määrittäminen,
- hiusten kähertämiseen tai suoristamiseen sekä ihokarvojen poistoon tarkoitetuissa valmisteissa olevan merkaptotetikkahapon toteaminen ja määrittäminen,
- heksaklorofeenin (INN) toteaminen ja määrittäminen,
- natriumtosyylikloramidin (INN) määrän määrittäminen,
- hammastahnojen kokonaisfluoripitoisuuden määrittäminen,
- orgaanisten elohopeayhdisteiden toteaminen ja määrittäminen,

(1) EYVL N:o L 262, 27.9.1976, s. 169

(2) EYVL N:o L 188, 13.7.1983, s. 15

(3) EYVL N:o L 383, 31.12.1980, s. 27

(4) EYVL N:o L 185, 30.6.1982, s. 1

— alkalisulfidien ja maa-alkalisulfidien määrittäminen,
suoritetaan liitteessä selostettujen menetelmien mukaisesti.

2 artikla

Jäsenvaltioiden on saatettava tämän direktiivin noudattamisen edellyttämät lait, asetukset tai hallinnolliset määräykset voimaan viimeistään 31 päivänä joulukuuta 1984.

Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.

3 artikla

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

Tehty Brysselissä 27 päivänä syyskuuta 1983.

Komission puolesta

Frans ANDRIESEN

Komission jäsen

LIITE

DIKLOORIMETAANIN JA 1,1,1-TRIKLOORIETAANIN MÄÄRITYS

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu dikloorimetaanin (metyleenikloridin) ja 1,1,1-trikloorietaanin (metyylikloroformin) määrittämiseen kaikissa kosmeettisissa valmisteissa, joiden voidaan olettaa sisältävän kyseisiä liuottimia.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen dikloorimetaani- ja 1,1,1-trikloorietaani-pitoisuudet ilmoitetaan painoprosenteina.

3. PERIAATE

Menetelmä käyttää kaasukromatografiaa kloroformin ollessa sisäisenä standardina.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 Kloroformi (CHCl_3).

4.2 Hiilitetrakloridi (CCl_4).

4.3 Dikloorimetaani (CH_2Cl_2).

4.4 1,1,1-trikloorietaani (CH_3CCl_3).

4.5 Asetoni.

4.6 Typpi.

5. LAITTEET

5.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.

5.2 Kaasukromatografinen systeemi ja lämmönjohtokykydetektori.

5.3 50—100 ml siirtopullo (katso näytteenottomenetelmä 5.3)⁽¹⁾.

5.4 25 tai 50 μl painekaasuisku (katso näytteenottomenetelmä 5.4.2.2)⁽¹⁾.

6. MENETTELY

6.1 Ei-paineistettu näyte: näyte punnitaan tarkasti lasitulmalliseen erlenmeyerpulloon. Lisätään sisäiseksi standardiksi kloroformia (4.1) tarkoin punnittu määrä, yhtä paljon kuin näytteessä oletetaan olevan dikloorimetaania ja 1,1,1-trikloorietaania. Sekoitetaan hyvin.

⁽¹⁾ EYVL N:o L 383, 31.12.1980, s. 27

- 6.2 Paineistettu näyte: käytetään näytteenottokohdassa kuvattua menetelmää seuraavin muutoksin:
- 6.2.1 Kun näyte on siirretty siirtopulloon (5.3) lisätään siirtopulloon kloroformia (4.1) sisäiseksi standardiksi sama määrä kuin näytteessä oletetaan olevan dikloorimetaania ja 1,1,1-trikloorietaania. Sekoitetaan perusteellisesti. Venttiilin kuollut tilavuus huuhdellaan 0,5 ml:lla hiilitetrakloridia (4.2). Kuivauksen jälkeen määritetään lisätyn sisäisen standardin massa tarkasti laskemalla erotus.
- 6.2.2 Kun ruisku on täytetty näytteellä, ennen näytteen ruiskuttamista kromatografiin, ruiskun pää on puhdistettava tyypellä (4.6) niin, ettei siinä ole jäämiä.
- 6.2.3 Jokaisen näytteen ottamisen jälkeen venttiilin pinta ja liitoskappale on huuhdeltava useita kertoja asetonilla (4.5) (käytettäessä vaatimusten mukaista injektioruiskua) ja sitten kuivattava perusteellisesti tyypellä (4.6).
- 6.2.4 Jokaista analyysia varten on mittaukset tehtävä kahdella eri siirtopullolla ja viisi mittausta kullakin pullolla.

7. KROMATOGRAFIAN AJO-OLOSUHTEET

7.1 *Esikolonne*

Kolonnit: ruostumatonta terästä.

Pituus: 300 mm.

Halkaisija: 3 tai 6 mm.

Pakkaus: sama materiaali kuin analyytisen kolonnin pakkauksessa.

7.2 *Kolonne*

Stationäärifaasi on valmistettu Hallcomid M 18:sta (kantajana chromosorb). Kolonnin resoluution "R" on oltava 1,5 tai parempi, jossa:

$$R = 2 \frac{d' (r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

merkitään:

r_1 ja r_2 = retentioajat (minutteina),

W_1 ja W_2 = pöikien puolileveydet (millimetreinä),

d' = piirturin nopeus (millimetreinä minuutissa).

- 7.3 Esimerkiksi seuraavat kolonnit antavat toivottuja tuloksia:

<i>Kolonne</i>	I	II
Materiaali:	Ruostumaton teräsputkisto	Ruostumaton teräsputkisto
Pituus:	350 cm	400 cm
Halkaisija:	3 mm	6 mm
Kantaja-aine:		
chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
seula-analyysi:	100—120 mesh	60—80 mesh
Stationäärifaasi:	Hallcomid M18, 10 %	Hallcomid M18, 20 %

Lämpötilat saattavat vaihdella laitteiston funktiona. Esimerkeissä ne on säädetty seuraavasti:

<i>Kolonne</i>	I	II
Lämpötilat:		
kolonne:	65 °C	75 °C
injektori:	150 °C	125 °C
detektor:	150 °C	200 °C
Kantajakaasu:		
helium virausnopeus:	45 ml/min	60 ml/min
tulopaine:	2,5 bar	2 bar
Injektio:	15 μ l	15 μ l

8. SEOS VASTEKERTOIMEN SELVITTÄMISTÄ VARTEN

Valmista seuraava huolellisesti punnittu seos lasitulipalliseen erlenmeyerpulloon:

Dikloorimetaani (4.3), 30 % (m/m).

1,1,1-trikloorietaani (4.4), 35 % (m/m).

Kloroformi (4.1), 35 % (m/m).

9. TULOSTEN LASKEMINEN

9.1 *Vastekertoimen laskeminen aineelle "p" sisäiseksi standardiksi valitun aineen "a" subteen*

Ensimmäinen aine olkoon "p", jossa:

k_p = aineen vastekerroin,

m_p = aineen massa seoksessa,

A_p = aineen piikin pinta-ala.

Toinen aine olkoon "a", jossa:

k_a = aineen vastekerroin, (annettu arvo yksi),

M_a = aineen massa seoksessa,

A_a = aineen piikin pinta-ala,

silloin:

$$k_p = \frac{m_p \times A_a}{M_a \times A_p}$$

Esimerkiksi seuraavat vastekertoimet on saatu tulokseksi (kloroformille: $k = 1$):

Dikloorimetaani: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

1,1,1-trikloorietaani: $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2 *Lasketaan dikloorimetaanin ja 1,1,1-trikloorietaanin määrä analysoitavassa näytteessä % (m/m)*

Merkitään:

m_a = lisätyn kloroformin massa (grammoina),

M_s = analysoitavan näytteen massa (grammoina),

A_a = kloroformipiikin pinta-ala,

A_1 = dikloorimetaanipiikin pinta-ala,

A_2 = 1,1,1-trikloorietaanipiikin pinta-ala,

silloin:

$$\% \text{ (m/m) } \text{CH}_2\text{Cl}_2 = \frac{m_a \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times M_s}$$

$$\% \text{ (m/m) } \text{CH}_3\text{CCl}_3 = \frac{m_a \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_a \times M_s}$$

10. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Dikloorimetaani- tai 1,1,1-trikloorietaani-pitoisuuden ollessa 2,5 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettun rinnakkaismäärityksen välinen ero ei saa olla suurempi kuin absoluuttinen arvo 2,5 % (m/m).

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

8-KINOLINOLIN JA BIS(8-HYDROKSIKINOLINIUM)SULFAATIN TOTEAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN**1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA**

Tämä menetelmä soveltuu 8-kinolinolin ja sen sulfaatin toteamiseen ja niiden määrän määrittämiseen.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen 8-kinolinoli- ja bis(8-hydroksikinolinium)sulfaatti-pitoisuudet ilmoitetaan painoprosenteina 8-kinolinolia.

3. PERIAATE**3.1 Toteaminen**

Toteamisessa käytetään ohutkerroskromatografiaa.

3.2 Määrittäminen

Määritys tehdään spektrofotometrillä 410 nm:ssä kuparikompleksille, joka saadaan reaktiosta Fehlingin liuoksen kanssa.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 8-kinolinoli.**4.2 Bentseeni.** Käsiteltäessä bentseeniä on otettava huomioon, että se on erittäin myrkyllistä.**4.3 Kloroformi.****4.4 Natriumhydroksidin vesiliuos, 50 % (m/m) liuos.****4.5 Kuparisulfaattipentahydraatti.****4.6 Kaliumnatriumtartraatti.****4.7 1 N suolahappoliuos.****4.8 1 N rikkihappo.****4.9 1 N natriumhydroksidiliuos.****4.10 Etanoli.****4.11 1-butanoli.****4.12 Jäätikka.**

- 4.13 0,1 M suolahappo.
- 4.14 "Celite 545" tai vastaava.
- 4.15 *Mittaliuokset*
- 4.15.1 Punnitaan 100 mg 8-kinolinolia (4.1) 100 ml:n mittapulloon. Liuotetaan pieneen määrää rikkihappoa 1 N (4.8). Lisätään rikkihappoa 1 N (4.8) merkkiin saakka.
- 4.15.2 Punnitaan 100 mg 8-kinolinolia 100 ml:n mittapulloon. Liuotetaan etanoliin (4.10). Lisätään etanolia (4.10) merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- 4.16 *Febblingin liuos*
- Liuos A*
- Punnitaan 7 g kuparisulfaattipentahydraattia (4.5) 100 ml:n mittapulloon. Liuotetaan pieneen vesimäärään. Lisätään vettä merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- Liuos B*
- Punnitaan 35 g kaliumnatriumtartraattia (4.6) 100 ml:n mittapulloon. Liuotetaan 50 ml:aan vettä. Lisätään 20 ml natriumhydroksidia (4.4). Lisätään vettä merkkiin saakka ja sekoitetaan. Välittömästi ennen käyttöä pipetoidaan 10 ml liuosta A ja 10 ml liuosta B 100 ml:n mittapulloon. Täytetään vedellä merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- 4.17 *Ajoliuokset ohutkerroskromatografiaa varten*
- I : 1-butanoli (4.11)/jääetikka (4.12)/ vesi (80:20:20; v/v/v).
- II : Kloroformi 4.13)/jääetikka (4.12) (95:5;v/v).
- 4.18 2,6-dikloori-4-(kloroimino)sykloheksa-2,5-dienoni, 1 % (m/v) liuos etanolissa (4.10).
- 4.19 Natriumkarbonaatti, 1 % (m/v) vesiliuos.
- 4.20 Etanoli (4.10), 30 % (v/v) vesiliuos.
- 4.21 Dinatriumdivetyyleenidiamiinitetra-asetatti, 5 % (m/v) vesiliuos.
- 4.22 *Puskuriliuos, pH 7*
- Punnitaan 27 g vedetöntä kaliumdivetyortofosfaattia ja 70 g dikaliumvetyortofosfaattitrihydraattia yhden litran mittapulloon. Täytetään vedellä merkkiin saakka.
- 4.23 *Valmiit ohutkerroslevyt*
- Valmiit 0,25 mm:n ohutkerroslevyt (kuten Merck Kieselgel 60 tai vastaavat). Ennen käyttöä suihkuta levyt 10 ml:lla reagenssia (4.21) ja kuivata 80 °C:ssa.
5. LAITTEET
- 5.1 100 ml:n keittopullo, hioksella.
- 5.2 Mittapulloja.
- 5.3 10 ja 5 ml:n mittapipettejä.

