

Ez a dokumentum kizárólag tájékoztató jellegű, az intézmények semmiféle felelősséget nem vállalnak a tartalmáért

► **B**

**A BIZOTTSÁG MÁSODIK IRÁNYELVE**

(1982. május 14.)

**a kozmetikai termékek összetételének ellenőrzéséhez szükséges vizsgálati módszerekre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről**

(82/434/EGK)

(HL L 185 , 30.6.1982, o. 1)

Módosította:

► **M1** A Bizottság irányelve (1990. április 4.)

Hivatalos Lap		
Szám	Oldal	Dátum
L 108	92	28.4.1990



## A BIZOTTSÁG MÁSODIK IRÁNYELVE

(1982. május 14.)

**a kozmetikai termékek összetételének ellenőrzéséhez szükséges vizsgálati módszerekre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről**

(82/434/EGK)

AZ EURÓPAI KÖZÖSSÉGEK BIZOTTSÁGA,

tekintettel az Európai Gazdasági Közösséget létrehozó szerződésre,

tekintettel a 79/661/EGK irányelvvel <sup>(1)</sup> módosított, a kozmetikai termékekre vonatkozó tagállami jogszabályok közelítéséről szóló, 1976. július 27-i 76/768/EGK tanácsi irányelvre <sup>(2)</sup> és különösen annak 8. cikke (1) bekezdésére,

mivel a 76/768/EGK irányelv rendelkezik a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálatáról azzal a céllal, hogy biztosítsa a kozmetikai termékek összetételére vonatkozó közösségi rendelkezések által előírt feltételek teljesülését;

mivel minden szükséges vizsgálati módszert a lehető leggyorsabban meg kell határozni; mivel e cél elérése érdekében az első lépés már megvalósult, bizonyos módszereknek a 80/1335/EGK <sup>(3)</sup> bizottsági irányelvben történt meghatározásával, a második lépés néhány oxidálószer azonosításának és a hidrogén-peroxid kozmetikai hajápolási termékekben történő mennyiségi meghatározásának, bizonyos oxidáló színezékek hajfestékekben történő azonosításának és félkvantitatív meghatározásának, a nitrit azonosításának és mennyiségi meghatározásának, a szabad formaldehid azonosításának és mennyiségi meghatározásának, a rezorcin samponokban és hajszeszekben történő mennyiségi meghatározásának és a metanol etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatott mennyiségi meghatározásának a módszer-meghatározások közé történő felvételéből áll;

mivel az ezen irányelv által megállapított rendelkezések összhangban vannak a 76/768/EGK irányelvnek a műszaki fejlődéshez való hozzájárulásával foglalkozó bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT AZ IRÁNYELVET:

### 1. cikk

A tagállamok megtesznek minden szükséges intézkedést, hogy a kozmetikai termékek hivatalos vizsgálata során:

- az oxidálószer azonosítása és a hidrogén-peroxid hajápolási termékekben történő mennyiségi meghatározása,
- bizonyos oxidáló színezékek hajfestékekben történő azonosítása és félkvantitatív meghatározása,
- nitrit azonosítása és mennyiségi meghatározása,
- a szabad formaldehid azonosítása és mennyiségi meghatározása,
- a rezorcin samponokban és hajszeszekben történő mennyiségi meghatározása,
- a metanol mennyiségi meghatározása etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatva

a mellékletben leírt módszereknek megfelelően történjék.

### 2. cikk

A tagállamok hatályba léptetik azokat a törvényi, rendeleti és közigazgatási rendelkezéseket, amelyek szükségesek ahhoz, hogy ennek az irányelvnek legkésőbb 1983. december 31-ig megfeleljenek.

Erről haladéktalanul tájékoztatják a Bizottságot.

<sup>(1)</sup> HL L 192., 1979.7.31., 35. o.

<sup>(2)</sup> HL L 262., 1976.9.27., 169. o.

<sup>(3)</sup> HL L 383., 1980.12.31., 27. o.

▼**B**

*3. cikk*

Ennek az irányelvnek a tagállamok a címzettjei.



## MELLÉKLET

**I. OXIDÁLÓSZEREK AZONOSÍTÁSA ÉS HIDROGÉN-PEROXID MEGHATÁROZÁSA HAJÁPOLÁSI TERMÉKEKBEN**

## CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

A hidrogén-peroxid jodometriás meghatározása kozmetikumokban csak abban az esetben végezhető el, ha azok nem tartalmaznak a jodidokat jóddá redukáló más oxidálószereket. A hidrogén-peroxid jodometriás mennyiségi meghatározását ezért meg kell előznie a mintában előforduló egyéb oxidálószer kimutatásának és azonosításának. Az azonosítás két szakaszból áll: az első a perszulfátokra, a bromátokra és a hidrogén-peroxidra, a második pedig a bárium-peroxidra vonatkozik.

**A. PERSZULFÁTOK, BROMÁTOK ÉS HIDROGÉN-PEROXID AZONOSÍTÁSA**

## 1. ALAPELV

A nátrium-perszulfátot, kálium-perszulfátot és ammónium-perszulfátot, valamint a kálium-bromátot, nátrium-bromátot és a hidrogén-peroxidot – függetlenül attól, hogy utóbbi bárium-peroxidból származik vagy sem – leszálló papírkromatográfiával azonosítjuk, amelynek során két előhívó oldószert használunk.

## 2. REAGENSEK

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

## 2.1. A következő vegyületek 0,5 %-os (m/V) vizes referenciaoldata:

## 2.1.1. Nátrium-perszulfát

## 2.1.2. Kálium-perszulfát

## 2.1.3. Ammónium-perszulfát

## 2.1.4. Kálium-bromát

## 2.1.5. Nátrium-bromát

## 2.1.6. Hidrogén-peroxid

## 2.2. Előhívó oldószers A, 80 %-os (v/v) etanol

## 2.3. Előhívó oldószers B, benzol – metanol – 3-metil-bután-1-ol – víz (34:38:18:10 térfogatarányban)

## 2.4. Detektor A, kálium-jodid 10 %-os (m/V) vizes oldata

## 2.5. Detektor B, keményítő 1 %-os (m/V) vizes oldata

## 2.6. Detektor C, 10 %-os sósav (m/m)

## 2.7. 4N sósav

## 3. ESZKÖZÖK

## 3.1. Kromatográfiás papír (Whatman-papír 3. és 4., vagy ezekkel egyenértékű)

## 3.2. 1 µl-es mikropipetta

## 3.3. 100 ml-es mérőlombik

## 3.4. Redős szűrő

## 3.5. Leszálló papírkromatográfia eszközei

## 4. MINTAELŐKÉSZÍTÉS

4.1. **Vízben oldódó termékek**

Minden mintából két oldatot készítsünk 1, illetve 5 g termék 100 ml vízben történő feloldásával. Az 5. szakaszban leírt papír-kromatográfia végrehajtásához az oldatok mindegyikéből 1 µl-t használjunk.

## ▼B

4.2. **Vízben korlátozottan oldódó termékek**

- 4.2.1. MÉRJÜNK BE külön-külön 1 g és 5 g terméket, szuszpendáljuk 50 ml vízben, egészítsük ki 100 ml-re vízzel mindkettőt, és keverjük össze a mintákat. Szűrjük le a szuszpenziókat redős szűrőn (3.4.), és az 5. szakaszban leírt papír-kromatográfia végrehajtásához a szűrletek mindegyikéből 1 µl-t használjunk.
- 4.2.2. Szuszpendáljuk újra az 1 g és 5 g terméket 50 ml vízben, savanyítsuk meg híg sósavval (2.7.), egészítsük ki vízzel 100 ml-re, és keverjük össze. Szűrjük le a szuszpenziókat redős szűrőn (3.4.), és az 5. pontban leírt papír-kromatográfia végrehajtásához a szűrletek mindegyikéből 1 µl-t használjunk.

4.3. **Krémek**

Szuszpendáljuk termékenként 5 g-ot és 20 g-ot 100 ml vízben, és ezeket a szuszpenziókat használjuk az 5. szakaszban leírt papír-kromatográfia végrehajtásához.

5. **ELJÁRÁS**

- 5.1. A leszálló papírkromatográfia végrehajtásához tegyünk megfelelő mennyiségű A (2.2.) és B (2.3.) oldószert egy-egy kromatográfiai kádba. Legalább 24 órán át telítsük a kromatográfiai kádat oldószergőzőkkel.
- 5.2. Vigyünk fel 1-1 µl-t a 4. és 2.1. pontnak megfelelően előkészített minta- és referenciaoldatokból egy 40 cm hosszúságú és 20 cm szélességű vagy más megfelelő méretű kromatográfiai papírcsík (3.1.) (Whatman-3 vagy ezzel egyenértékű) kiindulási pontjaira, majd párologtassuk el az oldószert levegőn.
- 5.3. Helyezzük a kromatográfiai (5.2.) papírcsíkot az A előhívó oldószert (5.1.) tartalmazó kromatográfiai kádba, és addig fejlesszük, amíg az oldószerszél az alapvonalától 35 cm-re távolodik (körülbelül 15 óra).
- 5.4. Ismételjük az 5.2. és 5.3. pontban leírt eljárást (Whatman-4 vagy ezzel egyenértékű) kromatográfiai papírral (3.1.) a B előhívó oldószertben. Kromatografáljuk, amíg az oldószerszél 35 cm-re távolodik az alapvonalától (körülbelül 5 óra).
- 5.5. A előhívás után vegyük ki a kádból a kromatográf-papírcsíkokat, és szárítsuk meg levegőn.
- 5.6. A foltok előhívásához fűjük le a kromatogramot sorrendben:
- 5.6.1. az A detektorral (2.4.), majd rövid idő múlva a B (2.5.) detektorral. Először a perszulfátok foltjai jelennek meg a kromatogramon, amelyeket a hidrogén-peroxid-foltok követnek. Jelöljük meg a foltok helyét ceruzával;
- 5.6.2. az 5.6.1. pont szerint kapott kromatogramokat a C detektorral (2.6.); a bromátok szürkés-kék folttal jelennek meg a kromatogramon.
- 5.7. Az A (2.2.) és B (2.3.) előhívó oldószerekre vonatkozó, fent említett körülmények között az referenciaanyagok (2.1.) Rf-értékei hozzávetőlegesen a következők:

*előhívó oldószert A (2.2.)    előhívó oldószert B (2.3.)*

Nátrium-perszulfát	0,40	0,10
Kálium-perszulfát	0,40	0,02 + 0,05
Ammónium-perszulfát	0,50	0,10 + 0,20
Nátrium-bromát	0,40	0,20
Kálium-bromát	0,40	0,10 + 0,20
Hidrogén-peroxid	0,80	0,80

B. **BÁRIUM-PEROXID AZONOSÍTÁSA**1. **ALAPELV**

A bárium-peroxidot az (A.4.2.) minta savanyítása után keletkező hidrogén-peroxid segítségével és a báriumion jelenlétének kimutatásával azonosítjuk:

## ▼B

- ha (A) perszulfátok nincsenek jelen, híg kénsavnak a savas mintaoldat (B.4.1.) egy részéhez történő hozzáadása esetén, aminek eredményeként fehér bárium-szulfát-csapadék képződik. A báriumion jelenlétét a (B.4.1.) mintában, ebben az esetben is papírkromatográfiával igazoljuk az alábbi, 5. pontban leírt módon,
- ha a mintában egyidejűleg található bárium-peroxid és (B.4.2.) perszulfátok, a (B.4.2.) oldhatatlan maradék lúgos feltárással és sósavban történő oldás után a bárium-ionok jelenlétét a (B.4.2.3.) oldadék oldatában papír kromatográfiával és/vagy a bárium-szulfát lecsapásával igazoljuk.

## 2. REAGENSEK

- 2.1. Metanol
- 2.2. 36 %-os (m/m) tömény sósav
- 2.3. 6N sósav
- 2.4. 4N kénsav
- 2.5. Rodizonsav-dinátrium só
- 2.6. Bárium-klorid ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )
- 2.7. Vízmentes nátrium-karbonát
- 2.8. Bárium-klorid 1 %-os (m/V) vizes oldata
- 2.9. Előhívó oldószer, amely metanolt, tömény sósavat (koncentráció 36 %) és vizet tartalmaz (80:10:10 térfogatarányban)
- 2.10. Detektor, rodizonsav dinátriumsójának 0,1 %-os (m/V) vizes oldata, amelyet felhasználás előtt frissen kell készíteni.

## 3. ESZKÖZÖK

- 3.1. 5 µl-es mikropipetta
- 3.2. Platinatégely
- 3.3. 100 ml-es mérőlombik
- 3.4. Schleicher és Schull 2043 b vagy ezzel egyenértékű kromatográfiás papír. Helyezzük a papírt egy éjszakán keresztül a (B.2.9.) előhívó oldószert tartalmazó (A.3.5.) leszálló kromatográfiás kádba, majd szárítsuk meg.
- 3.5. Redős szűrő
- 3.6. Felszálló papírkromatográfia szokásos eszközei

## 4. MINTA-ELŐKÉSZÍTÉS

## 4.1. Perszulfátokat nem tartalmazó termékek

- 4.1.1. Szuszpendáljunk 2 g terméket 50 ml vízben, és sósavval (B.2.3.) állítsuk be a pH-ját 1 körüli értékre.
- 4.1.2. Mossuk át a szuszpenziót vízzel egy 100 ml-es mérőlombikba, töltsük fel a jelig, és keverjük össze. Ezt a szuszpenziót használjuk az 5. pontban leírt papírkromatográfiás vizsgálat és a bárium-szulfát-csapadék kicsapásán alapuló azonosítás során.

## 4.2. Perszulfátokat tartalmazó termékek

- 4.2.1. Szuszpendáljunk 2 g terméket 100 ml vízben, és szűrjük le.
- 4.2.2. Adjunk a szárított maradékhoz tömege hét-tízszeresének megfelelő mennyiségű nátrium-karbonátot (B.2.7.), keverjük össze, és olvasszuk a keveréket egy platinatégelyben (B.3.2.) fél órán keresztül.
- 4.2.3. Hűtsük le az oldadékot szoba-hőmérsékletűre, oldjuk fel 50 ml vízben, és szűrjük le (B.3.5.).
- 4.2.4. Oldjuk fel az oldadékból származó maradékot sósavban (B.2.3.), töltsük föl 100 ml-re vízzel. Ezt a szuszpenziót használjuk az 5. pontban leírt papírkromatográfiás vizsgálat és a bárium-szulfát-csapadék lecsapásán alapuló azonosítás során.

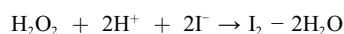
**▼B**

5. ELJÁRÁS
- 5.1. Tegyük megfelelő mennyiségű előhívó oldószert (B.2.9.) egy felszálló papírkromatográfiás kádba, és telítsük a kádat legalább 15 órán keresztül.
- 5.2. A B.3.4. pontban leírt módon előkészített kromatográfiás papírra három kiindulási pontban vigyünk fel 5-5 µl-t a B.4.1.2. és a B.4.2.4. pontnak megfelelően előkészített oldatokból és a B.2.8. pont szerinti referencia-oldatból.
- 5.3. Szárítsuk meg a minta- és referenciafoltokat levegőn. A kromatogram előhívását addig folytassuk, amíg az oldószerfront a függőleges irányban 30 cm magasságig emelkedik.
- 5.4. Vegyük ki a kromatogramokat a kádból, és szárítsuk meg levegőn.
- 5.5. A foltok előhívása céljából fűjjük le a papírt a B.2.10. előhívó szerrel. Bárium jelenlétében, körülbelül 0,10 Rf-értéknél a kromatogramon piros foltok jelennek meg.

## C. HIDROGÉN-PEROXID MEGHATÁROZÁSA

## 1. ALAPELV

A hidrogén-peroxid jodometriás meghatározása a következő reakción alapszik:



Az átalakulás lassú folyamat, de ammónium-molibdát hozzáadásával gyorsítható. A képződő jód nátrium-tioszulfáttal titrálással meghatározható, és lehetővé teszi a hidrogén-peroxid-tartalom meghatározását.

## 2. FOGALOMMEGHATÁROZÁS

Az alábbi módon mért hidrogén-peroxid-tartalmat a termék tömegére vonatkoztatva tömegszázalékban (% m/m) fejezzük ki.

## 3. REAGENSEK

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

- 3.1. 2N kénsav
- 3.2. Kálium-jodid
- 3.3. Ammónium-molibdát
- 3.4. 0,1 N nátrium-tioszulfát
- 3.5. 10 %-os (m/V) kálium-jodid-oldat, közvetlenül felhasználás előtt kell készíteni
- 3.6. 20 %-os (m/V) ammónium-molibdát-oldat
- 3.7. 1 %-os (m/V) keményítőoldat

## 4. ESZKÖZÖK ÉS FELSZERELÉSEK

- 4.1. 100 ml-es főzőpohár
- 4.2. 50 ml-es büretta
- 4.3. 250 ml-es mérőlombik
- 4.4. 25 ml-es és 100 ml-es mérőhenger
- 4.5. 10 ml-es egyjelű pipetta
- 4.6. 250 ml-es Erlenmeyer-lombik

## 5. ELJÁRÁS

- 5.1. Mérjük be 10 g (m), körülbelül 0,6 g hidrogén-peroxidot tartalmazó terméket egy 100 ml-es főzőpohárba. Egy kis vízzel mossuk a főzőpohár tartalmát egy 250 ml-es mérőlombikba, töltsük fel a jellegű vízzel, és keverjük össze.

## ▼B

- 5.2. Pipetázzuk az (5.1.) mintaoldat 10 ml-ét egy 250 ml-es mérőlombikba (4.6.), és adjunk hozzá 100 ml 2 N kénsavat (3.1.), 20 ml kálium-jodid (3.5.) -oldatot és három csepp ammónium-molibdát (3.6.) -oldatot.
- 5.3. Titráljuk azonnal a keletkező jódot (3.4.) 0,1 N nátrium-tioszulfát-oldattal, közvetlenül a végpont előtt indikátorként adjunk hozzá néhány csepp keményítő (3.7.) -oldatot. Jegyezzük fel a 0,1 N nátrium-tioszulfát (3.4.) fogyását milliliterben (V).
- 5.4. Az 5.2. és 5.3. szakaszokban leírt módon végezzünk vakpróbát, a 10 ml mintaoldat helyett használjunk 10 ml vizet. Jegyezzük fel a 0,1 N nátrium-tioszulfát fogyását a vak meghatározásban (Vo ml).

## 6. SZÁMÍTÁS

Számítsuk ki a hidrogén-peroxid-tartalmat tömegszázalékban (% m/m) a következő képlet segítségével:

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

ahol:

m = a vizsgált termék mennyisége (5.1.),

Vo = a 0,1 N tioszulfát fogyása a vakpróbában (5.4.) milliliterben,

V = a 0,1 N tioszulfát fogyása a mintaoldat titrálása (5.3.) során, milliliterben.

7. MEGISMÉTELHETŐSÉG <sup>(1)</sup>

A termék 6 % (m/m) körüli hidrogén-peroxid-tartalma esetén azonos mintán párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredményei közötti különbség abszolút értékben nem haladhatja meg a 0,2 %-ot.

## II. HAJFESTÉKEKBEN ELŐFORULÓ BIZONYOS OXIDÁLÓ SZÍNEZÉKEK AZONOSÍTÁSA ÉS FÉLKVANTITATÍV MEGHATÁROZÁSA

## 1. CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ez a módszer alkalmas a következő anyagok azonosítására és félkvantitatív meghatározására krém vagy folyadék típusú hajfestékekben:

Anyag megnevezése	Rövidítés
<i>Fenilén-diaminok</i>	
o-fenilén-diamin	(OPD)
m-fenilén-diamin	(MPD)
p-fenilén-diamin (V. melléklet)	(PPD)
<i>Metil-fenilén-diaminok</i>	
4-metil-1,2-fenilén-diamin (toluol-3,4-diamin)	(OTD)
4-metil-1,3-fenilén-diamin (toluol-2,4-diamin)	(MTD)
2-metil-1,4-fenilén-diamin (toluol-2,5-diamin)	(PTD)
<i>Diamino-fenolok</i>	
2,4-diamino-fenol	(DAP)
<i>Hidrokinon</i>	
1,4-benzéndiol	(H)
α-naftol	(α-N)
<i>Pirogallol</i>	
1,2,3-trihidroxi-benzol	(P)
<i>Rezorcín</i>	
1,3-dihidroxi-benzol	(R)

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint.



## ▼B

## 2. ALAPELV

Az oxidáló színezékeket a krém vagy folyadék típusú hajfestékekből pH 10-en 96 %-os etanollal kivonjuk, és egy- vagy kétdimenziós vékonyréteg-kromatográfiával azonosítjuk.

Az anyagok félkvantitatív meghatározása úgy történik, hogy a minták négy különböző előhívó rendszerben kapott kromatogramját összehasonlítjuk a hasonló körülmények között, velük egyidejűleg készített referenciaanyagok kromatogramjával.

## 3. REAGENSEK

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

## 3.1. Vizmentes etanol

## 3.2. Aceton

## 3.3. 96 %-os etanol, v/v

3.4. 25 %-os ammóniaoldat ( $(d_4^{20} = 0,91)$ )

## 3.5. L(+)-aszkorbinsav

## 3.6. Kloroform

## 3.7. Ciklohexán

## 3.8. Technikai minőségű nitrogén

## 3.9. Toluol

## 3.10. Benzol

## 3.11. n-butanol

## 3.12. Bután-2-ol

## 3.13. 50 %-os (v/v) hipofoszforos savoldat

## 3.14. Diazo reagens. Vagy:

– 3-nitro-1-benzodiazónium-klórbenzol-szulfonát, (stabilizált só forma), mint a Red 2 JN – Francolor, vagy azzal egyenértékű,

– 2-klór-4-nitro-1-benzodiazónium-naftalin-benzoát, (stabilizált só forma), mint az NNCD reagensben – hivatkozási szám 74 150 FLUKA,

vagy azzal egyenértékű.

## 3.15. Ezüst-nitrát

## 3.16. p-dimetil-amino-benzaldehid

## 3.17. 2,5-dimetil-fenol

## 3.18. Vas-klorid-hexahidrát

## 3.19. 10 %-os (m/v) sósavoldat

## 3.20. Referenciaanyagok

A referenciaanyagok felsorolását az I. cím alatt a „Cél és alkalmazási terület” tartalmazza. Amin-vegyületek esetében a referenciaanyag kizárólag hidroklorid forma (mono- vagy di-) vagy a szabad bázis.

## 3.21. 0,5 %-os (m/V) referenciaoldatok

Készítsük el a 3.20. pontban hivatkozott referenciaanyagok 0,5 %-os (m/v) oldatát.

Mérjünk be 50 mg  $\pm$  1 mg referenciaanyagot egy 10 ml-es mérőlombikba.

Adjunk hozzá 5 ml 96 %-os etanolt (3.3.) és 250 mg aszkorbinsavat (3.5.).

Lúgosítsuk az oldatot ammóniaoldat (3.4.) hozzáadásával, hogy a pH 10 körüli értéken legyen (ellenőrizzük indikátorpapírral).

Töltsük 10 ml-ig a lombikot 96 %-os (3.3.) etanollal, és keverjük össze.

Az oldatok fénytől védve hűvös helyen egy hétig eltarthatók.