- 5.4 20, 15, 10 ja 5 ml:n pallopipettejä.
- 5.5 100, 50 ja 25 ml:n erotussuppiloita.
- 5.6 Laskostettu suodatinpaperi, halkaisija 90 mm.
- 5.7 Pyöröhaihdutin.
- 5.8 Palautusjäähdytin, hioksella.
- 5.9 Spektrofotometri.
- 5.10 10 mm:n kyvettejä.
- 5.11 Kuumennettava sekoitin.
- 5.12 Lasiset kromatografiakolonnit, joiden mitat ovat : pituus 160 mm, halkaisija 8 mm, alapäästä kapeneva ja siinä lasivillatulppa sekä yläpäässä suutin paineen käyttöä varten.

6. MENETTELY

6.1 *Toteaminen*

6.1.1 *Nestemäiset näytteet*

- 6.1.1.1 Koenäytteen osan pH-arvo säädetään 7,5:een ja 10 μ l täplä pipetoidaan esikäsitellyn piihappogeelilevyn (4.23) aloitusviivalle.
- 6.1.1.2 10 ja 30 μ l:n täplät mittaliuosta (4.15.2) pipetoidaan kahteen muuhun kohtaan aloitusviivalle, jonka jälkeen levy kehitetään jommassa kummassa eluointiaineessa (4.17).
- 6.1.1.3 Kun liuoksen etureuna on edennyt 150 mm, levy kuivataan 110 °C:ssa (15 minuuttia). UV-lampun (366 nm) alla 8-kinolinoli -täplät fluoresoivat keltaisina.
- 6.1.1.4 Levy suihkutetaan natriumkarbonaattiliuoksella (4.19). Kuivataan ja suihkutetaan 2,6-dikloori-4-(kloroimino)sykloheksa-2,5-dienoniliuoksella (4.18). 8-kinolinoli tulee näkyviin sinisenä täplänä.

6.1.2 *Kiinteät näytteet tai voiteet*

- 6.1.2.1 Dispergoidaan 1 g näytettä 5 ml:n puskuriliuosta (4.22). Sitten se siirretään 10 ml:n avulla kloroformia (4.3) erotussuppiloon ja ravistetaan. Kloroformikerroksen erottauduttua vesikerros uutetaan vielä kaksi kertaa 10 ml:lla kloroformia (4.3). Yhdistetyt ja suodatetut kloroformiuutteet haihdutetaan lähes kuiviksi 100 ml:n keittopullossa (5.1) pyöröhaihduttimessa (5.7). Jäännös liuotetaan 2 ml:n kloroformia (4.3) ja pipetoidaan 10 ja 30 μ l täplät näin saatua liuosta piihappogeelilevylle (4.23) samalla tavalla kuin menetelmässä, joka on selostettu 6.1.1.1 kohdassa.
- 6.1.2.2 Pannaan 10 ja 30 μ l mittaliuosta (4.15.2) levyille ja jatketaan 6.1.1.2—6.1.1.4 kohdassa kerrotulla tavalla.

6.2 *Määrittäminen*

6.2.1 *Nestemäiset näytteet*

- 6.2.1.1 Punnitaan 5 g näytettä 100 ml:n keittopulloon. Lisätään 1 ml rikkihappoliuosta (4.8) ja seos haihdutetaan melkein kuiviin vakuuissa 50 °C:ssa.

- 6.2.1.2 Jäännös liuotetaan 20 ml:an lämmintä vettä. Se siirretään 100 ml:n mittapulloon. Huuhdellaan kolme kertaa 20 ml:lla vettä. Lisätään vettä 100 ml:n merkkiin saakka ja sekoitetaan.
- 6.2.1.3 Otetaan pipetillä 5 ml tätä liuosta 50 ml erotussuppiloon (5.5). Lisätään 10 ml Fehlingin liuosta (4.16). Uutetaan saatu 8-kinolinoli kuparikompleksi [oxinekupari (ISO)] kolme kertaa 8 ml:lla kloroformia (4.3).
- 6.2.1.4 Suodatetaan ja kerätään kloroformikerrokset 25 ml:n mittapulloon (5.2). Täytetään merkkiin saakka kloroformilla (4.3) ja ravistetaan. Mitataan keltaisen nesteen absorbanssi kloroformia vastaan 410 nm:ssä.
- 6.2.2 *Kiinteät näytteet tai voiteet*
- 6.2.2.1 Punnitaan 0,500 g näytettä 100 ml:n keittopulloon (5.1). Lisätään 30 ml bentseeniä (4.2) ja 20 ml suolahappoa (4.7). Keitetään pullon sisältöä jäädyttimen alla sekoittaen 30 min.
- 6.2.2.2 Pullon sisältö siirretään 100 ml:n erotussuppiloon (5.5). Huuhdotaan 5 ml:lla 1 N suolahappoliuosta (4.7). Vesifaasi siirretään keittopulloon (5.1) ja bentseenifaasi pestään 5 ml:lla suolahappoa 1 N (4.7).
- 6.2.2.3 Jos tutkittavana on emulsioita, jotka estävät jatkokäsittelyn, sekoitetaan 0,500 g näytettä ja 2 g Celite 545 (4.14), jolloin muodostuu vapaasti virtaava jauhe. Seos siirretään pieninä annoksina lasiseen kromatografiakoloniin (5.12).

Kolonnin täyte tiivistetään jokaisen lisäyksen jälkeen. Heti kun kaikki seos on siirretty kolonniin eluoidaan suolahapolla (4.13) niin, että 10 ml eluaattia saadaan noin 10 minuutissa (mikäli välttämätöntä, eluointi voidaan suorittaa kevyen tyypipaineen alaisena). Eluoinnin aikana on varmistettava, että kolonnin täytteen pinnalla on koko ajan suolahappoa. Ensimmäiset 10 ml eluaattia käsitellään edelleen 6.2.2.4 kohdassa selostelulla tavalla.

- 6.2.2.4 Kerätyt vesifaasit (6.2.2.2) tai eluaatti (6.2.2.3) haihdutetaan lähes kuiviin pyöröhaihduttimessa vakuuissa.
- 6.2.2.5 Jäännös liuotetaan 6 ml:an natriumhydroksidiliuosta (4.9). Lisätään 20 ml Fehlingin liuosta (4.16) ja pullon sisältö kaadetaan 50 ml:n erotussuppiloon (5.5). Pullo huuhdotaan 8 ml:lla kloroformia (4.3). Ravistetaan ja kloroformifaasi suodatetaan 50 ml:n mittapulloon (5.2).
- 6.2.2.6 Uutto toistetaan kolme kertaa käyttäen 8 ml kloroformia (4.3). Kloroformifaasit suodatetaan ja kerätään 50 ml pulloon. Täytetään merkkiin kloroformilla (4.3) ja ravistetaan. Keltaisen nesteen absorbanssi mitataan kloroformia (4.3) vastaan 410 nm:ssä.

7. STANDARDIKÄYRÄ

Neljään 100 ml:n keittopulloon (5.1), joissa jokaisessa on 3 ml 30 % vesi-etanoliliuosta (4.20) pipetoidaan 5, 10, 15, ja 20 ml määrät mittaliuosta (4.15.1), mitkä vastaavat 5, 10, 15 ja 20 mg 8-kinolinolia. Jatketaan 6.2.1 kohdassa selostetulla tavalla.

8. TULOSTEN LASKEMINEN

8.1 *Nestemäiset näytteet*

$$\text{8-kinolinolin pitoisuus (prosentteina (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100$$

a = 8-kinolinolin massa milligrammoina standardikäyrällä (7),

m = näytteen (6.2.1.1) massa (milligrammoina).

8.2. Kiinteät näytteet tai voiteet

$$\text{8-kinolinolin pitoisuus (prosentteina (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100$$

jossa:

a = 8-kinolinolin massa milligrammoina standardikäyrällä (7),

m = näytteen (6.2.1.1) massa (milligrammoina).

9. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

8-kinolinolin pitoisuuden ollessa noin 0,3 % kahden samasta näytteestä suoritettun rinnakkaismäärityksen välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,02 %.

AMMONIAKIN MÄÄRITYS**1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA**

Tässä kohdassa selostetaan vapaan ammoniakkin määritys kosmeettisissa valmisteissa.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen ammoniakkipitoisuudet ilmoitetaan painoprosentteina ammoniakkia.

3. PERIAATE

Bariumkloridiliuosta lisätään vesi-metanoliseokseen liuotettuun kosmeettisen valmisteeseen. Mahdollisesti muodostuva sakka suodatetaan tai sentrifugoidaan pois. Tämä toimenpide estää ammoniakkin häviämisen höyrytislauksen aikana tietyistä ammoniakkin suoloista, esimerkiksi ammoniumkarbonaatista ja ammoniumvetykarbonaatista sekä rasvahappojen suoloista, poikkeuksena ammoniumasettaatti.

Ammoniakki höyrytislataan suodoksesta tai sakan päällä olevasta nesteestä ja se määritetään joko potentiometrisellä tai muulla titrauksella.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 Metanoli.**4.2 Bariumklorididihydraattiliuos, 25 % (m/v).****4.3 Ortoboorihappoliuos, 4 % (m/v).****4.4 Rikkihappo, 0,5 N mittaliuos.****4.5 Vaahdonestoaine.****4.6 Natriumhydroksidi, 0,5 N mittaliuos.****4.7 Indikaattori: sekoitetaan 5 ml 0,1 % (m/v) metyyliipunan etanoliliuosta 2 ml:aan 0,1 % (m/v) metyleeninen vesiliuosta.**

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

5. LAITTEET

- 5.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.
- 5.2 Sentrifugi, jossa 100 ml:n korkilliset putket.
- 5.3 Höyrytisluslaitteisto.
- 5.4 Potentiometri.
- 5.5 Lasielektrodi ja dimerkuridikloridi (kalomeli) vertailuelektrodi.

6. MENETTELY

- 6.1 100 ml:n mittapulloon punnitaan näyte, jonka massa (m) vastaa korkeintaan 150 mg ammoniakkaa.
- 6.2 Lisätään 10 ml vettä, 10 ml metanolia (4.1) ja 10 ml bariumkloridiliuosta (4.2). Täytetään 100 ml:ksi metanolilla (4.1).
- 6.3 Sekoitetaan ja jätetään yöksi jääkaappiin (5 °C).
- 6.4 Vielä kylmä liuos suodatetaan tai sentrifugoidaan suljetuissa putkissa 10 minuutin ajan niin, että saadaan kirkas suodos tai pinnalle nouseva kerros.
- 6.5 40 ml tätä kirkasta liuosta otetaan pipetillä höyrytisluslaitteeseen (5.3) ja tarvittaessa lisätään 0,5 ml vaahdonestoainetta (4.5).
- 6.6 Tislataan ja kerätään 200 ml tislettä 250 ml:n dekanterilasiin, jossa on 10 ml rikkihappomittaliuosta (4.4) ja 0,1 ml indikaattoria (4.7).
- 6.7 Takaisintitraa ylimääräinen happo natriumhydroksidimittaliuksella (4.6).
- 6.8 *Huomaa:* Potentiometristä mittausta varten otetaan 200 ml tislettä 250 ml:n dekanterilasiin, jossa on 25 ml ortoboorihappoliuosta (4.3) ja se titrataan rikkihappomittaliuksella (4.4) ja neutraalointikäyrä piirretään.