## ▼B

Előfordulhat, hogy az aszkorbinsav és az ammónia hozzáadása után csapadék képződik. Ilyenkor hagyjuk kiülepedni a csapadékot, és csak ezután folytassuk az eljárást.

3.22. **Előhívó oldószer**

- 3.22.1. Aceton – kloroform – toluol (35:25:40 térfogatarányban)
- 3.22.2. Kloroform – ciklohexán–abszolút etanol – 25 %-os ammónia (80:10:10:1 térfogatarányban)
- 3.22.3. Benzol – bután-2-ol – víz (50:25:25 térfogatarányban). Rázzuk össze erőteljesen a keveréket, és szobahőmérsékleten (20–25 °C) történő elválasztás után a felső fázist használjuk.
- 3.22.4. n-butanol – kloroform – M reagens (7:70:23 térfogatarányban). Óvatosan válasszuk el szobahőmérsékleten (20–25 °C), és használjuk az alsó fázist.

*Az M reagens készítése*

25 %-os (v/v) ammóniaoldat,	24 térfogat
50 %-os hipofoszforsavoldat (3.13.)	1 térfogat
Víz	75 térfogat

*Megjegyzés*

Az ammóniát tartalmazó előhívó oldószerket közvetlenül használat előtt alaposan fel kell rázni.

3.23. **Indikátor spray-k**3.23.1. *Diazo reagens*

Készítsük el a kiválasztott reagens (3.14.) 5 %-os (m/v) vizes oldatát. Ezt az oldatot közvetlenül használat előtt kell készíteni.

3.23.2. *Ehrlich-reagens*

Oldjunk fel 2 g (3.16.) p-dimetilamino-benzaldehidet 100 ml (3.19.) sósav 10 %-os (m/v) vizes oldatában.

3.23.3. *2,5-dimetil-fenol – vas-klorid-hexahidrát*

*1. oldat:* Oldjunk fel 1 g dimetil-fenolt (3.17.) 100 ml 96 %-os etanolban (3.3.).

*2. oldat:* Oldjunk fel 4 g vas-klorid-hexahidrátot (3.18.) 100 ml 96 %-os etanolban (3.3.).

Az előhíváskor ezeket az oldatokat külön kell alkalmazni, előbb az 1. oldatot, majd a 2.-at.

3.23.4. *Ammóniás ezüst-nitrát*

Adjunk annyi 25 %-os ammóniát (3.4.) ezüst-nitrát (3.15.) 5 %-os (m/V) vizes oldatához, hogy a csapadék éppen föloldódjon. A reagenst közvetlenül felhasználás előtt kell készíteni.

Nem tárolható.

4. **ESZKÖZÖK**

- 4.1. A vékonyréteg-kromatográfia szokásos laboratóriumi eszközei.
- 4.1.1. Műanyag vagy üvegfedél, amelynek kialakítása olyan, hogy a foltok felvitele és szárítása alatt a kromatográfias lap környezetében nitrogénatmoszférát lehet létrehozni. Az óvintézkedésre bizonyos színezékek erős oxidációs hajlama miatt van szükség.
- 4.1.2. 10 µl-es, 0,2 µl-es beosztású mikrofecskendő négyzetes tüvel, vagy még jobb egy befogóállványon rögzített, 50 µl-es ismétlő adagoló, amely úgy van felszerelve, hogy a lapot nitrogén alatt lehessen tartani.

**▼B**

- 4.1.3. 0,25 mm vastag, 20x20 cm-es, azonnal használható, szilikagél vékonyréteg-lapok (műanyag hordozós Macherey and Nagel, Silica G-HR, vagy ezekkel egyenértékű).
- 4.2. 4 000 ford/perc fordulatszámú centrifuga.
- 4.3. 10 ml-es, PTFE bevonatú menetes kupakkal rendelkező centrifuga-csővek vagy ezekkel egyenértékű csövek.

## 5. ELJÁRÁS

5.1. **A vizsgálati minták kezelése**

Ne használjuk a tubusból kinyomott krém első két-három cm-ét.

Mérjük be a következőket egy előzőleg nitrogénnel átöblített centrifuga-csőbe (4.3.): 300 mg aszkorbinsavat és 3 g krémet vagy 3 g homogénizált folyadékot.

Csepegtessünk 25 %-os ammóniát (3.4.) az anyaghoz, amíg a pH a 10-et el nem éri. Töltsük fel 10 ml-re 96 %-os etanollal (3.3.).

Homogénizáljuk nitrogén (3.8.) alatt, zárjuk le, majd centrifugáljuk 4 000/perc fordulatszámon 10 percig.

Használjuk a felülúszó folyadékot.

5.2. **Kromatográfia**5.2.1. *A minta felvitele a lapokra*

Vigyünk fel a kromatográfiás lapra a fent említett referenciaoldatokból 1-1 µl-t nitrogénatmoszféra alatt (3.8.) egy egyenes mentén, 9 pontban.

A referenciaoldatok foltjainak sorrendje a következő:

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

A 10-es és 11-es pontban pedig 2 µl-t csepegtünk az 5.1. pontban kapott mintaoldatokból.

A lapot mindaddig tartjuk nitrogénatmoszféra (3.8.) alatt, amíg a kromatográfiát el nem indítjuk.

5.2.2. *Előhívás*

Helyezzük a lapot előzetesen nitrogénnel (3.8.) átöblített, a négy (3.22.) oldószer egyikének gőzeivel telített kádba, hívjuk elő szobahőmérsékleten (20–25 °C), fénytől védve, amíg az oldószerfront az alapvonaltól 15 cm-re távolodik.

Vegyük ki a lapot a kádból, és szárítsuk nitrogén (3.8.) alatt szobahőmérsékleten.

5.2.3. *Előhívás*

Azonnal fűjük le a lapot a 3.23. pontban leírt négy előhívó egyikével.

5.2.4. *Azonosítás*

Hasonlítsuk össze a minta  $R_f$ -értékét és színét a párhuzamosan kromatografált referenciaanyagok hasonló jellemzőivel.

Az 1. táblázat példaként megadja valamennyi anyag  $R_f$ -értékét és színét az összes oldószerre és indikátorra.

Ha az azonosítás eredménye nem egyértelmű, sikerre vezethet a ráméréses módszer, amikor a vizsgálati mintához hozzáadjuk a megfelelő referenciaanyagot.

**▼B**5.2.5. *Félkvantitatív mérési módszer*

Szemrevételezéssel hasonlítsuk össze az 5.2.4. pontban azonosított minden egyes anyag feltjének intenzitását és a referenciaoldatokkal a megfelelő koncentráció-tartományban felvett kromatogramok feltjainak intenzitását.

Ha a mintában előforduló egy vagy több anyag koncentrációja túlságosan nagyra mutatkozik, hígítsuk a mintakivonatot, és ismételjük meg a mérést.

## I. TÁBLÁZAT

A foltok R<sub>f</sub> értéke és színe közvetlenül a permetezés után

(3.20) Referenciaanyag (3.20.)	Előhívó oldószerek				Indikátor permetezők			
	R <sub>f</sub> -értékek				Foltok színe			
	(3.22.1.)	(3.22.2.)	(3.22.3.)	(3.22.4.)	Diazo (3.23.1.)	Ehrlich (3.23.2.)	Dimetil-fenol (3.23.3.)	AgNO <sub>3</sub> (3.23.4.)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	világosbarna	–	–	világosbarna
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	ibolyabarna (*)	sárga	világosbarna	világosbarna
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	barna	élénkpiros (*)	ibolya	szürke
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	barna (*)	halvány narancs	világosbarna	szürkésbarna
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	vörösesbarna (*)	sárga	barna	fekete
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	barna	narancs	ibolya (*)	szürke
DAP	0,07	–	0	0,05	barna (*)	narancs	ibolya	barna
H	0,50	0,35	0,80	0,20	–	narancs	ibolya	fekete (*)
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	narancsbarna	–	ibolya (*)	fekete
P	0,37	–	0,67	0,05	barna	nagyon halvány ibolya	nagyon halvány barna	barna (*)
R	0,50	0,37	0,80	0,17	narancs (*)	halványibolya	nagyon halvány barna	világosbarna

*Megjegyzések:*

- Az OPD csak gyengén látszik; a (3.22.3.) oldószerrel együtt kell egyértelműen elválasztani az OTD-től.
- (\*) A legjobban előhívható szint jelzi.

## ▼B

## 6. VIZSGÁLAT KÉTDIMENZIÓS VÉKONYRÉTEG-KROMATOGRÁFIÁVAL

A kétdimenziós kromatográfias eljárás végrehajtásához további standardok és reagensek használata szükséges.

## 6.1. Kiegészítő referenciaoldatok és -anyagok

- 6.1.1.  $\beta$ -naftol ( $\beta$ -N)
- 6.1.2. 2-amino-fenol (OAP)
- 6.1.3. 3-amino-fenol (MAP)
- 6.1.4. 4-amino-fenol (PAP)
- 6.1.5. 2-nitro-1,4-fenilén-diamin (2-NPPD)
- 6.1.6. 4-nitro-1,2-fenilén-diamin (4-NOPD)

Készítsük el a kiegészítő referenciaanyagok 0,5 %-os (m/V) oldatát a 3.21. pontban leírt módon.

## 6.2. Előhívó oldószer

- 6.2.1. Etil-acetát – ciklohexán – 25 %-os ammónia-oldat, (65:30:0,5 térfogatarányban)

## 6.3. Jelzőrendszer

Helyezzünk egy üvegedényt egy vékonyréteg-kromatográfias előhívó kádba, mérjünk be körülbelül 2 g kristályos jódot, és zárjuk le a kádat egy fedéllel.

## 6.4. Kromatográfia

- 6.4.1. Az 1. ábrán látható módon húzzunk két merőleges vonalat a vékonyréteg-lapon (4.1.3.), az abszorbens felületén.
- 6.4.2. A lapot nitrogén-atmoszféra (4.1.1.) alatt tartva vigyünk fel az 1. ábra szerinti, az 1 jelű kiindulási pontba 1–4  $\mu$ l kivonatot (5.1.). A kivonat mennyisége az 5.2. szakaszban kapott kromatogramokon megjelenő foltok intenzitásától függ.
- 6.4.3. Osszuk el a 2 és 3 jelű pont között (1. ábra) az 5.2. szakaszban azonosított vagy az 5.2. szakasz alapján feltételezett oxidáló színezékeket (a pontok közötti távolság 1,5 cm). Vigyünk fel valamennyi referenciaoldatból 2–2  $\mu$ l-t a DAP kivételével, amelyből 6  $\mu$ l-t vigyünk fel a lapra. A műveletet nitrogén (6.4.2.) alatt végezzük.
- 6.4.4. Ismételjük meg a 6.4.3. szakaszban leírt műveletet a 4 és 5 jelű kiindulási pontokban (1. ábra) (a pontok közötti távolság 1,5 cm), és tartsuk a lapot nitrogén alatt, amíg a kromatográfia meg nem kezdődik.
- 6.4.5. Öblítsünk át egy kromatográfias kádat nitrogénnel (3.8.), majd öntsünk bele megfelelő mennyiségű 3.22.2. előhívó oldószert. Tegyük a (6.4.4.) lapot a kádba, és hívjuk elő fénytől védve az első elúciós irányba (1. ábra).  
A kromatografálást addig végezzük, amíg az oldószerszint eltávolodott körülbelül 13 cm-re.
- 6.4.6. Vegyük ki a lapot a kádból, helyezzük egy előzetesen nitrogénnel átöblített kádba, és szárítsuk legalább 60 percen át, hogy az eluáló oldószert elpárologjon.
- 6.4.7. Egy térfogatmérésre alkalmas próbacsővel mérjünk be megfelelő mennyiségű eluáló oldószert (6.2.1.) egy előzetesen nitrogénnel (3.8.) átöblített kádba, tegyük be a (6.4.6.) kádba a lapot az előző helyzetéhez képest 90°-kal elforgatva, és addig végezzük a kromatografálást a másik irányban ugyancsak fénytől védve, amíg az oldószerszint el nem éri az abszorbens felületén húzott vonalat. Vegyük ki a lapot a kádból, és szárítsuk meg levegőn.
- 6.4.8. Tegyük be a lapot 10 percre a jódgőzökkel (6.3.) telített kromatográfias kádba, és értékeljük a kétdimenziós kromatogramot az egyidejűleg kromatografált referenciaanyagok  $R_f$  értéke és színe alapján. (A II. táblázat tájékoztató jelleggel ismerteti az  $R_f$ -értékeket és a színeket).