7. TULOSTEN LASKEMINEN

7.1 *Tulosten laskeminen takaisintitrauksessa*

Olkoon:

V_1 = käytetyn natriumhydroksidiliuoksen 0,5 N tilavuus (4.6) (millilitroina),

T_1 = sen molaarisuus (4.6),

T_2 = rikkihappoliuoksen 0,5 N (4.4) molaarisuuskerroin,

m = näytteen (6.1) massa (milligrammoina),

silloin:

$$\text{NH}_3 \text{ \% (m/m)} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 4 250}{m}$$

7.2 *Tulosten laskeminen suorassa potentiometrisessä titrauksessa*

Merkitään:

V_2 = käytetyn rikkihappoliuoksen 0,5 N (4.4) tilavuus (millilitroina),

T_2 = sen (4.4) molaarisuus,

m = näytteen (6.1) massa (milligrammoina),

silloin:

$$\text{NH}_3 \text{ \% (m/m)} = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{V_2 \times T_2 \times 4\,250}{m}$$

8. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Ammoniakkipitoisuuden ollessa noin 6 % kahden samasta näytteestä suoritettun rinnakkaismäärityksen välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,6 %.

NITROMETAANIN TOTEAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu nitrometaanin toteamiseen ja määrittämiseen noin 0,3 %:n pitoisuuteen saakka kosmeettisissa valmisteissa, jotka on pakattu aerosolitölkkeihin.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetty näytteen nitrometaanipitoisuus ilmoitetaan painoprosentteina nitrometaania koko painesumuttimen sisällöstä.

3. PERIAATE

Nitrometaani tunnistetaan värireaktiolla. Nitrometaani määritetään kaasukromatografisesti sisäisen standardin lisäyksen jälkeen.

4. TOTEAMINEN

4.1 *Reagenssit*

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1.1 Natriumhydroksidi 0,5 M liuos.

4.1.2 *Folinin reagenssi*

Liuetetaan 0,1 g natrium-3,4-divety-3,4-dioxonaftaleeni-1-sulfonaattia veteen ja laimennetaan 100 ml:ksi.

4.2 *Menettely*

1 ml:n näytettä lisätään 10 ml ainetta 4.1.1 ja 1 ml ainetta 4.1.2. Violetti väri ilmaisee nitrometaanin olemassaolon.

5. MÄÄRITTÄMINEN

5.1 *Reagenssit*

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 5.1.1 Kloroformi (sisäinen standardi 1).
- 5.1.2 2,4-dimetyyliheptaani (sisäinen standardi 2).
- 5.1.3 Etanoli, 95 %.
- 5.1.4 Nitrometaani.

5.1.5 *Kloroformivertailuliuos*

Taarattuun 25 ml mittapulloon kaadetaan noin 650 mg kloroformia (5.1.1). Pullo ja sisältö punnitaan tarkasti uudestaan. Täytetään 25 ml:n 95 % etanolilla (5.1.3). Punnitaan ja lasketaan klorofomin painoprosentti kyseisessä liuoksessa.

5.1.6 *2,4-dimetyyliheptaanivertailuliuos*

Valmistetaan kloroformivertailulioksen kanssa samalla tavalla, mutta punnitaan 270 mg 2,4-dimetyyliheptaania (5.1.2) 25 ml:n mittapulloon.

5.2 *Laitteisto*

- 5.2.1 Kaasukromatografi, jossa on liekki-ionisaatiodetektor.
- 5.2.2 Laitteisto aerosolien testaukseen (kuten siirtopullo, mikroruiskuliittimiä) sellaisena kuin on selostettu 22 päivänä joulukuuta 1980 annetun komission direktiivin 80/1335/ETY⁽¹⁾ liitteessä olevassa II luvussa.
- 5.2.3 Tavallinen laboratoriolaitteisto.

5.3 *Menettely*

5.3.1 *Näytteen esikäsittely*

Taarattuun 100 ml siirtopulloon, joka on tyhjennetty edellä direktiivin 80/335/ETY liitteessä olevan II luvun 5.4 kohdassa selostetulla tavalla, kaadetaan 5 ml jompaa kumpaa sisäistä standardia (5.1.5 tai 5.1.6).

Käytetään 10 tai 20 ml:n lasiruiskua ilman neulaa. Ruiskuun on liitetty siirtokappale edellä mainitun neuvoston direktiivin II luvun 5 kohdassa selostetulla tavalla. Pullo punnitaan uudestaan niin, että pulloon kaadettu määrä voidaan määrittää.

Samalla menetelmällä siirretään kyseiseen pulloon noin 50 g näyteaerosolin sisällöstä. Punnitaan jälleen uudelleen siirretyn näytteen määrän määrittämiseksi. Sekoitetaan perusteellisesti.

Injektoidaan noin 10 µl käyttäen erityistä mikroruiskua (5.2.2). Injektoidaan 5 kertaa.

5.3.2 *Standardin valmistaminen*

50 ml:n mittapulloon mitataan tarkasti noin 500 mg nitrometaania (5.1.4) ja joko 500 mg kloroformia (5.1.1) tai 210 mg 2,4-dimetyyliheptaania (5.1.2). Täytetään merkkiin saakka 95 % etanolilla (5.1.3). Sekoitetaan huolellisesti. Siirretään 5 ml tätä liuosta 20 ml mittapulloon. Täytetään 95 % etanolilla (5.1.3) merkkiin saakka. Injektoidaan noin 10 µl käyttäen erityistä mikroruiskua (5.2.2). Injektoidaan 5 kertaa.

5.3.3 *Kaasukromatografian ajo-olosuhteet*

5.3.3.1 *Kolonni*

Kolonni on kaksiosainen, ensimmäisessä on täyteenä didekyyliftalaattia Gas Chrom Q:ia, toisessa on täyteenä Ucon 50 HB 280X:ää Gas Chrom Q:ia. Valmistetun yhdistetyn kolonnin resoluution "R" on oltava 1,5 tai parempi, jossa:

(¹) EYVL N:o L 383, 31.12.1980, s. 27

$$R = 2 \frac{d'(r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

olkoon:

r_1 ja r_2 = retentioajat (minuutteina),

W_1 ja W_2 = piikkien puolileveydet (millimetreinä),

d' = piirturin nopeus (millimetreinä minuutissa).

Esimerkiksi seuraavat kaksi osaa antavat vaaditun resoluution:

Kolonne A:

Materiaali: ruostumaton teräs.

Pituus: 1,5 m.

Halkaisija: 3 mm.

Täyte: 20 % didekyyliiftalaatti Gas Chrom Q:lla (100—120 mesh).

Kolonne B:

Materiaali: ruostumaton teräs.

Pituus: 1,5 m.

Halkaisija: 3 mm.

Täyte: 20 % Ucon 50 HB 280X Gas Chrom Q:lla (100—120 mesh).

5.3.3.2 Detektori

Sopiva herkkyysasetus liekki-ionisaatiodetektorin elektrometrille on 8×10^{-10} A.

5.3.3.3 Lämpötilat

Injektori: 150 °C,

Detektori: 150 °C,

Kolonne: 50—80 °C riippuen yksittäisistä kolonneista ja laitteistosta.

5.3.3.4 Sopivat kaasut

Kantajakaasu: typpi.

Paine: 2,1 bar.

Virtaus: 40 ml/min.

Detektorin säädöt: detektorin valmistajan ilmoittamat.

6. TULOSTEN LASKEMINEN

6.1 Vastekerroin nitrometaanille, laskettu suhteessa käytettyyn sisäiseen standardiin

Jos "n" on nitrometaani:

olkoon:

k_n = sen vastekerroin,

m'_n = sen massa seoksessa,

S'_n = sen piikin pinta-ala.

Jos "c" on sisäinen standardi, kloroformi tai 2,4-dimetyyliheptaani:

olkoon:

m'_c = sen massa (grammoina) seoksessa,

S'_c = sen piikin pinta-ala,

silloin:

$$k_n = \frac{m'_n}{m'_c} \times \frac{S'_c}{S'_n}$$

(k_n on laitteiston funktio).

6.2 Nitrometaanikonsentraatio näytteessä

Jos "n" on nitrometaani:

olkoon:

k_n = sen vastekerroin,

S_n = sen piikin pinta-ala.

Jos "c" on sisäinen standardi, kloroformi tai 2,4-dimetyyliheptaani:

olkoon:

m_c = sen massa (grammoina) seoksessa,

S_c = sen piikin pinta-ala,

M = siirretyn aerosolin massa (grammoina),

silloin näytteessä on nitrometaania prosentteina % (m/m):

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_n}{S_c} \times 100$$

7. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Nitrometaanipitoisuuden ollessa noin 0,3 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettujen rinnakkaismäärittäysten välinen ero ei saa olla suurempi kuin absoluuttinen arvo 0,03 % (m/m).

MERKAPTOETIKKAHAPON TOTEAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN HIUSTEN KÄHERTÄMISEEN JA SUORISTAMISEEN SEKÄ IHOKARVOJEN POISTAMISEEN TARKOITETUISSA VALMISTEISSA

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu merkaptotietikkahapon toteamiseen ja määrittämiseen hiusten kähertämiseen tai suoristamiseen sekä ihokarvojen poistamiseen tarkoitetuissa valmisteissa, joissa saattaa olla muitakin pelkistimiä.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen merkaptotietikkahappopitoisuudet ilmoitetaan painoprosentteina merkaptotietikkahappoa.

3. PERIAATE

Merkaptotietikkahappo todetaan täpläkokeella ja ohutkerroskromatografisesti ja se määritetään jodometri-
sesti tai kaasu-kromatografisesti.

4. TOTEAMINEN

4.1 *Toteaminen täpläkokeilla*

4.1.1 *Reagenssit*

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1.1.1 Lyijydi(asetatti)paperi.

4.1.1.2 Suolahappoliuos (yksi osa väkevää suolahappoa ja yksi osa vettä).

4.1.2 *Menettely*

4.1.2.1 Merkaptotietikkahapon toteaminen värireaktiolla lyijydi(asetatin) avulla.

Tiputetaan tippa analysoitavaa näytettä lyijydi(asetatti)paperille (4.1.1.1). Jos voimakkaan keltainen väri tulee näkyviin, näytteessä on todennäköisesti merkaptotietikkahappoa.

Herkkyys: 0,5 %.

4.1.2.2 Epäorgaanisten sulfidien toteaminen rikkivedyn muodostumisesta happamissa olo- suhteissa.

Pannaan koeputken muutama milligramma tutkittavaa näytettä. Lisätään 2 ml tislattua vettä ja 1 ml suolahappoa (4.1.1.2). Muodostuu rikkivetyä, mikä on tunnistettavissa hajunsa vuoksi ja musta lyijysulfidisaakka muodostuu

lyijydi(asetatti)paperille (4.1.1.1).