**▼B***Megjegyzés:*

A foltok színének maximális intenzitása úgy biztosítható, ha a kromatogramot az előhívás után fél órán keresztül hagyjuk levegőn állni.

- 6.4.9. A 6.4.8. pontban azonosított oxidáló színezékek jelenléte egyértelműen igazolható, ha a 6.4.1.–6.4.8. pontban írt műveletsort úgy ismétljük meg, hogy a 6.4.2. pontban az 1 jelű kiindulási pontban felvitt mennyiségén felül 1-1 µl-t felviszünk a 6.4.8. pontban azonosított színezékek referenciaoldatából is. Ha ebben a műveletsorban a 6.4.8. ponthoz képest nem jelenik meg új folt, a kromatogramnak a 6.4.8. szerinti értékelése helyes.

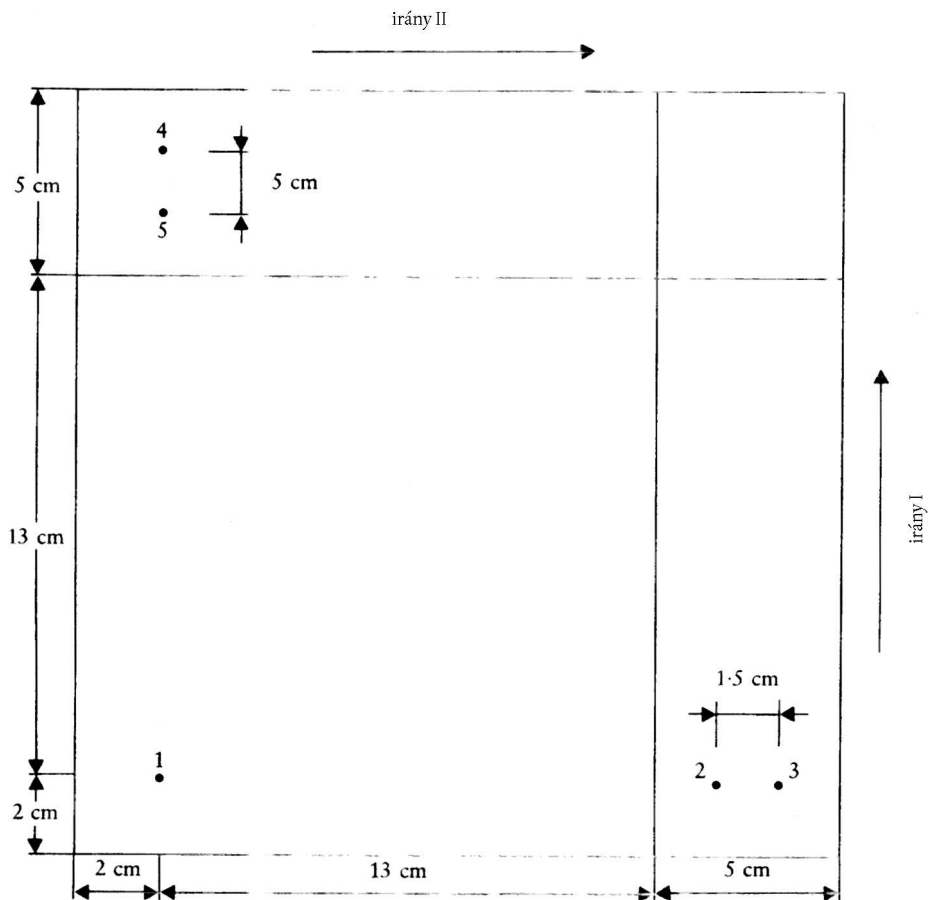
▼B

## II. TÁBLÁZAT

Referenciaoldatok színe a kromatográfia és a jódgőzökkel történő előhívás után

Referenciaanyag	Szín, jódgőzökkel történő futtatás után
R	bézs
P	barna
$\alpha$ -N	ibolya
$\beta$ -N	világosbarna
H	ibolyabarna
MPD	sárgásbarna
PPD	ibolyabarna
MTD	sötétbarna
PTD	sárgásbarna
DAP	sötétbarna
OAP	narancs
MAP	sárgásbarna
PAP	ibolyabarna
2-NPPD	barna
4-NOPD	narancs

1. ábra





## ▼B

## III. NITRIT AZONOSÍTÁSA ÉS MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA

## A. AZONOSÍTÁS

1. CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET
 

Ez a módszer a nitrit kozmetikai termékekben, különösen krémekben és pasztákban történő azonosítására alkalmas.
2. ALAPELV
 

A nitrit jelenlétét a 2-amino-benzaldehid-fenilhidrazonnal (Nitrine R) képzett színes származékának keletkezése jelzi.
3. REAGENSEK
 

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

  - 3.1. Hígított kénsav: hígítsunk 2 ml tömény kénsavat ( $(d_4^{20} = 1,84)$ ) 11 ml desztillált vízzel.
  - 3.2. Hígított sósav: hígítsunk 1 ml tömény sósavat ( $(d_4^{20} = 1,19)$ ) 11 ml desztillált vízzel.
  - 3.3. Metanol
  - 3.4. 2-amino-benzaldehid-fenilhidrazon (Nitrine R reagens) metanolos oldata.
 

Mérjünk ki pontosan 2,0 g Nitrine R-t, vigyük át veszteség nélkül egy 100 ml-es mérőlombikba. Csepegtessünk hozzá 4 ml hígított sósavat (3.2.), és rázzuk össze. Töltsük fel a jelig metanollal, és addig keverjük, amíg az oldat teljesen ki nem tisztul. Az oldatot barna üvegpalackban (4.3.) tároljuk.
4. ESZKÖZÖK
  - 4.1. 50 ml-es főzőpohár
  - 4.2. 100 ml-es mérőlombik
  - 4.3. 125 ml-es barna üvegpalack
  - 4.4. 10 x 10 cm-es üveglap
  - 4.5. Műanyag spatula
  - 4.6. 10 x 10 cm-es szűrőpapír,
5. ELJÁRÁS
  - 5.1. Egyenletesen terítsük szét a vizsgálandó minta egy részét egy üveglapon (4.4.) ügyelve arra, hogy a lap felületét legfeljebb 1 cm vastagságban borítsa be.
  - 5.2. Itassunk át egy szűrőpapír (4.6.) -lapot desztillált vízzel. Helyezzük a szűrőpapírt a mintára, és nyomkodjuk le a műanyag spatulával (4.5.).
  - 5.3. Várjunk körülbelül egy percet, majd a szűrőpapír közepére vigyünk fel:
    - két csepp hígított kénsavat (3.1.), majd
    - két csepp Nitrine R (3.4.) oldatot.
  - 5.4. Öt-tíz másodperc múlva vegyük le a szűrőpapírt, és vizsgáljuk meg a fényel szemben tartva. A nitrit jelenlétét vörösesbíbor színeződés jelzi.
 

Ha a minta nitrittartalma alacsony, a vörösesbíbor szín öt-tizenöt másodperc után sárgára változik. Nagyobb mennyiségű nitrit jelenlétében ez a színátmenet csak egy-két perc múltán megy végbe.

**▼B**

## 6. MEGJEGYZÉS

A vörösesbíbor szín intenzitásából és a sárgába történő színátmenet időtartamából a minta nitrítartalmára lehet következtetni.

## B. MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS

## 1. CÉL

A módszer a nitrit kozmetikai termékekben történő mennyiségi meghatározását írja le.

## 2. MEGHATÁROZÁS

A minta nitrítartalmát e módszerrel határozzuk meg, és a nátrium-nitrit tömegszázalékában fejezzük ki.

## 3. ALAPELV

A minta vízzel történő hígítása és derítése után a jelenlevő nitritet szulfanil-amiddal és N-1-naftil-etilén-diaminnal reagáltatjuk, és mérjük a keletkező szín optikai sűrűségét 538 nm-en.

## 4. REAGENSEK

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

## 4.1. Derítő reagens: ezek a reagenszerek készítésük után legfőbb egy hétig használhatók.

## 4.1.1. Carrez I reagens:

Oldjunk fel 106 g kálium-[hexaciano-ferrátot(II)],  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ -t desztillált vízben, és hígítsuk vízzel 1 000 ml-re.

## 4.1.2. Carrez II reagens:

Oldjunk fel 219,5 g cink-acetátot,  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ -t és 30 ml jégcetet desztillált vízben, és hígítsuk vízzel 1 000 ml-re.

## 4.2. Nátrium-nitrit-oldat:

Oldjunk fel 0,500 g nátrium-nitritet desztillált vízben egy 1 000 ml-es mérőlombikban, és vízzel töltsük fel a jelig. Az így elkészített standard törzsoldat 10,0 ml-ét hígítsuk 500 ml-re; utóbbi oldat egy ml-e 10 mikrogramm  $NaNO_2$ -ot tartalmaz.

## 4.3. 1N nátrium-hidroxid-oldat

## 4.4. 0,2 % szulfanil-amid-hidroklorid-oldat:

Oldjunk fel 2,0 g szulfanil-amidot 800 ml vízben melegítés közben. Hűtsük le, és keverés közben adjunk hozzá 100 ml tömény sósavat. Hígítsuk vízzel 1 000 ml-re.

## 4.5. 5N sósav

## 4.6. N-1-naftil reagens

Ezt az oldatot a felhasználás napján kell készíteni. Oldjunk fel 0,1 g N-1-naftil-etilén-diamin-dihidrokloridot vízben, és hígítsuk vízzel 100 ml-re.

## 5. ESZKÖZÖK

## 5.1. Analitikai mérleg

## 5.2. 100, 250, 500 és 1 000 ml-es mérőlombik

## 5.3. Hasas vagy mérőpipetta

## 5.4. 100 ml-es mérőhenger

## 5.5. 15 cm átmérőjű, nitritmentes, redős szűrőpapír

## 5.6. Vízfürdő

## 5.7. Spektrofotométer 1 cm-es úthosszúságú optikai cellával

## 5.8. pH-mérő

## 5.9. 10 ml-es mikrobüretta

**▼B**

5.10. 250 ml-es főzőpohár

6. ELJÁRÁS

- 6.1. Mérjük ki körülbelül 0,5 g-ot (m) 0,1 mg pontossággal a homogenizált mintából, forró desztillált vízzel veszteség nélkül mossuk át egy 250 ml-es főzőpohárba (5.10.), majd forró desztillált vízzel egészítsük ki körülbelül 150 ml-re. Tegyük a főzőpoharat (5.10.) fél órára 80 °C-os (5.6.) vízfürdőbe. Közben időnként rázzuk össze a pohár tartalmát.
- 6.2. Hűtsük le szobahőmérsékletre, és ezután keverés közben adjunk hozzá 2 ml Carrez I (4.1.1.) reagenst és 2 ml Carrez II reagenst (4.1.2.).
- 6.3. 1N nátrium-hidroxiddal (4.3.) állítsuk be az anyag pH-ját 8,3-ra. Használjuk a pH-mérőt (5.8.). Vigyük át veszteség nélkül egy 250 ml-es mérőlombikba (5.2.), és töltsük fel a jelig desztillált vízzel.
- 6.4. Keverjük össze a lombik tartalmát, és redős szűrőn (5.5.) szűrjük a mintát.
- 6.5. A tiszta szűrletből pipetázzunk (5.3.) megfelelő mennyiséget, de legfeljebb 25 ml-t egy 100 ml-es mérőlombikba (5.2.), és desztillált vízzel egészítsük ki a térfogatát 60 ml-re.
- 6.6. Az összekeverést követően adjunk hozzá 10,0 ml szulfanil-amid-hidroklorid-oldatot (4.4.), majd 6,0 ml 5N sósavat (4.5.). Keverjük össze, és hagyjuk állni az oldatot öt percre. Adjunk hozzá 2,0 ml N-1-naftil reagenst (4.6.), keverjük össze, és hagyjuk állni három percre. Hígítsuk vízzel jelig, és keverjük össze.
- 6.7. A vakpróba készítéséhez ismételjük a 6.5. és 6.6. műveletet az N-1-naftil reagensnek (4.6.) az oldathoz történő hozzáadása nélkül.
- 6.8. Mérjük (5.7.) a 6.6. műveletben kapott oldat optikai sűrűségét 538 nm-en, referenciaként a vakoldatot (6.7.) használjuk.
- 6.9. A kalibrációs görbéről (6.10.) olvassuk le a minta 6.8. pontban mért optikai sűrűségnek megfelelő nátrium-nitrit-tartalmat mikrogramm/100 ml koncentráció egységben ( $m_1$  mikrogramm).
- 6.10. A 10 µg/ml koncentrációjú nátrium-nitrit (4.2.) -oldat felhasználásával készítsünk 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg nátrium-nitrát/100 ml koncentrációjú oldatokat, és vegyük fel a nátrium-nitrit kalibrációs egyenesét.

7. SZÁMÍTÁS

Számítsuk ki a minta nátrium-nitrit-tartalmát tömegszázalékban a következő képlet segítségével:

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

ahol:

m = a vizsgálatra kivett minta tömege grammal (6.1.),

$m_1$  = a 6.9. pontban meghatározott nátrium-nitrit-tartalom mikrogrammban,

V = a méréshez (6.5.) felhasznált szűrlet térfogata ml-ben.

8. MEGISMÉTELHETŐSÉG <sup>(1)</sup>

0,2 % (m/m) körüli nátrium-nitrit-tartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredményei közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,005 %-ot.

**▼M1**

IV. A SZABAD FORMALDEHID AZONOSÍTÁSA ÉS MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA

1. CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ez a módszer az azonosítást és a formaldehid-donorok jelenlétének, illetve távollétének megfelelően két mennyiségi meghatározást ír le. Minden kozmetikai termék esetében alkalmazható.

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint.

▼ **M1**

- 1.1. **Azonosítás**
- 1.2. **Általános kolorimetriás meghatározás 2,4-pentándionnal**  
 Ez a módszer akkor alkalmazható, ha a formaldehid egymagában van jelen vagy olyan más tartósítószerrel együtt, amelyek egyike sem formaldehid-donor.  
 Ellenkező esetben, illetve ha az eredmény meghaladja az engedélyezett legnagyobb töménységet, a következő ellenőrzési módszert kell alkalmazni.
- 1.3. **Mennyiségi meghatározás formaldehid-donorok jelenlétében**  
 A fent említett módszerben (1.2.) a származékképzés során a formaldehid-donorok elhasadnak és túl magas eredményhez vezetnek (kötött és polimerizált formaldehid).  
 A szabad formaldehidet el kell választani folyadék-kromatográfiával.
2. **FOGALOMMEGHATÁROZÁS**  
 A mintának ezzel a módszerrel meghatározott szabad formaldehid-tartalmát tömegszázalékban fejezzük ki.
3. **AZONOSÍTÁS**
- 3.1. **Alapelv**  
 A szabad és kötött formaldehid kénsavas közegben a Schiff reagenst rózsaszínűre vagy mályvaszínűre változtatja.
- 3.2. **Reagensok**  
 Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak, a víznek pedig ioncseréltnak kell lennie.
- 3.2.1. Fukszin
- 3.2.2. 7 H<sub>2</sub>O-val hidratált nátrium-szulfid
- 3.2.3. Tömény sósav (d = 1,19)
- 3.2.4. Kénsav, kb. 1 M
- 3.2.5. *Schiff reagens:*  
 Mérjünk be 100 mg fukszint (3.2.1.) egy főzőpohárba és oldjuk fel 75 ml vízben, 80°C-on. Lehűlés után adjunk hozzá 2,5 g nátrium-szulfidot (3.2.2.). Töltsük fel 100 ml-re.  
 Két hétig eltartható.
- 3.3. **Eljárás**
- 3.3.1. Mérjünk be 2 g mintát egy 10 ml-es főzőpohárba.
- 3.3.2. Adjunk hozzá két csepp kénsavat (3.2.4.) és 2 ml Schiff reagenst (3.2.5.). Ennek a reagensnek alkalmazáskor teljesen szintelennek kell lennie.  
 Rázzuk össze és hagyjuk állni öt percig.
- 3.3.3. Ha öt perc alatt rózsaszínű vagy mályvaszínű elszíneződés észlelhető, akkor a formaldehid 0,01 %-ot meghaladó mennyiségben van jelen. Ebben az esetben a szabad és az összetett formaldehidet a (4.) módszer, valamint szükség esetén az (5.) módszer szerint kell meghatározni.
4. **ÁLTALÁNOS KOLORIMETRIÁS MEGHATÁROZÁS 2,4-PENTÁNDIONNAL**
- 4.1. **Alapelv**  
 A formaldehid 2,4-pentán dionnal, ammónium-acetát jelenlétében, 3,5-diacetil-1,4-dihidro-lutidint képez. Ezt butánán-1-ollal kivonjuk és a kivonat abszorbanciáját 410 nm-en megmérjük.

▼ **M1****4.2. Reagensok**

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak, a víznek pedig ioncseréltnek kell lennie.

- 4.2.1. Vízmentes ammónium-acetát
- 4.2.2. Tömény ecetsav,  $d_{4}^{20} = 1,05$
- 4.2.3. Alacsony nyomáson, 25 mm Hg, 25°-on frissen desztillált 2,4-pentándion – nem mutathat semennyi abszorpciót 410nm-en.
- 4.2.4. Butan-1-ol
- 4.2.5. Sósav, 1 M
- 4.2.6. Sósav, kb. 0,1 M
- 4.2.7. Nátrium-hidroxid, 1 M
- 4.2.8. Frissen készített keményítő oldat, amely megfelel az Európai gyógyszerkönyv 1980-as 2. kiadása I-VII-1-1 részének (1g/50ml víz)
- 4.2.9. 37-40 %-os formaldehid
- 4.2.10. Jód mérőoldat, 0,05 M
- 4.2.11. Nátrium-tioszulfát mérőoldat, 0,1 M

4.2.12. *2,4-pentán-dion reagens*

Oldjunk fel egy 1000ml-es mérőlombikban:

- 150g ammónium-acetátot (4.2.1. pont),
- 2ml 2,4-pentán-diont (4.2.3. pont),
- 3ml ecetsavat (4.2.2. pont).

Töltsük fel 1000ml-re vízzel (az oldat pH-ja 6,4 körül van).

Ezt a reagenst frissen kell készíteni

## 4.2.13. 2,4-pentándion nélküli reagens (4.2.12. pont)

4.2.14. *Standard formaldehid: törzsoldat*

Öntsünk 5 g formaldehidet (4.2.9. pont) egy 1000 ml-es mérőlombikba és töltsük fel vízzel 1000 ml-re.

Állapítsuk meg az oldat erősségét a következőképpen:

Vegyünk ki 10,00 ml-t; adjunk hozzá 25,00 ml jód mérőoldatot (4.2.10. pont) és 10,00 ml nátrium-hidroxid oldatot (4.2.7. pont).

Hagyjuk állni öt percig.

Savanyítsuk meg 11,00 ml HCl oldattal (4.2.5. pont) és határozzuk meg a jódfelesleget nátrium-tioszulfát oldattal (4.2.11. pont) keményítő oldat (4.2.8. pont), mint indikátor jelenlétében.

1 ml 0,05 M jód (4.2.10. pont) fogyása megfelel 1,5 mg formaldehidnek.

4.2.15. *Standard formaldehid: hígított oldat*

Hígítsuk fel a formaldehid törzsoldatot először 1/20 majd 1/100 arányban vízzel.

Ez az oldatnak milliliterenként körülbelül 1 µg formaldehidet tartalmaz.

Számítsuk ki a pontos tartalmat.

**4.3. Eszközök**

- 4.3.1. Szokásos laboratóriumi felszerelés
- 4.3.2. Fázisválasztó szűrő, Whatman 1 PS (vagy ezzel egyenértékű)
- 4.3.3. Centrifuga
- 4.3.4. Vízfürdő készlet 60°C-ra állítva
- 4.3.5. Spektrofotométer

▼ **M1**

4.3.6. Üveg küvetta, 1 cm-es optikai úthosszal.

#### 4.4. Eljárás

##### 4.4.1. Mintaoldat

Egy 100ml-es mérőlombikba a vizsgálati mintából 0,001 gramm pontossággal mérjük be kb. 150 µg formaldehid-mennyiségnek megfelelő (grammban) mennyiséget.

Töltsük fel 100 ml-re vízzel és keverjük össze (S oldat).

(Ellenőrizzük, hogy a pH 6-hoz közeli; ha nem, akkor hígítsuk a sósavoldattal (4.2.6. pont).)

Tegyük egy 50 ml-es Erlenmeyer lombikba a következőket:

- 10,00 ml S oldat,
- 5,00 ml 2,4-pentándion reagens (4.2.12.),
- annyi ioncserélt vizet, hogy a végső térfogat 30 ml legyen.

##### 4.4.2. Referencia oldat

A referencia oldat használatával a vizsgálati minta háttérszíne által okozott esetleges zavaró hatás kiküszöbölhető:

Tegyük egy 50 ml-es Erlenmeyer lombikba a következőket:

- 10,00 ml S oldat,
- 5,00 ml reagens (4.2.13.),
- annyi ioncserélt víz, hogy a végső térfogat 30 ml legyen.

##### 4.4.3. Vakpróba

Tegyük egy 50 ml-es Erlenmeyer lombikba a következőket:

- 5,00 ml 2,4-pentán-dion reagens (4.2.12.),
- annyi ioncserélt víz, hogy a végső térfogat 30 ml legyen.

##### 4.4.4. Mennyiségi meghatározás

4.4.4.1. A 4.4.1., 4.4.2. és a 4.4.3. pont szerinti keverékeket rázzuk össze. Állítsuk az Erlenmeyer lombikokat 60°C-os vízfürdőbe pontosan tíz percre. Hagyjuk hűlni két percig jeges vízzel teli fürdőben.

4.4.4.2. Vigyük át egy 50 ml-es választótölcsérbe, amely 10 ml 1-butanolt (4.2.4. pont) tartalmaz. Öblítsük át mindegyik lombikot 3–5 ml vízzel. Rázzuk erősen a keveréket pontosan 30 másodpercig. Hagyjuk a fázisokat szétválni.

4.4.4.3. Szűrjük le a bután-1-olos fázist a mérőlombikba (4.3.2. pont) fázisválasztó szűrőn keresztül. Centrifugálás (3000 g, 5 perc) is alkalmazható.

4.4.4.4. Mérjük meg a 4.4.1. pont szerinti mintaoldat kivonatának  $A_1$  abszorbanciáját 410 nm-nél a 4.4.2. pont szerinti referencia oldat kivonatához képest.

4.4.4.5. Hasonlóképpen mérjük meg a 4.4.3. szerinti vakoldat kivonatának  $A_2$  abszorbanciáját bután -1-olhoz képest.

MEGJEGYZÉS: Az összes fenti műveletet attól a pillanattól számított 25 percen belül kell elvégezni, amikor az Erlenmeyer lombikot a 60°C-os vízfürdőbe helyeztük.