Herkkyys: 50 ppm.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 4.1.2.3 Sulfiittien toteaminen rikkidioksidin muodostumisesta happamissa olosuhteissa.
Tehdään kohdassa 4.1.2.2. selostetulla tavalla. Kuumennetaan kiehumapisteeseen. Rikkidioksidi on tunnistettavissa hajustaan ja pelkistävästä ominaisuuksistaan esimerkiksi permanganaatti-ionien suhteen.
- 4.2 *Toteaminen ohutkerroskromatografisesti*
- 4.2.1 *Reagenssit*
- Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua, ellei ole toisin mainittu.
- 4.2.1.1 Merkaptotikkahappo (tioglykoli happo), 98 % vähimmäispuhtaus analysoidaan jodometrisesti.
- 4.2.1.2 2,2'-ditiodi(etikka)happo, 99 % vähimmäispuhtaus analysoidaan jodometrisesti.
- 4.2.1.3 2-merkaptopropionihappo (tiomaitohappo), 95 % vähimmäispuhtaus analysoidaan jodometrisesti.
- 4.2.1.4 3-merkaptopropionihappo, 98 % vähimmäispuhtaus analysoidaan jodometrisesti.
- 4.2.1.5 3-merkaptopropaani-1,2-dioli (1-tioglyseroli), 98 % vähimmäispuhtaus analysoidaan jodometrillä.
- 4.2.1.6 Ohutlevyt, piihappogeeli, valmiita, 0,25 mm paksuisia.
- 4.2.1.7 Ohutlevyt, alumiinioksidi, Merck F 254 E tai vastaava.
- 4.2.1.8 Suolahappo, väkevä, $d_{20}^4 = 1,19$ g/ml.
- 4.2.1.9 Etyyliasettaatti.
- 4.2.1.10 Kloroformi.
- 4.2.1.11 Di-isopropyylieetteri.
- 4.2.1.12 Hiilitetrakloridi.
- 4.2.1.13 Jäätikka.
- 4.2.1.14 Kaliumjodidi, 1 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.15 Platinatetrakloridi, 0,1 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.16 *Eluentit*
- 4.2.1.16.1 Etyyliasettaatti (4.2.1.9), kloroformi (4.2.1.10), di-isopropyylieetteri (4.2.1.11.) etikkahappo (4.2.1.13.) (20 : 20 : 10 : 10, tilavuussuhteet).
- 4.2.1.16.2 Kloroformi (4.2.1.10), etikkahappo (4.2.1.13)(90 : 20, tilavuussuhteet).
- 4.2.1.17 *Värjäysreagenssit*
- 4.2.1.17.1 Sekoitetaan juuri ennen käyttöä samassa tilavuussuhteessa liuosta (4.2.1.14) ja liuosta (4.2.1.15).
- 4.2.1.17.2 Bromiliuos, 5 % (m/v):
Liuotetaan 5 g bromia 100 ml:aan hiilitetrakloridia (4.2.1.12).
- 4.2.1.17.3 Fluoreseiiniliuos, 0,1 % (m/v):
Liuotetaan 100 mg fluoreseiinia 100 ml:aan etanolia.
- 4.2.1.17.4 Heksa-ammoniumheptamolybdaatti, 10 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.18 *Vertailuliuokset*
- 4.2.1.18.1 Merkaptotikkahappo (4.2.1.1), 0,4 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.18.2 2,2'-ditiodietikkahappo (4.2.1.2), 0,4 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.18.3 2-merkaptopropionihappo (4.2.1.3), 0,4 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.18.4 3-merkaptopropionihappo (4.2.1.4) 0,4 % (m/v) vesiliuos.
- 4.2.1.18.5 3-merkaptopropaani-1,2-dioli (4.2.1.5) 0,4 % (m/v) vesiliuos.

4.2.2 *Laitteisto*

Tavallinen ohutkerroskromatografialaitteisto.

4.2.3 *Menettely*4.2.3.1 *Näytteiden käsittely*

Tehtään happamaksi pH 1:en muutamalla tipalla suolahappoa (4.2.1.8) ja suodatetaan, mikäli tarpeellista.

Tietyissä tapauksissa voi olla suositeltavaa laimentaa näyte. Jos näin on tehtävä, näyte tehdään happamaksi suolahapolla ennen laimennusta.

4.2.3.2 *Eluointi*

Levyille laitetaan 1 µl näyteliuosta (4.2.3.1) ja yksi µl jokaista vertailuliuosta (4.2.1.18). Kuivataan varovasti heikossa typpivirrassa ja levy eluoidaan ajoliuoksilla (4.2.1.16.1 tai 4.2.1.16.2). Levy kuivataan niin nopeasti kuin mahdollista tiolien hapettumisen minimoimiseksi.

4.2.3.3 *Värjäys*

Levyille ruiskutetaan yhtä kolmesta reagenssista (4.2.1.17.1, .2.1.17.3 tai 4.2.1.17.4). Jos levyille ruiskutetaan reagenssia (4.2.1.17.3), se jatkokäsitellään bromihöyryllä (esimerkiksi tankissa, jossa on reagenssia (4.2.1.17.2) pienessä dekantterilasissa) kunnes täplät tulevat näkyviin. Värjäys suihkereagenssilla (4.2.1.17.4) onnistuu ainoastaan jos ohutlevyn kuivausaika ei ole ylittänyt 30 minuuttia.

4.2.3.4 *Tulkinta*

Verrataan R_f-arvoja ja värejä standardeihin. Keskimääräiset R_f-arvot annetaan alla olevassa taulukossa summittaisiksi vertailuarvoiksi. Niiden arvo riippuu:

- ohutlevyn aktiivisuudesta kromatografia-ajon hetkellä,
- kromatografiasäiliön lämpötilasta.

Esimerkkejä R_f-arvoista, jotka on saatu piihappogeeleilevyllä

	Eluentit	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Merkaptoetikkahappo	0,25	0,80
2-merkaptopropionihappo	0,40	0,95
2,2'-ditiodietikkahappo	0,00	0,35
3-merkaptopropionihappo	0,45	0,95
3-merkaptopropaani-1,2-dioli 0,25	0,45	0,35

5. *MÄÄRITYS (ks. alaviite huomaa)*

Määritys on aina aloitettava jodometrisellä menetelmällä.

5.1 *Jodometria*5.1.1 *Periaate*

Määritys tapahtuu hapettamalla ”-SH” -ryhmä jodilla happamissa olosuhteissa seuraavan yhtälön mukaisesti:

5.1.2 *Reagenssit*

Jodi, 0,1 N mittaliuos.

Huomaa: Merkaptoetikkahapon määritys on suoritettava käyttämättömälle valmisteelle juuri aukastusta pullosta hapettumisen estämiseksi.

5.1.3 *Laitteisto*

Tavallinen laboriolaitteisto.

5.1.4 *Menettely*

Punnitaan tarkasti 0,5 ja 1 g välillä oleva määrä näytettä 150 ml:n lasitulpalliseen erlenmeyerpulloon, jossa on 50 ml tislattua vettä. Lisätään 5 ml suolahappoa (4.1.1.2) (liuoksen pH noin 0) ja titrataan jodiliuksella (5.1.2) kunnes keltainen väri tulee näkyviin. Käytetään indikaattoria (esimerkiksi tärkkelysluosta tai hiilitetra-kloridia) haluttaessa.

5.1.5 *Tulosten laskeminen*

Merkaptoetikkahappopitoisuus lasketaan seuraavan kaavan mukaan:

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{92 \times n \times 100}{1\,000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 \, n}{m}$$

jossa:

m = äytteen massa (grammoina),

n = ytetyn jodiliuoksen (5.1.2) tilavuus.

5.1.6 *Huomiot*

Jos tulos, joka on laskettu merkaptoetikkahappona on 0,1 % tai enemmän alle vahvistetun enimmäispitoisuuden, ei ole syytä suorittaa jatkomäärittäyksiä. Jos tulos on yhtäsuuri kuin sallittu enimmäispitoisuus tai sitä suurempi ja toteamisen yhteydessä on ilmennyt, että siinä on useita pelkistäviä aineita, on välttämätöntä suorittaa kaasukromatografinen määrittäminen.

5.2 **Kaasukromatografia**5.2.1 *Periaate*

Merkaptoetikkahappo erotetaan täyteaineesta saostamalla kadmiumdiasetaattiliuksella. Sen jälkeen kun se on metyloitu diatsometaanilla, joka on valmistettu joko kokeen yhteydessä tai etukäteen dietyylieetteriliuksessa, merkaptoetikkahapon metyyl johdannainen määritetään kaasu/neste kromatografisesti, metyylioktanoaatin ollessa sisäisenä standardina.

5.2.2 *Reagenssit*

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

5.2.2.1 Merkaptoetikkahappo, 98 %.

5.2.2.2 Suolahappo $d_{20}^{25} = 1,19$ g/ml.

5.2.2.3 Metanoli.

5.2.2.4 Kadmiumdiasetaattihydraatti, 10 % (m/v) vesiliuos.

5.2.2.5 Metyylioktanoaatti, 2 % (m/v) metanoliliuos.

5.2.2.6 Asetaattipuskuriliuos (pH 5):

Natriumasetaattitrihydraatti, 77 g.

Jäätikka, 27,5 g.

Ionivaihdettua vettä, niin että lopulliseksi tilavuudeksi tulee yksi litra.

5.2.2.7 Suolahappo, 3 N liuos metanolissa (5.2.2.3), juuri valmistettu.

5.2.2.8 1-metyyli-3-nitro-1-nitrosoguanidiini.

5.2.2.9 Natriumhydroksidi, 5 N liuos.

5.2.2.10 Jodi, 0,1 N mittaliuos.

5.2.2.11 Dietyylieetteri.

5.2.2.12 Diatsometaaniliuos valmistettuna *N*-metyyli-*N*-nitrosotolueneeni-4-sulfonamidista (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)

Näin saadussa liuksessa on noin 1,5 g diatsometaanina 100 ml:ssa dietyylieetteriä. Koska diatsometaanina on myrkyllinen ja hyvin pysymätön kaasu, kaikki kokeet on suoritettava tehokkaassa vetokaapissa ja hiotusta lasista valmistetun laitteiston käyttöä on vältettävä (tähän tarkoitukseen on erikoislaitteisto).

5.2.3. Laitteisto

5.2.3.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.

5.2.3.2 Diatsometaanin valmistukseen metyloinnin yhteydessä tarvittava laitteisto (katso Fales, H.M., Jaouni, T.M. ja Babashak, J.F., *Analyt. Chem.* 1973, 45, 2302).

5.2.3.3 Laitteisto diatsometaanin valmistamiseksi etukäteen (Fieser).

5.2.4 Näytteen esikäsittely

Punnitaan tarkasti 50 ml:n sentrifugiputkeen näytettä niin paljon, että saadaan arviolta 50—70 mg merkaptotietikkahappoa. Tehdään happamaksi muutamalla tipalla suolahappoa (5.2.2.2) niin, että saadaan pH-arvoksi noin 3.

Lisätään 5 ml tislattua vettä ja 10 ml asetaattipuskuriliuosta (5.2.2.6).

Tarkistetaan pH-paperilla, että pH-arvo on noin 5. Sitten lisätään 5 ml kadmiumdiasetaattiliuosta (5.2.2.4).

Odotetaan 10 minuuttia ja sitten sentrifugoidaan vähintään 15 minuuttia 4 000 g:ssa. Poistetaan pinnalle noussut neste, jossa saattaa olla liukenemattomia rasvoja (jos kyseessä on voide). Tätä rasvaa ei voi erehtyä luulemaan tioleiksi, jotka kerääntyvät tiiviiksi massaksi putken pohjalle. Tarkistetaan ettei saostumista tapahdu, kun muutama tippa kadmiumdiasetaattiliuosta (5.2.2.4) lisätään pinnalla olevaan nesteeseen.

Jos aikaisemmat toteamiskokeet ovat tuoneet esiin vain tioleja, muttei muita pelkistäviä aineita, tarkastetaan jodometrisesti, ettei supernatantissa olevan tiolin määrä ylitä 6—8 % alkuperäisestä määrästä.

Lisätään 10 ml metanolia (5.2.2.3) sentrifugiputkeen, jossa on sakka ja hajoitetaan sakka varovaisesti sekoitussauvalla. Sentrifugoidaan uudestaan vähintään 15 minuuttia 4 000 g:ssa. Kaadetaan pinnalla oleva neste pois ja tarkistetaan ettei tioleja ole jäljellä.

Sakka pestään toisen kerran samaa menetelmää käyttäen.