##### 4.4.5. Kalibrációs görbe

4.4.5.1. Tegyük egy 50 ml-es Erlenmeyer lombikba a következőket:

- 5,00 ml hígított standard oldat a 4.2.15. pont szerint,
- 5,00 ml 2,4-pentán-dion reagens (4.2.12.),
- annyi ioncserélt vizet, hogy a végső térfogat 30 ml legyen.

4.4.5.2. Folytassuk a 4.4.4. pontban leírtaknak megfelelően és mérjük meg az abszorbanciát bután -1-olhoz (4.2.4.) képest.

▼ **M1**

- 4.4.5.3. Ismételjük meg az eljárást 10, 15, 20 és 25 ml hígított standard oldat (4.2.15.) felhasználásával.
- 4.4.5.4. A nullapont meghatározásához (amely a reagensek színezettségének felel meg) járjunk el a 4.4.4.5. pontban megadottak szerint.
- 4.4.5.5. Szerkesszük meg a kalibrációs görbét, miután kivontuk a nullapont értékét a 4.4.5.1 és 4.4.5.3. pont szerint kapott egyes abszorbanciákból. A Beer törvény 30 µg formaldehid mennyiségig érvényes.

4.5. **Számítás**

- 4.5.1. Vonjuk ki  $A_2$ -t  $A_1$ -ből és olvassuk le a kalibrációs görbéről (4.4.5.5. pont) azt a µg-ban kifejezett C mennyiséget, amely a mintaoldatban jelen lévő formaldehidnek felel meg (4.4.1.).
- 4.5.2. Számítsuk ki a mintaformaldehid tartalmát (% m/m) a következő képlet segítségével:

$$\text{formaldehidtartalom \% -ban} = \% = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

ahol:

m = a vizsgálati részlet tömege a g-ban kifejezve.

4.6. **Megismételhetőség<sup>(1)</sup>**

0,2 %-os formaldehidtartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredményei közötti eltérés nem haladhatja meg a 0,005 %-ot a 2,4-pentán-dionos kolorimetriás meghatározás esetén.

Ha a szabad formaldehidtartalom mennyiségi meghatározása a 76/768/EGK irányelvben meghatározott legnagyobb koncentrációt meghaladó eredményt ad, azaz:

- a) 0,05 %- és 0,2 %- között van egy címkézetlen termékben;
- b) 0,2 %- felett van, akár címkézett akár címkézetlen termékben, akkor az alábbi, 5. pontban meghatározott eljárást kell alkalmazni.

5. **MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁS FORMALDEHID-DONOROK JELENLÉTÉBEN**5.1. **Alapelv**

A különálló formaldehidet sárga lutidin származékká alakítjuk 2,4-pentán-dionos reakció segítségével egy oszlopkimenethez illeszthető reaktorban és a keletkező származék abszorbanciáját 420 nm-en megmérjük.

5.2. **Reagensek**

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak, a víznek pedig ioncseréltnek kell lennie.

- 5.2.1. HPLC tisztaságú vagy azzal megegyező minőségű víz
- 5.2.2. Vízmentes ammónium-acetát
- 5.2.3. Tömény ecetsav
- 5.2.4. 2,4-pentándion (4°C-on tartva)
- 5.2.5. Vízmentes nátrium-foszfát
- 5.2.6. 85 %-os ortofoszforsav (d = 1,7)
- 5.2.7. HPLC minőségű metanol
- 5.2.8. Diklór-metán
- 5.2.9. 37–40 %-os (w/v) formaldehid
- 5.2.10. Nátrium-hidroxid, 1 M

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint

▼ **M1**

- 5.2.11. Sósav, 1 M
- 5.2.12. Sósav, 0,002 M
- 5.2.13. Frissen készített keményítő oldat, amely megfelel az Európai gyógyszerkönyvnek (lásd 4.2.8.pont)
- 5.2.14. Jód mérőoldat, 0,05 M
- 5.2.15. Nátrium-tioszulfát mérőoldat, 0,1 M
- 5.2.16. *Mozgó fázis:*  
Dinátrium-foszfát (5.2.5.) vizes oldata, 0,006 M, ortofoszforsavval (5.2.6.) pH 2,1 értékre beállított;
- 5.2.17. *Oszlop utáni reagens:*  
Oldjunk fel egy 1000 ml-es mérőlombikban:  
– 62,5 g ammónium-acetátot (5.2.2.),  
– 7,5 ml ecetsavat (5.2.3.),  
– 5 ml 2,4-pentán-diont (5.2.4.).  
Töltsük fel 1000 ml-re vízzel (5.2.1.).  
Ezt a reagenst tartsuk távol a fénytől.  
Eltarthatóság 25°C-on legfeljebb 3 nap.  
Az oldat színe nem változhat meg;
- 5.2.18. *Standard formaldehid: törzsoldat*  
Öntsünk 10 g formaldehidet (5.2.9.) egy 1000 ml-es mérőlombikba és töltsük fel 1000 ml-re vízzel.  
Állapítsuk meg ennek az oldatnak az erősségét a következőképpen:  
Vegyünk ki 5,00 ml-t; adjunk hozzá 25,00 ml jód mérőoldatot (5.2.14.) és 10 ml nátrium-hidroxid oldatot (5.2.10.).  
Hagyjuk állni öt percig.  
Savanyítsuk meg 11,00 ml HCl oldattal (5.2.11.) és határozzuk meg a jód mérőoldat feleslegét nátrium-tioszulfát oldattal (5.2.15.) titrálva, használjunk keményítő oldat (5.2.13.) indikátorként.  
1 ml jód oldat (5.2.14.) megfelel 1,5 mg formaldehidnek.
- 5.2.19. *Standard formaldehid: hígított oldat*  
Hígítsuk fel a törzsoldatot kezdeti erősségéhez képest 1/100 arányban a mozgó fázissal.  
Ennek az oldatnak 1 ml-e kb. 37 mg formaldehidet tartalmaz.  
Számítsuk ki a pontos tartalmat.
- 5.3. **Eszközök**
- 5.3.1. Szokásos laboratóriumi felszerelés
- 5.3.2. Ingadozásmentes HPLC pumpa
- 5.3.3. Alacsony nyomású ingadozásmentes pumpa a reagens számára (vagy egy második HPLC pumpa)
- 5.3.4. Befecskendező szelep 10 µl-es hurokkal
- 5.3.5. Oszlopkimenethez illeszthető reaktor a következő összetevőkkel:  
+ egy 1 literes háromnyakú lombik;  
+ egy melegítőkráter 1 literes lombikhoz;  
+ két Vigreux oszlop, legalább 10 lappal, kettő léghűtéses;  
+ 1,6 mm-es rozsdamentes acélcső (a hőcseréléshez) – belső átmérő 0,23 mm, hossz = 400 mm;  
+ 1,6 mm-es tefloncső – belső átmérő, 0,30 mm, hossz = 5 m (csomózás) lásd 1. függelék);  
+ egy T-darab, holtterfogat nélkül (Valco vagy azzal egyenértékű);



▼ **M1**

+ három csatlakozó holtterfogat nélkül

Vagy: egy Applied Biosystems PCRS 520 oszlop utáni modul, vagy azzal egyenértékű, 1 ml-es reaktorral felszerelve;

- 5.3.6. Membránszűrő, 0,45 µm-es pórusmérettel
- 5.3.7. SEP-PAK<sup>R</sup> C<sub>18</sub> vagy azzal egyenértékű töltet
- 5.3.8. Használatra kész oszlopok:
- Bischoff hypersil RP 18 (NC típus, C 25,461805 hivatkozás)  
(5 µm, hossz = 250 mm, belső átmérő = 4,6 mm),
  - vagy Dupont, Zorbax ODS  
(5 µm, hossz = 250 mm, belső átmérő = 4,6 mm),
  - vagy Phase SEP, spherisorb ODS 2  
(5 µm, hossz = 250 mm, belső átmérő = 4,6 mm).
- 5.3.9. *Előoszlop*
- Bischoff K<sub>1</sub> hypersil RP 18 (K1 G 6301 1805 hivatkozás)  
(5 µm, hossz = 10 mm, vagy ezzel egyenértékű).
- 5.3.10. Az oszlop és az előoszlop Ecotube-rendszer segítségével van összekötve (A 15020508 Bischoff hivatkozás) vagy ezzel egyenértékű.
- 5.3.11. Szereljük össze a készüléket (5.3.5.) a 2. függelék diagramján bemutatottak szerint.
- A befecskendező érték utáni csatlakozásokat a lehető legrövidebbre kell méretezni. Ebben az esetben a reaktor kivezetése és a detektor bevezetése közötti rozsdamentes acélcső a keverék mérés előtti hűtése céljából van elhelyezve, és a hőmérséklet a detektorban ismeretlen, de állandó.
- 5.3.12. UV látható detektor
- 5.3.13. Adatrögzítő
- 5.3.14. Centrifuga
- 5.3.15. Ultrahangos fürdő
- 5.3.16. Rotációs keverő (vortex vagy azzal egyenértékű)

5.4. **Eljárás**5.4.1. *Kalibrációs görbe*

Ezt a görbét a hígított standard formaldehid oldat koncentrációjának függvényében felrajzolt csúcsmagasságok adják meg.

Készítsük el a mérőoldatokat, a standard formaldehid oldatnak (5.2.19.) a mozgó fázissal (5.2.16.) történő hígításával:

- 1,00 ml oldat (5.2.19.) hígítva 20,00ml-re (kb. 185 µg/100ml),
- 2,00 ml oldat (5.2.19.) hígítva 20,00ml-re (kb. 370 µg/100ml),
- 5,00 ml oldat (5.2.19.) hígítva 25,00ml-re (kb. 740 µg/100ml),
- 5,00 ml oldat (5.2.19.) hígítva 20,00ml-re (kb. 925 µg/100ml),

A mérőoldatokat tartsuk laboratóriumi hőmérsékleten egy órán keresztül, és frissen készítsük el.

A kalibrációs görbe linearitása az 1,00 és 15,00 µg/ml közötti koncentráció-tartományban megfelelő.

5.4.2. *Mintaelőkészítés*5.4.2.1. *Emulziók (krémek, alapozók, szemkihúzó)*

Mérjük be egy dugóval ellátott 100 ml-es lombikba 0,001 g-os pontossággal 100 µg formaldehidnek megfelelő mennyiséget (grammban) a vizsgálati mintából. Adjunk hozzá pontosan bemért 20,00 ml diklórmetánt (5.2.8.) és 20,00 ml sósavat (5.2.12.). Keverjük össze a rezgő keverő (5.3.16.) és az ultrahangos fürdő (5.2.15.) segítségével. Válasszuk el a két fázist centrifugálással (3000 g<sup>n</sup> két percig). Eközben mossuk át a patront (5.3.7.) 2 ml metanollal (5.2.7.), majd kondicionáljuk 5 ml vízzel (5.2.1.).

▼ **M1**

Hajtsunk át 4 ml-t a kivonat vizes fázisából a kondicionált patronon, öntsük el az első 2 ml-t és tegyük el az azt követő részletet.

5.4.2.2. *Arc- és testápolók, samponok*

Mérjük be egy dugóval ellátott 100 ml-es lombikba 0,001 g-os pontossággal egy 500 µg formaldehidnek megfelelő mennyiséget (grammban) a vizsgálati mintából.

Töltsük fel 100 ml-re a mozgó fázissal (5.2.16.).

Szűrjük le az oldatot egy szűrőn (5.3.6.) keresztül, és fecskendezzük be, vagy vezessük át egy olyan tölteten (5.3.7.), amelyet előzetesen a fenti módon (5.4.2.1.) kondicionáltunk. Minden oldatot közvetlenül az elkészítése után be kell fecskendezni.

5.4.3. *Kromatográfias körülmények*

- A mozgó fázis átfolyási sebessége: 1 ml/perc,
- A reagens átfolyási sebessége: 0,5 ml/perc,
- A detektor kimenetén a teljes átfolyási sebesség: 1,5 ml/perc,
- Befecskendezett térfogat: 10 µl,
- Oldási hőmérséklet: nehéz elválasztások esetén mérítsük az oszlopot olvadó jeges fürdőbe: várjuk meg amíg a hőmérséklet állandósul (15 – 20 perc).
- Az oszlop utáni reakció hőmérséklete: 100°C,
- Detektálás: 420 nm-en.

**MEGJEGYZÉS:** A teljes kromatográfias rendszert és az utóoszlopot is használat után át kell mosni vízzel (5.2.1.). Ha a rendszert két napnál hosszabb ideig nem használják, akkor az átmosás után metanolos (5.2.7.) mosást is alkalmazni kell. Újrakondicionálás előtt a rendszeren vizet kell átnyomni az átkristályosodás elkerülése érdekében.

5.5. **Számítás**

*Emulziók esetében: (5.4.2.1.):*

Formaldehidtartalom %-ban (m/m),

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

*Arc- és testápolók, samponok esetében (5.4.2.2.):*

Formaldehidtartalom:

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

ahol:

m = a vizsgálati minta tömege g-ban (5.4.2.1.),

C = formaldehid koncentráció µg/100ml-ben a kalibrációs görbéről leolvasva (5.4.1.).

5.6. **Megismételhetőség<sup>(1)</sup>**

0,05 %-os formaldehidtartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti különbség nem haladhatja meg a 0,001 %-ot.

0,2 %-os formaldehidtartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás közötti eltérés nem haladhatja meg a 0,005 %-ot.

▼ **B**

## V. REZORCIN MEGHATÁROZÁSA SAMPONOKBAN ÉS HAJSZESZEBEN

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint

## ▼B

## 1. CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ez a módszer rezorcin samponokban és hajszeszekben történő gázkromatográfiás meghatározását írja le. A módszer a minta tömegére vonatkoztatva 0,1–2,0 % rezorcin meghatározására alkalmas.

## 2. MEGHATÁROZÁS

Az ezzel a módszerrel meghatározott rezorcintartalmat a minta tömegére vonatkoztatva tömegszázalékban adjuk meg.

## 3. ALAPELV

A rezorcint és a belső standardként adott 3,5-dihidroxi-toluolt a mintától vékonyréteg-kromatográfiával választjuk el. A két vegyületet a vékonyréteg-lapról lekaparva és metanollal kivonva izoláljuk. Végül a kivont vegyületeket megszáritjuk, szililezzük, és gázkromatografáljuk.

## 4. REAGENSEK

Minden reagensnek analitikai tisztaságúnak kell lennie.

## 4.1. 25 %-os (m/m) sósav

## 4.2. Metanol

## 4.3. 96 %-os (v/v) etanol

## 4.4. Készre gyártott szilikagél VRK lapok (műanyag vagy alumínium) fluoreszcens indikátorral. Hatástalanítsuk a következők szerint: fűjük le a közönséges, előre bevont szilikagél lapokat vízzel, amíg fényessé nem válnak. Hagyjuk szobahőmérsékleten egy-három órán keresztül száradni a lefűjt lapokat.

*Megjegyzés:*

A lap hatástalanítása nélkül a rezorcin szilikagélen történő irreverzibilis abszorpciója miatt veszteség léphet föl.

## 4.5. Előhívó oldószer: aceton – kloroform – ecetsav (20:75:5 térfogatarányban).

## 4.6. Rezorcin-standard-oldat: oldjunk fel 400 mg rezorcint 100 ml 96 %-os etanolban (4.3.) (1 ml 4 000 µg rezorcint tartalmaz).

## 4.7. Belső standard oldat: oldjunk fel 400 mg 3,5-dihidroxi-toluolt (DHT) 100 ml 96 %-os etanolban (4.3.) (1 ml 4 000 µg DHT-t tartalmaz).

## 4.8. Standard elegy: elegyítsünk 10 ml 4.6. és 10 ml 4.7. szerinti oldatot egy 100 ml-es mérőlombikban, töltsük a jelig 96 %-os etanollal (4.3.), és keverjük össze (1 ml 400 µg rezorcint és 400 µg DHT-t tartalmaz).

## 4.9. Szililezőszerek:

## 4.9.1. N,O-bis-(trimetil-szilil-)trifluoro-acetamid (BSTFA)

## 4.9.2. Hexametil-diszilazán (HMDS)

## 4.9.3. Trimetil-klórszilán (TMCS)

## 5. ESZKÖZÖK

## 5.1. A vékonyréteg-kromatográfia és a gázkromatográfia szokásos felszerelése

## 5.2. Üvegeszközök

## 6. ELJÁRÁS

6.1. **Minta-előkészítés**

## 6.1.1. Egy 150 ml-es főzőpohárba a termékből mérjük be annyi vizsgálati mintát (m gramm), amely körülbelül 20–50 mg rezorcint tartalmaz.

## 6.1.2. Adjunk hozzá sósavat (4.1.), amíg a keverék savassá nem válik (mintegy 2–4 ml szükséges), és adjunk hozzá 10 ml (40 mg DHT) belső standard oldatot (4.7.), és keverjük össze. Etanollal (4.3.) mossuk át egy 100 ml-es mérőlombikba, töltsük fel a jelig etanollal, és keverjük össze.

## ▼B

- 6.1.3. Vigyünk fel 250 µl (6.1.2) oldatot egy deaktivált szilikagél lapra (4.4.) egy 8 cm hosszú, folyamatos egyenes mentén. Ügyeljünk arra, hogy az egyenes minél vékonyabb legyen.
- 6.1.4. Ugyanígy vigyünk fel a standard elegyből (4.8.) 250 µl-t ugyanarra a lapra (6.1.3.).
- 6.1.5. Az előhívást követő azonosítás egyszerűsítése céljából ugyanazon a lapon vigyünk fel párhuzamosan az alapvonalra két pontban 5-5 µl-t a 4.6. és a 4.7. oldatból.
- 6.1.6. Fejlesszük ki a lapot az előhívó szerrel (4.5.) megtöltött telítetlen kádban, amíg az oldószerfront el nem távolodik az alapvonalától 12 cm-re, ez általában körülbelül 45 percet vesz igénybe. Szárítsuk meg levegőn a lapot, és állapítsuk meg a rezorcín/DHT-zóna helyét rövidhullámú UV fényben (254 nm). A két vegyület  $R_f$ -értéke nagyjából megegyezik. A sávok sötét külső határvonalától két mm-re egy ceruzával rajzoljuk körbe a sávokat. Kaparjuk le ezeket a zónákat, és az egyes sávokat tartalmazó abszorbenst külön-külön 10 ml-es palackokban gyűjtjük.
- 6.1.7. Vonjuk ki a mintát és a standard elegyet tartalmazó abszorbenst a következőképpen:  
adjunk hozzá 2 ml metanolt (4.2.), és állandó keverés mellett egy órán keresztül vonjuk ki. Szűrjük a keveréket, majd ismételjük meg a műveletet 2 ml metanollal 15 percig extrahálva.
- 6.1.8. Egyesítsük a metanos kivonatokat, és megfelelő szárítószerrel töltött vákuum-deszikkátorban egy éjszakán át szárítva párologtassuk el az oldószert. Semmiképpen ne melegítsük a mintákat.
- 6.1.9. A maradékkal végezzük el (6.1.8.) a szililezését a 6.1.9.1. vagy pedig a 6.1.9.2. alatt leírt módon.
- 6.1.9.1. Egy mikrofecskendővel adjunk hozzá 200 µl BSTFA-t (4.9.1.), és egy zárt edényben hagyjuk állni a keveréket 12 órán keresztül, szobahőmérsékleten.
- 6.1.9.2. Adjunk hozzá egymás után 200 µl HMDS-t (4.9.2.) és 100 µl TMCS-t (4.9.3.) egy mikrofecskendővel, és egy zárt edényben melegítsük a keveréket 30 percen át 60 °C-on. Hűtsük le a keveréket.

6.2. **Gázkromatográfia**6.2.1. *Gázkromatográfias körülmények*

Az oszlop a következő megoldást eredményezi: R nem lehet kisebb, mint 1,5,

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

ahol:

- $r_1$  és  $r_2$  = két csúcs retenciós ideje percben,  
 $w_1$  és  $w_2$  = ugyanezen csúcsoknak a magasság felénél mért szélessége mm-ben,  
 $d'$  = a diagrampapír sebessége mm/percben.

Ez a felbontás a következő beállítások mellett érhető el:

Oszlop	anyaga:	rozsdamentes acél
	hossza:	200 cm
	belső átmérője:	~ 3 mm
	töltete:	10 % OV-17 100–120 mesh CHROMOSORB WAW-on

Lángionizációs detektor

Hőmérsékletek:

oszlop:	185 °C (izoterm)
detektor:	250 °C

## ▼B

injektor: 250 °C  
 Vivőgáz: nitrogén  
 térfogatáram: 45 ml/perc

A hidrogén és levegő térfogatáramának beállításával kapcsolatban kövessük a gyártó utasításait.

- 6.2.2. Fecskendezzünk a 6.1.9. pont szerint elkészített oldatokból 1–3 µl-t a gázkromatográfra. Minden (6.1.9.) oldatból ötször fecskendezzünk, mérjük az egy anyaghoz tartozó csúcsterületeket, átlagoljuk ezeket, és számítsuk ki a csúcsterületarányt, S-t. S = rezorcin-csúcsterület/DHT-csúcsterület.

## 7. SZÁMÍTÁS

A mintában a rezorcin koncentrációját tömegszázalékban (% m/m) a következő képlet fejezi ki:

$$\text{Rezorcin, \%} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{minta}}}{S_{\text{standard egyveleg}}},$$

ahol:

M = vizsgálati minta tömege grammal (6.1.1.),  
 $S_{\text{minta}}$  = a 6.2.2. alapján számított, a mintaoldatra vonatkozó átlag csúcsterületarány,  
 $S_{\text{standard elegy}}$  = a 6.2.2. alapján számított, a standard elegyre vonatkozó átlag csúcsterületarány.

8. MEGISMÉTELHETŐSÉG <sup>(1)</sup>

0,5 % körüli rezorcintartalom esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredményei közötti különbség abszolút értéke nem haladhatja meg a 0,025 %-ot.

## VI. METANOL MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA ETANOLRA VAGY PROPÁN-2-OLRA VONATKOZTATVA

## 1. CÉL ÉS ALKALMAZÁSI TERÜLET

Ez a módszer metanol gázkromatográfias meghatározását írja le valamennyi kozmetikai termékfajtában (ideértve az aeroszolatokat is).

A módszerrel 0–10 % koncentrációk határozhatók meg.

## 2. MEGHATÁROZÁS

A módszerrel meghatározott metanoltartalmat etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatva tömegszázalékban adjuk meg.

## 3. ALAPELV

A meghatározás gázkromatográfiával történik.

## 4. REAGENSEK

Használjunk analitikai minőségű reagenseket.

## 4.1. Metanol

## 4.2. Abszolút etanol

## 4.3. Propán-2-ol

## 4.4. Vízrel alkoholmentesített kloroform

## 5. ESZKÖZÖK

## 5.1. Gázkromatográf:

hővezetési detektor aeroszol mintákra,

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint.

## ▼B

lángionizációs detektor nem aeroszol mintákra.

- 5.2. 100 ml-es mérőlombikok  
 5.3. 2 ml-es, 20 ml-es, és 0–1 ml-es tartományú pipetták  
 5.4. 0–100 µl-es és 0–5 µl-es mikrofecskendők  
 és (csak aeroszol minták adagolására) különleges gázzáró fecskendő tolattyúval (lásd a mintavételi eljárásról szóló 5. ábrát (!)).