Käytä samaa sentrifugiputkea ja lisää:

- 2 ml metyylioktanoaattiliuosta (5.2.2.5),
- 5 ml suolahappoa metanolissa (5.2.2.7).

Liuota tiolit täydellisesti (vähän liukenemattonta ainetta saattaa olla jäljellä täyteaineesta). Tämä on "S"-liuos.

Tämän liuoksen osanäytteellä tarkistetaan jodometrisesti, että tiolipitoisuus on vähintään 90 % 5.1 kohdassa saadusta pitoisuudesta.

5.2.5 *Metylointi*

Metylointi suoritetaan joko valmistamalla diatsometaanina kokeen yhteydessä (5.2.5.1) tai aiemmin valmistetulla diatsometaaniliuksella (5.2.5.2).

5.2.5.1 Metylointi kokeen yhteydessä

Metylointilaitteistoon (5.2.3.2), jossa on 1 ml eetteriä (5.2.2.11) lisätään 50 μ l "S"-liuosta ja se metyloidään menetelmällä (5.2.3.2) noin 300 mg:lla 1-metyyli-3-nitro-1-nitrosoguanidiiniä (5.2.2.8). 15 minuutin

kuluttua (eetteriliuoksen pitäisi olla keltaista, jos diatsometaaniamia on ylimäärä) näyteliuos siirretään 2 ml:n pulloon, jossa on

ilmatiivis tulppa. Säilytetään yön yli jääkaapissa. Metyloidaan kaksi näytettä samanaikaisesti.

5.2.5.2 Metylointi aikaisemmin valmistetulla diatsometaaniliuoksella

5 ml:n lasitulppapulloon laitetaan 1 ml diatsometaaniliuosta (5.2.2.12) sitten 50 µl liuosta "S". Säilytetään yön yli jääkaapissa.

5.2.6 Standardin valmistaminen

Merkaptoetikkahaposta (5.2.2.1), jonka pitoisuus tunnetaan, valmistetaan mittaliuos, jossa on noin 60 mg puhdasta merkaptoetikkahappoa (5.2.2.1) 2 ml:ssa.

Tämä on "E"-liuos.

Saostetaan, analysoidaan ja metyloidaan 5.2.4 ja 5.2.5 kohdassa selostetulla tavalla.

5.2.7 Kaasukromatografiset ajo-olosuhteet

5.2.7.1 Kolonni

Materiaali: ruostumaton teräs.

Pituus: 2 m.

Halkaisija: 3 mm.

5.2.7.2 Pakkaus

20 % didekyyliftalaatti/chromosorb, WAW 80—100 mesh.

5.2.7.3 Detektori

Liekki-ionisaatiotektori. Sopiva herkkyysasetus liekki-ionisaatiotektorin elektrometrille on 8×10^{-10} A.

5.2.7.4 Kaasut

Kantajakaasu: typpi.

paine: 2,2 baaria.

virtaus: 35 ml/min.

Muut kaasut: Vety.

paine: 1,8 baaria,

virtaus: 15 ml/min.

Detektorin säädöt: detektorin valmistajan ilmoittamat.

5.2.7.5 Lämpötilaolosuhteet

Injektori: 200 °C,

Detektori: 200 °C,

Kolonni: 90 °C.

5.2.7.6 Piirturipaperin nopeus

5 mm/min.

5.2.7.7 Injektio-tilavuus

3 µl. Injektoi viisi kertaa.

5.2.7.8 Kromatografiset ajo-olosuhteet ovat ohjeelliset. Niiden mukaan on mahdollista päästä resoluutioon "R", joka on 1,5 tai parempi, jossa:

$$R = 2 \frac{d' (r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

merkittään:

r_1 ja r_2 = retentioajat (minuutteina),

W_1 ja W_2 = piikkien puolileveydet (millimetreinä),

d' = piirturin nopeus (millimetreinä minuutissa).

Suosittelaa, että kromatografia-ajo päätetään säätämällä lämpötila 90 °C:sta 150 °C:een nopeudella 10 °C minuutissa, niin että eliminoidaan aineet, jotka saattavat tulla mukaan seuraaviin mittauksiin.

5.2.8 Tulosten laskeminen

5.2.8.1 Merkaptoetikkahapon suhteellisuuskerroin

Tämä lasketaan suhteessa metyylioktanoaattiin standardiseoksen avulla.

Jos "t" on merkptoetikkahappo:

merkitään:

k_t = sen vastekerroin,
 m'_t = sen massa seoksessa (milligrammoina),
 S'_t = sen piikin pinta-ala

Jos "c" on metyylioktanoaatti:

merkitään:

m'_c = sen massa (milligrammoina) seoksessa
 S'_c = sen piikin pinta-ala,

silloin:

$$k_t = \frac{m'_t}{m'_c} \times \frac{S'_c}{S'_t}$$

Kerroin vaihtelee käytetyn laitteiston mukaan.

5.2.8.2 Merkptoetikkahapon pitoisuus kyseisessä näytteessä

Jos "t" on merkptoetikkahappo:

merkitään:

k_t = sen vastekerroin,
 S_t = sen piikin pinta-ala.

Jos "c" on metyylioktanoaatti:

merkitään:

m_c = sen massa (milligrammoina) seoksessa
 S_c = sen piikin pinta-ala,
 M = alkuperäisen näytteen massa (milligrammoina),

silloin näytteessä on merkptoetikkahappoa % (m/m):

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_t \times S_t}{S_c} \times 100$$

6. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Merkptoetikkahappopitoisuuden ollessa noin 8 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettun rinnakkaismäärityksen välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,8 % (m/m).

HEKSAKLOROFEEININ TOTEAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN

A. TOTEAMINEN

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu kaikille kosmeettisille valmisteille.

2. PERIAATE

Näytteen heksaklorofeeni uutetaan etyyliasetaatilla ja se todetaan ohutkerroskromatografialla.

3. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

3.1 Rikkihappo, 8 N liuos.

3.2 Celite AW.

3.3 Etyyliasetaatti

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 3.4 Eluointiaine: Bentseeni, jossa on 1 % (v/v) jäätikkaa.
- 3.5 Värjäysreagenssi I:
Rhodamine B -liuos: liuotetaan 100 mg Rhodamine B:tä seokseen, jossa on 150 ml dietyylieetteriä, 70 ml absoluuttista etanolia ja 16 ml vettä.
- 3.6 Värjäysreagenssi II:
2,6-dibromi-4-(kloroimiini)sykloheksa-2,5-dienoni -liuosta: liuotetaan 400 mg 2,6-dibromi-4-(kloroimiini)sykloheksa-2,5-dienonia 100 ml:an metanolia (valmistetaan päivittäin).
Natriumkarbonaattiliuos: liuotetaan 10 g natriumkarbonaattia 100 ml:an ionivaihdettua vettä.
- 3.7 Vertailuliuos:
Heksaklorofeeni, 0,05 % (m/v) liuos etyyliasetaatissa.
4. LAITTEET
- 4.1 Kiesel gel 254 TLC levyt, 200 x 200 mm (tai vastaavat).
- 4.2 Tavallinen ohutkerroskromatografiavarustus.
- 4.3 Haude, jonka lämpötila on säädetty 26 °C:een kromatografiasäiliötä varten.
5. NÄYTTEEN ESIKÄSITTELY
- 5.1 Sekoitetaan hyvin 1 g homogenisoitua näytettä ja 1 g Celite AW (3.2) ja 1 ml rikkihappoa (3.1).
- 5.2 Kuivataan 100 °C:ssa kaksi tuntia.
- 5.3 Jäähdytetään ja kuivunut jäännös jauhetaan hienoksi jauheeksi.
- 5.4 Uutetaan kaksi kertaa 10 ml:lla etyyliasetaattia (3.3), sentrifugoidaan kummankin uuttamisen jälkeen ja etyyliasetaattikerrokset yhdistetään.
- 5.5 Haihdutetaan 60 °C:ssa.
- 5.6 Liuotetaan jäännös 2 ml:aan etyyliasetaattia (3.3).
6. MENETTELY
- 6.1 Pipetoidaan 2 µl näyteliuosta (5.6) ja 2 µl vertailuliuosta (3.7) ohutlevylle (4.1).
- 6.2 Säiliö (4.3) kyllästetään eluointiliuksella (3.4).
- 6.3 Ohutlevy laitetaan säiliöön ja eluoidaan 150 mm:iin.
- 6.4 Ohutlevy poistetaan säiliöstä ja kuivataan ilmastoidussa uunissa noin 105 °C lämpötilassa.
- 6.5 Värjäys
Heksaklorofeenitäplät saadaan levyllä näkyviin 6.5.1 ja 6.5.2 kohdassa esitetyllä tavalla.

6.5.1 Ruiskutetaan värjäysreagenssia I (3.5) levyllä tasaisesti. 30 minuutin kuluttua levyä tarkastellaan UV-valossa 254 nm:ssä.

6.5.2 Ruiskutetaan 2,6-dibromi-4-(kloroimiini)sykloheksa-2,5-dienoni -liuosta, värjäysreagenssia II (3.6) levyllä tasaisesti. Sitten levyllä ruiskutetaan natriumkarbonaattiliuosta (3.6). Kun levy on kuivunut 10 minuuttia huoneenlämmössä, sitä tutkitaan päivänvalossa.

7. TULKINTA

7.1 Värjäysreagenssi I (3.5):

Heksaklorofeeni tulee näkyviin sinertävänä täplänä keltaisenoranssilla fluoresoivalla taustalla ja sen Rf-arvo on noin 0,5.

7.2 Värjäysreagenssi II (3.6):

Heksaklorofeeni tulee näkyviin taivaansinisestä turkoosiin värjäytyvänä täplänä valkoisella taustalla ja sen Rf-arvo on noin 0,5.

B. MÄÄRITYS

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu kaikille kosmeettisille valmisteille.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetty näytteen heksaklorofeenipitoisuus ilmoitetaan painoprosentteina heksaklorofeenia.

3. PERIAATE

Heksaklorofeeni määritetään metyylijohdannaiseksi muutettuna kaasukromatografisesti elektroninsiippausdetektorilla.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 Etyliasetaatti.

4.2 *N*-metyyli-*N*-nitroso-*p*-toluensulfonamidi (diazald).

4.3 Dietyylieetteri.

4.4 Metanoli.

4.5 2-(2-etoksietoksi)etanoli (karbitoli)

4.6 Muurahaishappo.

4.7 Kaliumhydroksidi, 50 % (m/m) vesiliuos (valmistetaan päivittäin).

- 4.8 Heksaani spektroskopialaatu.
- 4.9 Bromiklorofeeni (standardi nro 1).
- 4.10 4,4',6,6'-tetrakloori-2,2'-tiodifenoli (standardi N:o 2).
- 4.11 2,4,4'-trikloori-2-hydroksidifenyyleetteri (standardi N:o 3).
- 4.12 Asetoni.
- 4.13 8 N rikkihappo.
- 4.14 Celite AW.
- 4.15 Muurahaishappo etyyliasetaatissa, 10 % (v/v) liuos.
- 4.16 Heksaklorofeeni

5. LAITTEET

- 5.1 Tavallista laboratoriolasitavaraa.
- 5.2 Minilaitteisto diatsometaanin valmistukseen (Analyt Chem., 1973, 45, 2302-2).
- 5.3 Kaasukromatografinen systeemi, jossa on ^{63}Ni -lähde elektroninsieppausdetektori.

6. MENETTELY

6.1 Standardiliuoksen valmistaminen

Standardi valitaan siten, että se ei reagoi minkään analysoitavan valmisteen ainesosana olevan aineen kanssa. Yleensä standardi N:o I soveltuu parhaiten (4.9).

- 6.1.1 Punnitaan tarkasti noin 50 mg standardiainetta N:o 1, 2 tai 3 (4.9, 4.10 tai 4.11) ja 50 mg heksaklorofenia (4.16) 100 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin etyyliasetaatilla (4.1) (liuos A). Laimennetaan 10 ml liuosta A 100 ml:ksi etyyliasetaatilla (4.1) (liuos B).
- 6.1.2 Punnitaan tarkasti noin 50 mg standardiainetta 1, 2 tai 3 (4.9, 4.10 tai 4.11) 100 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin etyyliasetaatilla (4.1) (liuos C).

6.2 Näytteen esikäsittely⁽¹⁾

Punnitaan tarkasti 1 g homogenisoitua näytettä ja sekoitetaan perusteellisesti 1 ml:n rikkihappoa (4.13), 15 ml:n asetonia (4.12.) ja 8 g:an Celite AW (4.14). Seos ilmakuivataan 30 minuuttia vesihautessa ja kuivatetaan sitten puolitoista tuntia ilmastoidussa uunissa.

⁽¹⁾ Koska valmisteita, jotka voivat sisältää heksaklorofeenia on niin paljon, on tärkeää, että ensin tarkistetaan heksaklorofeenin saanto näytteestä tällä menetelmällä, ennenkuin tulokset kirjataan. Jos saannot ovat alhaiset, voidaan tehdä muutoksia, esim. muutetaan liuotinta (bentseeni etyyliasetaatin tilalle) jne. jos asiasta sovitaan muiden asianosaisten kanssa.

Jäähdytetään, jäännös jauhetaan hienoksi ja siirretään lasikolonneihin. Eluoidaan etyyliasetaatilla (4.1) ja kerätään 100 ml. Lisätään 2 ml sisäistä mittaliuosta (liuos C) (6.1.2).

6.3 Näytteen metylointi

Kaikkia reagensseja ja laitteistoa jäähdytetään 0—4 °C:ssa kahden tunnin ajan. Diatsometaanilaitteiston ulkosäiliöön laitetaan 1,2 ml 6.2 kohdassa valmistettua liuosta ja 0,1 ml metanolia (4.4). Keskimmaiseen säiliöön laitetaan noin 200 mg diazaldia (4.2) ja lisätään 1 ml karbitolia (4.5) sekä 1 ml dietyylieetteriä (4.3) ja liuotetaan. Laitteisto kootaan, se upotetaan puoliksi 0 °C hauteeseen ja noin 1 ml jäähdytettyä kaliumhydroksidiliuosta (4.7) tiputetaan keskimmaiseen säiliöön. Varmistetaan, että diatsometaanin muodostumisesta johtuva keltainen väri säilyy. Jos keltainen väri ei säily, metylointi toistetaan käyttäen jälleen 200 mg diazaldia (4.2)⁽¹⁾.

Laitteisto siirretään pois hauteesta noin 15 minuutin kuluttua ja se jätetään suljettuna huoneen lämpöön 12 tunniksi. Laitteisto avataan, ylimäärän diatsometaanian annetaan reagoida lisäämällä muutama tippa 10 %:sta (v/v) muuraishappoetyyliasetaattiliuosta (4.15) ja orgaaninen liuos siirretään 2,5 ml:n mittapulloon. Mittalasi täytetään merkkiin heksaanilla (4.8).

1,5 µl tätä liuosta injektoidaan kromatografiin.

6.4 Standardiaineen metylointi

Kaikkia reagensseja ja laitteistoa jäähdytetään 0—4 °C:ssa kahden tunnin ajan. Diatsometaanilaitteiston ulkosäiliöön laitetaan:

- 0,2 ml liuosta B (6.1.1),
- 1 ml etyyliasetaatia (4.1),
- 0,1 ml metanolia (4.4).

Metylointia jatketaan kohdassa 6.3 selostetulla tavalla. Näin saatua liuosta injektoidaan 1,5 µl kromatografiin.

7. KAASUKROMATOGRAFIA

Kolonnin resoluution "R" on oltava 1,5 tai parempi, jossa:

$$R = 2 \frac{d' (r_2 - r_1)}{W_1 + W_2}$$

jossa:

- r_1 ja r_2 = retentioajat (minuutteina),
- W_1 ja W_2 = piikkien puolileveydet (millimetreinä),
- d' = piirturin nopeus (millimetreinä minuutissa).

Seuraavat kromatografiset olosuhteet on havaittu sopiviksi:

Kolonne: ruostumaton teräs.

Pituus: 1,7 m.

Halkaisija: 3 mm.

Kantaja:

- chromosorb: WAW
- seula-analyysi: 80—100 mesh.

Stationäärifaasi: 10 % OV 17.

Lämpötilat:

- kolonne: 280 °C.
- injektori: 280 °C,
- detektori: 280 °C.

Kantajakaasu: hapeton typpi.

Paine: 2,3 baaria.

Virtaus: 30 ml/min.

⁽¹⁾ Keltaisen värin säilyminen osoittaa diatsometaanin ylimäärän, mikä on välttämätöntä näytteen täydellisen metyloinnin varmistamiseksi.

8. TULOSTEN LASKEMINEN

8.1 *Heksaklorofeenin suhteellisuuskerroin*

Tämä lasketaan valitun standardin avulla standardiseoksen suhteen.

Merkitään:

h = heksaklorofeeni,

k_h = sen suhteellisuuskerroin,

m'_h = sen massa (grammoina) seoksessa,

A'_h = sen piikin pinta-ala,

s = valittu standardi,

m'_s = sen massa (grammoina) seoksessa,

A'_s = sen piikin pinta-ala,

silloin:

$$k_h = \frac{m'_h \times A'_s}{m'_s \times A'_h}$$

8.2 *Heksaklorofeenin määrä näytteessä*

Merkitään:

h = heksaklorofeeni,

k_h = sen suhteellisuuskerroin,

A_h = sen piikin pinta-ala,

s = valittu standardi

m_s = sen massa (grammoina) seoksessa,

A_s = sen piikin pinta-ala,

M = otetun näytteen massa (grammoina),

silloin heksaklorofeenin pitoisuusprosentti % (m/m) näytteessä on:

$$\frac{m_s \times k_h \times A_h \times 100}{M \times A_s}$$

9. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Heksaklorofeenipitoisuuden ollessa noin 0,1 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettujen rinnakkaismäärittäytysten välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,005 % (m/m).

NATRIUMTOSYYLIKLORAMIDIN (INN) (KLORAMIINI-T) MÄÄRÄN MÄÄRITTÄMINEN

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu natriumtosyylikloramidin (kloramiini-T) määrän ohutkerroskromatografiseen määrittämiseen kosmeettisissa valmisteissa.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen kloramiini-T -pitoisuudet ilmoitetaan painoprosentteina (m/m).

3. PERIAATE

Kloramiini-T hydrolysoidaan täydellisesti 4-tolueenisulfonamidiksi keittämällä sitä suolahapon kanssa.

Muodostuneen 4-tolueenisulfonamidin määrä määritetään fotodensitometrisesti ohutkerroskromatografiaa käyttäen.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 Natriumtosyylikloramidi (kloramiini-T).

4.2 4-tolueenisulfonamidin mittaliuos: 50 mg 4-tolueenisulfonamidia 100 ml:ssa etanolia (4.5).

4.3 Suolahappo, 37 % (m/m), $d_4^{20} = 1,18$ g/ml.

4.4 Dietyylieetteri.

4.5 Etanoli, 96 % (v/v).

4.6 *Ajoliuos*

4.6.1 1-butanoli/etanoli (4.5)/vesi (40 : 4 : 9; v/v/v), tai

4.6.2 Kloroformi/asetoni (6 : 4;v/v).

4.7 Valmiit ohutkerroskromatografialevyt, piihappogeeli 60, ilman fluoresoivaa indikaattoria.

4.8 Kaliumpermanganaatti.

4.9 Suolahappo, 15 % (m/m).

4.10 Värjäysreagenssi: 2-toluidiini, 1 % (m/v) liuos etanolissa (4.5).

5. LAITTEET

5.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.

5.2 Tavallinen ohutkerroskromatografialaitteisto.

5.3 Fotodensitometri.

6. MENETTELY

6.1 *Hydrolyysi*

Punnitaan tarkasti 50 ml:n keittopulloon noin 1 g näytettä (m). Lisätään 5 ml vettä ja 5 ml suolahappoa (4.3) ja keitetään yksi tunti käyttäen palautusjäähdytintä. Kuuma liete siirretään välittömästi veden kanssa 50 ml:n mittapulloon. Annetaan jäähtyä ja täytetään vedellä merkkiin. Sentrifugoidaan vähintään 3 000 rpm viisi minuuttia ja supernatantti suodatetaan.

6.2 *Uuttaminen*

6.2.1 Otetaan 30 ml suodosta ja uutetaan se kolme kertaa 15 ml:lla dietyylieetteriä (4.4). Mikäli tarpeellista, eetterifaasit kuivataan ja kerätään 50 ml:n mittapulloon. Täytetään merkkiin dietyylieetterillä (4.4).

6.2.2 Otetaan 25 ml kuivattua eetteriuutetta ja haihdutetaan se kuiviin typpivirrassa. Liuotetaan jäännös uudestaan 1 ml:an etanolia (4.5).

6.3 *Ohutkerroskromatografia*

6.3.1 Pipetoidaan 20 μ l etanolipitoista jäännöstä (6.2) ohutlevylle (4.7).

Samanaikaisesti ja samalla tavalla lisätään 8, 12, 16 ja 20 μ l 4-tolueenisulfonamidin (4.2) mittaliuosta.

6.3.2 Anna ajoliuksen nousta noin 150 mm. (4.6.1 tai 4.6.2).

6.3.3 Kun ajoliuos on täysin haihtunut, levy siirretään kahdeksi tai kolmeksi minuutiksi kloorihöyryyn, mitä saadaan kaatamalla noin 100 ml suolahappoa (4.9) noin 2 g:an kaliumpermanganaattia (4.8) suljetussa astiassa. Ylimääräinen kloori poistetaan lämmittämällä levyä 100 °C:ssa viisi minuuttia. Sitten levy ruiskutetaan reagenssilla (4.10).

6.4 *Mittaus*

Noin tunnin kuluttua violetit täplät mitataan fotodensitometrillä 525 nm:ssä.

6.5 *Kalibrointikäyrien piirtäminen*

Piirretään piikkien huippujen maksimiarvot, jotka on saatu selville vertaamalla neljää 4-tolueenisulfonamiditäplää vastaaviin 4-tolueenisulfonamidimääriin (siis 4, 6, 8, 10 μ g 4-tolueenisulfoamidia täplässä).

7. HUOMAUTUS

Menetelmää voidaan kontrolloida käyttämällä 0,1 tai 0,2 % (m/v) kloramiini-T-liuosta (4.2), jota käsitellään samalla tavalla kuin näytettä (6).

8. TULOSTEN LASKEMINEN

Näytteen kloramiini-T-pitoisuus ilmaistaan painoprosenteina ja se lasketaan seuraavasti:

$$\% \text{ (m/m) kloramiini-T} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m}$$

jossa

$1,33$ = 4-tolueenisulfonamidi-kloramiini-T muuntokerroin,

a = 4-tolueenisulfonamidin määrä (μg :na) näytteessä siten kuin se on luettavissa kalibraatioikäyristä,

m = otetun näytteen massa (grammoina).

9. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Kloramiini-T-pitoisuuden ollessa noin 0,2 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettujen rinnakkaismäärittäysten välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,03 % (m/m).

KOKONAISFLUORIMÄÄRÄN MÄÄRITTÄMINEN HAMMASTAHNOISSA

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu hammastahnojen kokonaisfluorimäärän määrittämiseen. Se soveltuu sellaisten pitoisuuksien mittaukseen, jotka eivät ole enempää kuin 0,25 %.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetyt näytteen fluoripitoisuudet ilmoitetaan painoprosentteina.