## 6. ELJÁRÁS

## 6.1. Minta-előkészítés

- 6.1.1. Az aeroszol készítményeket az 1980. december 22-i 80/1335/EGK (!) bizottsági irányelv mellékletének II. fejezete alapján mintázzuk, majd gázkromatográfiásan vizsgáljuk a 6.2.1. pontban leírt körülményeknek megfelelően.  
 6.1.2. Az említett II. fejezetnek megfelelően mintavételezett nem aeroszol termékeket vízzel 1–2 %-os etanol- vagy propán-2-ol-tartalomra hígítjuk, majd gázkromatográfiásan vizsgáljuk a 6.2.2. pontban leírt körülményeknek megfelelően.

## 6.2. Gázkromatográfia

- 6.2.1. Aeroszol minták esetén hővezetési detektort használunk.  
 6.2.1.1. Az oszlop töltete 10 % Hallcomid M18, 100–200 mesh CHROMO-SORB WAW hordozón.  
 6.2.1.2. Az oszlop a következő megoldást eredményezi: R nem lehet kisebb, mint 1,5,

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

ahol:

- $r_1$  és  $r_2$  = két csúcs retenció ideje percben,  
 $w_1$  és  $w_2$  = ugyanezen csúcsoknak a magasság felénél mért szélessége mm-ben,  
 $d'$  = a papírdiagram sebessége mm/percben.

- 6.2.1.3. Ez a felbontás az alábbi beállítások mellett érhető el:

Oszlop	anyaga:	rozsdamentes acél
	hossza:	3,5 m
	belső átmérője:	3 mm
Hővezetési detektor híd árama:		150 mA
vivőgáz:		hélium
nyomás:		2,5 bar
térfogatáram:		45 ml/perc
Hőmérsékletek:		
injektor:		150 °C
detektor:		150 °C
oszlop:		65 °C

A csúcsterületmérés pontossága elektronikus integrálással javítható.

- 6.2.2. Nem aeroszol minták  
 6.2.2.1. Az oszlop Chromosorb 105 vagy Porapak QS töltetű, és a lángionizációs detektort használjuk.  
 6.2.2.2. Az oszlop a következő megoldást eredményezi: R nem lehet kisebb, mint 1,5,

(!) HL L 383., 1980.12.31., 27. o.

## ▼B

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

ahol:

- $r_1$  és  $r_2$  = két csúcspont retenciósideje percben,  
 $w_1$  és  $w_2$  = ugyanezen csúcspontoknál a magasság felénél mért szélessége mm-ben,  
 $d'$  = a papírdiagram sebessége mm/percben.

6.2.2.3. Ez a felbontás az alábbi beállítások mellett érhető el:

Oszlop anyaga: rozsdamentes acél  
 hossza: 2 m  
 belső átmérője: 3 mm

Elektrométer érzékenysége:  $8 \times 10^{-10}$  A

Gázok:

vivőgáz: nitrogén  
 nyomás: 2,1 bar  
 térfogatáram: 40 ml/perc  
 Detektor gázok: hidrogén  
 nyomás: 1,5 bar  
 térfogatáram: 20 ml/perc

Hőmérsékletek:

injektor: 150 °C  
 detektor: 230 °C  
 oszlop: 120–130 °C

## 7. KALIBRÁCIÓS GÖRBE

7.1. A 6.2.1. szakasz szerinti gázkromatográfiai eljárás végrehajtása (Hallcomid M18 oszlop) esetén készítsük el az alábbi táblázatban felsorolt standard elegyeket. A készítés során a komponenseket pipettával adjuk az elegyhez, de a pontos bemérést úgy határozzuk meg, hogy minden egyes hozzáadást követően lemérjük a pipettát vagy a lombikot.

Relatív tartalom (m/m %)	Metanol (ml)	Etanol vagy propán-2-ol (ml)	Kloroformmal töltve
körülbelül 2,5 %	0,5	20	100 ml-re
körülbelül 5,0 %	1,0	20	100 ml-re
körülbelül 7,5 %	1,5	20	100 ml-re
körülbelül 10,0 %	2,0	20	100 ml-re

Injektáljunk 2–3 µl-t a gázkromatográfira a 6.2.1. szerinti körülmények beállítása mellett.

Számítsuk ki valamennyi elegyre a (metanol/etanol-) vagy a (metanol/propán-2-ol-) csúcsterületarányt. Ábrázoljuk a standard görbét a következőket feltüntetve:

X-tengely: % metanol/etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatva,

Y-tengely: (metanol/etanol-) vagy (metanol/propán-2-ol-) csúcsterületarány.

7.2. A 6.2.2. pontban leírt gázkromatográfiai eljárás végrehajtása (Porapak QS vagy Chromosorb 105) esetén készítsük el az alábbi táblázatban felsorolt standard elegyeket. A készítés során a komponenseket pipettával vagy mikrofecskendővel adjuk az elegyhez, de a pontos mennyiséget minden esetben úgy határozzuk meg, hogy a hozzáadást követően lemérjük a pipettát vagy a lombikot.

## ▼B

Relatív tartalom (m/m %)	Metanol ( $\mu$ l)	Etanol vagy propán-2- ol (ml)	Hozzáadott víz térfogata
körülbelül 2,5 %	50	2	100 ml
körülbelül 5,0 %	100	2	100 ml
körülbelül 7,5 %	150	2	100 ml
körülbelül 10,0 %	200	2	100 ml

Injektáljunk 2–3  $\mu$ l-t a gázkromatográfra a 6.2.2. pontban írt körülmények beállítása mellett.

Számítsuk ki valamennyi elegyre a (metanol/etanol-) vagy a (metanol/propán-2-ol-) csúcsterület arányt. Ábrázoljuk a standard görbén a következőket feltüntetve:

X-tengely: % metanol/etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatva,

Y-tengely: (metanol/etanol-) vagy (metanol/propán-2-ol-) csúcsterületarány.

7.3. A standard kalibrációs görbének lineárisnak kell lennie.

8. MEGISMÉTELHETŐSÉG <sup>(1)</sup>

A termék etanolra vagy propán-2-olra vonatkoztatott 5 % körüli metanoltartalma esetén azonos mintán, párhuzamosan végzett két mennyiségi meghatározás eredményei közötti különbség nem haladhatja meg a 0,25 %-ot.

<sup>(1)</sup> ISO 5725 szabvány szerint.



▼ **M1**

## 1. függelék

**ELŐÍRÁSOK A „CSOMÓZÁSHOZ”****ELŐÍRT TARTOZÉKOK**

- Egy faorsó:
  - külső átmérő 5 cm egy 1,5 cm átmérőjű lyukkal, amely a közepén megy keresztül. Helyezzünk bele négy acélszöget (amint azt az 1. és 2. ábra mutatja). Minden két szög között a távolság 1,8 cm legyen és a szögek 0,5 cm-re legyenek a lyuktól,
- egy merev tű (horgolótű típusú) a tefloncső felcsavarására,
- 5 m hosszú 1,6 mm-es tefloncső, belső átmérő 0,3 mm.

**ELJÁRÁS**

A „csomózás” megindításához a tefloncsövet be kell fűzni az orsó teteje felől és ki kell vezetni alul, a középső lyukon keresztül (kb. 10 cm túlnyúlást kell hagyni a csőnek az orsó aljához képest, annak érdekében, hogy a láncot keresztül lehessen húzni csomózás közben); ezután tekerjük a csövet a négy szög köré, ahogyan a 3. ábra mutatja.

A csomózás alját és tetejét fémgyűrűkkel és szorítócsavarokkal kell megvédeni; vigyázva arra, hogy a tefloncső ne törjön el a szorosra húzás során. Tekerjük körbe a csövet még egyszer minden szög körül és készítsük el az „öltést” a következőképpen:

- emeljük az alsó csövet a felső fölé (lásd 4. ábra). Ismételjük meg ezt az eljárást minden egyes szög esetén (1, 2, 3, 4 az óramutató járásával ellentétes irányban), amíg az 5 m-t vagy a megkívánt hosszúságot el nem érjük.

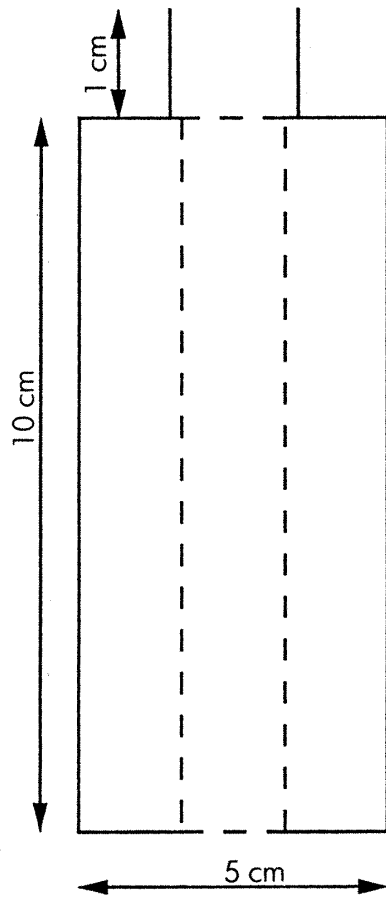
Hagyjunk ki kb. 10 cm csövet a lánc lezárásához. Fűzzük át a csövet a négy hurok mindegyikén és húzzuk meg óvatosan, hogy a lánc vége összeszoruljon.

**MEGJEGYZÉS:** Oszlopkimenethez illeszthető reaktorok számára készített csomózás kereskedelmi forgalomban kapható (Supelco).

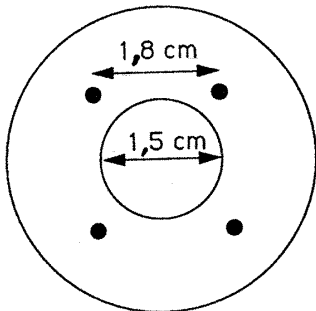
▼ **M1**

Az orsó sematikus rajza

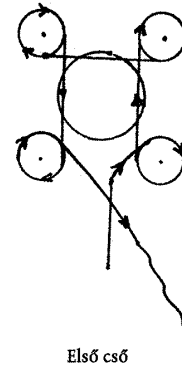
1. ábra



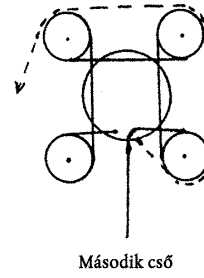
2. ábra



3. ábra

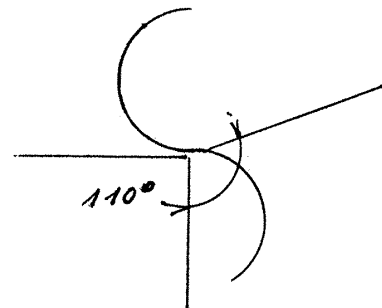


4. ábra



Az „öltéshez” emeljük a kötőtűvel az alsó csövet (folyamatos vonal) a második cső fölé.

5. ábra



## ▼ M1

## 2. függelék

- 1 = HPLC pumpa
- 2 = Befecskendező szelep
- 3 = Oszlop előtét oszloppal
- 4 = Reagens pumpa
- 5 = T-darab holttérfogat nélkül
- 5' = T-darab (Vortex)
- 6-6' = Csatlakozó holttérfogat nélkül
- 7 = „Csomózás”
- 7' = Reaktor
- 8 = Háromnyakú lombik forró vízzel
- 9 = Melegítőkráter
- 10 = Hűtő
- 11 = Hőcserélő cső rozsdamentes acélból
- 11' = Hőcserélő
- 12 = Látható-UV detektor
- 13 = PCRS 520 oszlop utáni modul
- 13 = PCRS 520 utóoszlop modul