3. PERIAATE

Määrittäminen suoritetaan kaasukromatografisesti. Fluoriyhdisteissä oleva fluori muutetaan trietyyli-fluorosilaaniksi (TEFS) suorassa reaktiossa klooritrietyylisilaanin (TECS) kanssa happamassa liuoksessa ja samanaikaisesti uutamalla se ksyleenillä, mikä sisältää sykloheksaania sisäisenä standardina.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

4.1 Natriumfluoridi, kuivattu 120 °C:ssa vakiopainoon.

4.2 Vesi, kaksi kertaa tislattu, tai vastaavaa laatua.

4.3 Suolahappo $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.

4.4 Sykloheksaani (CH).

4.5 Ksyleeniä, jossa ei kromatogrammissa ole muita piikkejä ennen liuottimen piikkiä, kun sille tehdään kromatografia samoissa olosuhteissa kuin näytteelle (6.1). Mikäli tarpeellista puhdistetaan tislaamalla (5.8).

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 4.6 Klooritrietyylisilaani (TECS Merck tai vastaava).
- 4.7. *Fluorimittaliuokset*
- 4.7.1 Perusliuos, 0,250 mg F/ml. Punnitaan tarkasti 138,1 mg natriumfluoridia (4.1) ja liuotetaan veteen (4.2). Liuos siirretään kvantitatiivisesti 250 ml:n mittapulloon (5.5). Laimennetaan vedellä (4.2) merkkiin ja sekoitetaan.
- 4.7.2 Laimennettu perusliuos, 0,050 mg F/ml. 20 ml perusliuosta (4.7.1) siirretään pipetillä 100 ml:n mittapulloon (5.5). Laimennetaan vedellä merkkiin ja sekoitetaan.
- 4.8. *Sisäinen mittaliuos*
- Sekoitetaan 1 ml sykloheksaania (4.4) ja 5 ml ksyleeniä (4.5).
- 4.9. *Klooritrietyylisilaani/sisäinen standardiliuos*
- Siirretään pipetillä (5.7) 0,6 ml TECS:ää (4.6) ja 0,12 ml sisäistä standardiliuosta (4.8) 10 ml:n mittapulloon. Laimennetaan ksyleenillä (4.5) merkkiin asti ja sekoitetaan. Valmistetaan uutta päivittäin.
- 4.10 Perkloorihappo, 70 % (m/v).
- 4.11 Perkloorihappo, 20 % (m/v) vesiliuos (4.2).
5. LAITTEET
- 5.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.
- 5.2 Kaasukromatografiasysteemi, jossa on liekki-ionisaatiodektektori.
- 5.3 Vortex-sekoitin tai vastaava.
- 5.4 BÜhler-ravistelijä, mallia SMB₁ tai vastaava.
- 5.5 Mittapulloja, 100 ml ja 250 ml, valmistettu polypropyleenista.
- 5.6 Sentrifuugiputkia (lasi); 20 ml, joissa teflonpäällysteiset kierretulpat, Sovirel malli 611-56 tai vastaava. Puhtaita putkia ja kierretulppia, jotka ovat olleet useita tunteja perkloorihapossa (4.11), jonka jälkeen ne on huuhdeltu viisi kertaa vedellä (4.2) ja lopuksi kuivattu 100 °C:ssa.
- 5.7 Säädetäviä pipettejä, joilla voidaan annostella 50–200 µl ja joissa on kertakäyttöiset muovikärjet.
- 5.8 Tislauslaitteisto, johon on kiinnitetty kolmipalloinen Schneiderkolonni tai vastaava Vigreuxkolonni.

6. MENETTELY

6.1 *Näyteanalyysi*

- 6.1.1 Otetaan avaamaton hammastahnaputkilo, leikataan putki auki ja poistetaan sen koko sisältö. Siirretään sisältö muoviasiaan, sekoitetaan perusteellisesti ja säilytetään olosuhteissa, joissa se ei pilaannu.
- 6.1.2 Punnitaan tarkasti 150 mg (m) näytettä sentrifuugiputkeen (5.6), lisätään 5 ml vettä (4.2) ja homogenisoidaan (5.3).
- 6.1.3 Lisätään 1 ml ksyleeniä (4.5).
- 6.1.4 Lisätään tipoitain 5 ml suolahappoa (4.3) ja homogenisoidaan (5.3).
- 6.1.5 Lisätään pipetillä 0,5 ml kloorietyylisilaani/sisäistä standardiliuosta (4.9) sentrifugiputkeen (5.6).
- 6.1.6 Putki suljetaan kierretulpalla (5.6) ja sekoitetaan perusteellisesti 45 minuuttia ravistimessa (5.4), mikä on säädetty 150 ravistukselle minuutissa.
- 6.1.7 Sentrifugoidaan 10 minuuttia nopeudella, joka saa aikaan selvän eron faaseissa. Putki aukaistaan. Orgaaninen kerros poistetaan ja 3 μ l orgaanista faasia injektoidaan kaasukromatografiakoloniin (5.2).

Huomautus:

Kestää noin 20 minuuttia ennen kuin kaikki ainesosat eluoiutuvat.

- 6.1.8 Injektointi toistetaan, lasketaan piikkien pinta-alojen keskiarvojen suhde (A_{TEFS}/A_{CH}) ja luetaan vastaava fluorimäärä (milligrammoina (m_1)) kalibraatiokäyrästä (6.3).
- 6.1.9 Lasketaan näytteen kokonaisfluoripitoisuus (fluoria painoprosentteina), kuten 7 kohdassa on esitetty.

6.2 *Kromatografian ajo-olosuhteet*

6.2.1 Kolonni: ruostumaton teräs.

Pituus: 1,8 m.

Halkaisija: 3 mm.

Kantaja-aine: Gaschrom Q 80–100 mesh.

Stationäärifaasi: 20 % silikoniöljy DC 200 tai vastaava. Annetaan kolonnin valmistua käyttökuntoon yli yön 100 °C:ssa (kantajakaasuvirta 25 ml tyypeä minuutissa) ja toistetaan joka yö. Joka neljännen tai viidennen injektoinnin jälkeen palautetaan kolonni käyttökuntoon kuumentamalla se 30 minuutiksi 100 °C:een.

Lämpötilat:

kolonni: 70 °C.

injektori: 150 °C,

detektori: 250 °C.

Kantajakaasuvirta: 35 ml tyypeä minuutissa.

6.3 *Standardikäyrä*

- 6.3.1 Pipetoidaan kuuden sentrifugiputken sarjaan (5.6), 0, 1, 2, 3, 4 ja 5 ml laimennettua fluorimittaliuosta (4.7.2). Putket täytetään 5 ml saakka vedellä (4.2).

- 6.3.2 Jatketaan 6.1.3–6.1.6 kohdassa selostetulla tavalla.
- 6.3.3 Injektoidaan 3 µl orgaanista faasia kaasukromatografiakoloniin (5.2).
- 6.3.4 Injektointi toistetaan ja lasketaan piikkien keskiarvojen suhde (A_{TEFS}/A_{CH}).
- 6.3.5 Piirretään standardikäyrä, käyttäen fluorin massaa (milligrammoina) mittaliuoksessa (6.3.1.) ja piikkien pinta-alojen suhdetta (A_{TEFS}/A_{CH}), joka on mitattu 6.3.4 kohdassa. Yhdistetään käyrän pisteet parhaiten sopivalla suoralla viivalla, mikä on laskettu regressioanalyysillä.

7. TULOSTEN LASKEMINEN

Näytteen kokonaisfluoripitoisuus (fluoria painoprosentteina) (%(m/m)F) saadaan kaavasta:

$$\% F = \frac{m_1}{m} \times 100 \%$$

jossa:

m = näyte (milligrammoina) (6.1.2),

m_1 = F:n määrä (milligrammoina luettuna standardikäyrästä (6.1.8).

8. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Fluori-pitoisuuden ollessa noin 0,15 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettun rinnakkaismäärityksen välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,012 % (m/m).

ORGAANISTEN ELOHOPEAYHDISTEIDEN TOTEAMINEN JA MÄÄRITTÄMINEN

TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu sellaisten orgaanisten elohopeayhdisteiden toteamiseen ja määrittämiseen, joita käytetään säilöntäaineina silmille tarkoitetuissa kosmeettisissa valmisteissa. Se soveltuu tiomersaalille (INN) (natrium 2-(etyylimerkurio)bentsoaatille) ja fenyylielohopealle ja sen suoloille.

A. TOTEAMINEN

1. PERIAATE

Orgaaniset elohopeayhdisteet kompleksoidaan 1,5-difenyyl-3-tiokarbatoonilla. Kun dititsonaatti on uutettu hiilitetrakloridilla, suoritetaan pihappogeeli-levykromatografia-analyysi. Dititsonaattitäplät tulevat näkyviin oranssin värisinä.

2. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

2.1 Rikkihappo, 25 % (v/v).

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 2.2 1,5-difenyli-3-tiokarbatsoni (dititsoni): 0,8 mg 100 ml:ssa hiilitetrakloridia (2.4).
- 2.3 Typpi.
- 2.4 Hiilitetrakloridi.
- 2.5 Ajoliuos: heksaani/asetoni, 90:10 (v/v).
- 2.6 Mittaliuos, 0,001 % vesiliuos, jossa:
natrium 2-(etyylimerkuridio)bentsoaatti,
etyylielohopeakloridi tai metyylielohopeakloridi,
fenyylielohopeanitraatti tai fenyylielohopea-asettaatti,
elohopeadikloridi tai elohopeadiasettaatti.
- 2.7 Valmiita pihhappogeelilevyjä (kuten Merck 5721 tai vastaava).
- 2.8 Natriumkloridi.
3. LAITTEET
- 3.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.
- 3.2 Tavallinen ohutkerroskromatografiavaruus.
- 3.3 Faaseja erottava suodatin.
4. MENETTELY
- 4.1. *Uuttaminen*
- 4.1.1 Laimennetaan 1 g näytettä sentrifugiputkessa 20 ml:lla tislattua vettä. Sekoitetaan mahdollisimman hyvin ja lämmitetään 60 °C:een lämpimässä vesihauteessa. Lisätään 4 g natriumkloridia (2.8). Ravistetaan. Annetaan jäähtyä.
- 4.1.2 Sentrifugoidaan vähintään 20 minuuttia nopeudella 4 500 rpm niin, että suurin osa kiinteästä aineesta erottuu. Suodatetaan erotussuppiloon ja lisätään 0,25 ml rikkihappoliuosta (2.1).
- 4.1.3 Uutetaan useita kertoja 2 tai 3 ml:lla dititsoniliuosta (2.2) kunnes viimeinen orgaaninen faasi jää vihreäksi.
- 4.1.4 Suodatetaan jokainen orgaaninen faasi peräkkäin faasien erotussuppilossa (3.3).
- 4.1.5 Haihdutetaan kuivaksi typpivirrassa (2.3).
- 4.1.6 Liuotetaan 0,5 ml:lla hiilitetrakloridia (2.4). Käytetään tätä liuosta välittömästi 4.2.1 kohdassa esitetyllä tavalla.

4.2. *Erottaminen ja toteaminen*

- 4.2.1 Piihappogeelilevyille (2.7) pannaan välittömästi 50 µl hiilitetrakloridiliuosta, joka on saatu 4.1.6 kohdassa. Käsitellään samanaikaisesti 10 ml mittaliuosta (2.6) kuten 4.1 kohdassa ja pannaan 50 µl 4.1.6 kohdassa saatua liuosta samalle levyille.
- 4.2.2 Levy pannaan liuottimeen (2.5) ja liuottimen annetaan nousta 150 mm. Orgaaniset elohopeayhdisteet tulevat näkyviin värikkäinä täplinä, joiden väri säilyy, jos levy peitetään lasilevyllä välittömästi liuottimen haihduttua.

Saadaan esimerkiksi seuraavat Rf-arvot:

	Rf	Väri
Tiomersaali	0,33	Oranssi
Etyylielohopeakloridi	0,29	Oranssi
Metyylielohopeakloridi	0,29	Oranssi
Fenyylielohopeasuolat	0,21	Oranssi
Elohopea(II) suolat	0,10	Oranssi
Elohopeadiasetaatti	0,10	Oranssi
1,5-difenyyl-3-tiokarbatsoni 0,33	0,09	Vaaleanpunainen

B. **MÄÄRITTÄMINEN**1. **MÄÄRITELMÄ**

Tällä menetelmällä määritetyt orgaanisten elohopeayhdisteiden pitoisuudet ilmoitetaan painoprosentteina (m/m) elohopeaa näytteessä.

2. **PERIAATE**

Menetelmässä lasketaan näytteessä olevan elohopean kokonaismäärä. Siksi on välttämätöntä varmistaa ensin, ettei siinä ole elohopeaa epäorgaanisessa muodossa ja on tunnistettava näytteessä olevat orgaaniset elohopeajohdannaiset. Mineralisoinnin jälkeen vapautunut elohopea mitataan liekittömän atomiabsorption avulla.

3. **REAGENSIT**

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

- 3.1 Väkevä typpihappo $d_{20}^{20} = 1,41$ g/ml.
- 3.2 Väkevä rikkihappo $d_{20}^{20} = 1,84$ g/ml.
- 3.3 Uudelleen tislattua vettä.
- 3.4 Kaliumpermanganaatti, 7 % (m/v) liuos.
- 3.5 Hydroksyyliammoniumkloridi, 1,5 % (m/v) liuos.
- 3.6 Dikaliumperoksidisulfaatti, 5 % (m/v) liuos.

3.7 Tinadikloridi, 10 % (m/v) liuos.

3.8 Väkevä suolahappo $d_4^{20} = 1,18$ g/ml.

3.9 Palladiumdikloridissa kyllästetty lasivilla, 1 % (m/m).

4. LAITTEET

4.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.

4.2 Liekitön atomiabsorptiolaitteisto elohopean määrittämiseksi (kylmähöyrytekniikka), ja siihen kuuluva lasitavara. Vähintään 100 mm:n kyveti.

5. MENETTELY

Elohopea-analyysiä tehtäessä on noudettava normaaleja turvallisuusmääräyksiä.

5.1. *Hajoitus*

5.1.1 Punnitaan tarkasti 150 mg näytettä (m). Lisätään 10 ml typpihappoa (3.1) ja jätetään seisomaan kolmeksi tunniksi ilmatiiviiseen pulloon vesihauteeseen 55 °C:een. Ravistetaan säännöllisin väliajoin. Samanaikaisesti suoritetaan sokeakoe testireagensseilla.

5.1.2 Jäähdytetään ja lisätään 10 ml rikkihappoa (3.2) ja laitetaan uudestaan vesihauteeseen 55 °C:een 30 minuutiksi.

5.1.3 Pullo laitetaan jäähauteeseen ja lisätään varovasti 20 ml vettä (3.3).

5.1.4 Lisätään 2 ml:n erissä 7 % kaliumpermanganaattiliuosta (3.4) kunnes liuos jää värilliseksi. Pullo laitetaan vesihauteeseen 55 °C:een vielä 15 minuutiksi.

5.1.5 Lisätään 4 ml dikaliumperoksodisulfaattiliuosta (3.6). Jatketaan lämmittämistä 55 °C:ssa vesihauteessa 30 minuuttia.

5.1.6 Annetaan jäähtyä ja pullon sisältö siirretään 100 ml:n mittapulloon. Pullo huuhdellaan 5 ml:lla hydroksyliammoniumkloridia (3.5) ja sitten se huuhdellaan neljä kertaa 10 ml:lla vettä (3.3). Liuoksen on oltava täysin väritöntä. Täytetään vedellä (3.3) merkkiin.

5.2. *Määrittäminen*

5.2.1 Laitetaan 10 ml testiliuosta (5.1.6) lasiastiaan kylmähöyryelohopeamäärittystä varten (4.2). Laimennetaan 100 ml:lla vettä (3.3) ja sitten 5 ml:lla rikkihappoa (3.2) ja 5 ml:lla tinadikloridiliuosta (3.7). Sekoitetaan jokaisen lisäyksen jälkeen. Odotetaan 30 sekuntia niin, että kaikki elohopeaionit pelkistyvät metalliksi ja tulos (n) luetaan.

5.2.2 Laitetaan vähän palladiumdikloridissa kyllästettyä lasivillaa (3.9) elohopean pelkistysaltaan ja laitteiston virtauskennon (4.2) väliin. Toistetaan 5.2.1 ja luetaan tulos. Jos tulos ei ole nolla, mineralisaatio on ollut epätäydellinen ja analyysi on toistettava.

6. TULOSTEN LASKEMINEN

Merkitään:

m = näytteen massa (milligrammoina).

n = laitteesta luettu elohopean määrä (μg).

Elohopean määrä ilmaistuna painoprosenteina elohopeaa lasketaan seuraavasta kaavasta:

$$\% \text{ elohopeaa} = \frac{n}{m}$$

7. HUOMAUTUS

7.1 Mineralisaation parantamiseksi voi olla välttämätöntä ensin laimentaa näyte.

7.2 Jos voidaan epäillä, että substraatti absorboi elohopean, on tehtävä kvantitatiivinen määrittäminen standardilisäysmenetelmällä.

8. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Elohopeapitoisuuden ollessa noin 0,007 % kahden samasta näytteestä suoritettujen rinnakkaismäärittäysten välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,00035 %.

ALKALI- JA MAA-ALKALISULFIDIEN MÄÄRITTÄMINEN

1. TARKOITUS JA SOVELTAMISALA

Tämä menetelmä soveltuu kosmeettisissa valmisteissa olevien sulfidien määrittämiseen. Tiolit tai muut pelkistimet (mukaan lukien sulfiitti) eivät vaikuta tulokseen.

2. MÄÄRITELMÄ

Tällä menetelmällä määritetty sulfidipitoisuus ilmoitetaan painoprosenteina rikkiä.

3. PERIAATE

Näyte tehdään happamaksi. Rikkivety kulkeutuu typpivirran mukana ja sitten se sitoutuu kadmiumsulfidiksi. Tämä suodatetaan ja huuhdotaan ja määritetään jodometrisesti.

4. REAGENSIT

Kaikkien reagenssien on oltava analyysilaatua.

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.

- 4.1 Väkevä suolahappo $d_{20}^{20} = 1,19$ g/ml.
- 4.2 Natriumtiosulfaatti, 0,1 M mittaliuos.
- 4.3 Jodi, 0,05 M mittaliuos.
- 4.4 Dinatriumsulfidi.
- 4.5 Kadmiumdiasetaatti.
- 4.6 Väkevä ammoniakki $d_{20}^{20} = 0,90$ g/ml.
- 4.7 Kadmiumdiasetaatin ammoniakkiliuos: liuotetaan 10 g kadmiumdiasetaattia (4.5) noin 50 ml:an vettä. Lisätään ammoniakkia (4.6) niin, että sakka liukenee uudestaan (noin 20 ml). Lisätään vettä 100 ml:n merkkiin saakka.
- 4.8 Typpi.
- 4.9 Ammoniakkiliuos M.

5. LAITTEET

- 5.1 Tavallinen laboratoriolaitteisto.
- 5.2 100 ml:n lasihioksellinen kolmikaulapullo.
- 5.3 Kaksi 150 ml:n erlenmeyerpulloa, joissa on hioslasikaula ja joissa on nousuputki ja sivulla poistoputki vapautuvan kaasun poistoon.
- 5.4 Yksi tiputussuppilo.

6. MENETTELY

6.1 *Sulfidien poisto*

- 6.1.1 Otetaan avaamaton näytepakkaus. Keittopulloon (5.2) punnitaan tarkasti tietty määrä valmistetta (m) (grammoina), joka vastaa korkeintaan 30 g sulfidi-ioneja. Lisätään 60 ml vettä ja kaksi tippaa vaahdonestonestettä.
- 6.1.2 Siirretään 50 ml liuosta (4.7) kumpaankin erlenmeyerpulloon (5.3).
- 6.1.3 Tiputussuppilo, nousuputki ja poistoputki kiinnitetään keittopulloon (5.2). Poistoputki liitetään erlenmeyerpuloihin (5.3), jotka on asennettu sarjaan PVC-putkilla.

Huomaa: Poistolaitteiston on läpäistävä seuraava tiiviyskoe: Simuloidaan testitilanne. Korvataan määritettävä valmiste 10 ml:lla sulfidiliuosta (valmistettu kohdan 4.4. mukaan), joka sisältää "X mg" sulfidia (jodometrisesti määritetty). Olkoon "Y" tämän toimenpiteen lopussa todettu sulfidimäärä milligrammoina. "X" ja "Y" määrien välinen ero ei saa olla suurempi kuin 3 %.

- 6.1.4 Typpeä (4.8) lasketaan läpi 15 minuutin ajan nopeudella kaksi kuplaa sekunnissa, niin että keittopullossa (5.2) oleva ilma tulee pois.
- 6.1.5 Keittopullo lämmitetään 85 ± 5 °C:een.
- 6.1.6 Typpivirtaus (4.8) lopetetaan ja lisätään tipoitain 40 ml suolahappoa (4.1).
- 6.1.7 Typpivirtaus (4.8) aloitetaan uudestaan, kun lähes kaikki happo on siirretty. Jätetään vähäinen nestelukko estämään suolahappovuoto.
- 6.1.8 Kuumennus lopetetaan 30 minuutin kuluttua. Pullon (5.2) annetaan jäähtyä ja jatketaan typen (4.8) läpivirtausta vähintään puolitoista tuntia.
- 6.2 *Titraus*
- 6.2.1 Kadmiumsulfidi suodatetaan tiputussuppilon (5.4) läpi.
- 6.2.2 Erlenmeyerpullot (5.3) huuhdotaan ensin ammoniakkiliuoksella (4.9) ja liuos kaadetaan suodattimeen. Huuhdotaan tislattulla vedellä ja vesi käytetään suodattimeen jääneen sakan pesuun.
- 6.2.3 Sakan pesu viimeistellään 100 ml:lla vettä.
- 6.2.4 Suodatinpaperi laitetaan ensimmäiseen erlenmeyerpulloon, jossa oli sakka. Lisätään 25 ml (n_1) jodiliuosta (4.3), noin 20 ml suolahappoa (4.1) ja 50 ml tislattua vettä.
- 6.2.5 Määritetään jodiylimäärä käyttämällä natriumtiosulfaattiliuosta (n_2) (4.2).

7. TULOSTEN LASKEMINEN

Näytteen sulfidipitoisuus painoprosentteina rikkiä lasketaan seuraavasta kaavasta:

$$\% \text{ rikki} = \frac{32 (n_1 x_1 - n_2 x_2)}{20 m}$$

jossa:

- n_1 = käytetyn jodimittaliuoksen (4.3) määrä (millilitroina),
 x_1 = liuoksen molaarisuus,
 n_2 = natriumtiosulfaatti (4.2) mittaliuoksen määrä millilitroina
 x_2 = liuoksen molaarisuus,
 m = näytteen massa (milligrammoina).

8. TOISTETTAVUUS⁽¹⁾

Sulfidi-pitoisuuden ollessa noin 2 % (m/m) kahden samasta näytteestä suoritettujen rinnakkaismäärittelyjen välinen ero ei saa ylittää absoluuttista arvoa 0,2 % (m/m).

⁽¹⁾ Standardin ISO 5725 mukaisesti.