

31982L0434

30.6.1982

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

L 185/1

DRUGA DYREKTYWA KOMISJI**z dnia 14 maja 1982 r.****w sprawie zbliżenia ustawodawstw Państw Członkowskich odnoszących się do metod analizy niezbędnych do kontrolowania składu produktów kosmetycznych**

(82/434/EWG)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

wolnego formaldehydu, oznaczania rezorcyny w szamponach i płynach do włosów i oznaczania metanolu w stosunku do etanolu lub propanolu-2;

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

środki ustanowione w niniejszej dyrektywie są zgodne z opinią Komitetu ds. Dostosowania do Postępu Technicznego Dyrektywy 76/768/EWG,

uwzględniając dyrektywę Rady 76/768/EWG z dnia 27 lipca 1976 r. w sprawie zbliżenia ustawodawstw Państw Członkowskich odnoszących się do produktów kosmetycznych⁽¹⁾, zmienioną dyrektywą 79/661/EWG⁽²⁾, w szczególności jej art. 8 ust. 1,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

Artykuł 1

a także mając na uwadze, co następuje:

Państwa Członkowskie zobowiązane są podjąć wszelkie czynności, konieczne w celu zapewnienia, aby podczas urzędowego kontrolowania produktów kosmetycznych:

dyrektywa 76/768/EWG przewiduje urzędowe kontrolowanie produktów kosmetycznych w celu zapewnienia, aby spełnione zostały warunki ustanowione na mocy przepisów wspólnotowych dotyczących składu produktów kosmetycznych;

— identyfikację środków utleniających oraz oznaczanie nadtlenu wodoru w produktach kosmetycznych do pielęgnacji włosów,

możliwie jak najszybciej należy opracować wszelkie niezbędne metody analizy; pierwszy etap na drodze do osiągnięcia tego celu został zrealizowany przez określenie niektórych metod w dyrektywie Komisji 80/1335/EWG⁽³⁾; drugi etap ma polegać na określeniu metod identyfikacji niektórych środków utleniających i oznaczania nadtlenu wodoru w kosmetykach do pielęgnacji włosów, identyfikacji i ilościowego oznaczania niektórych barwników utleniających w farbach do włosów, identyfikacji i oznaczania azotynów, identyfikacji i oznaczania

— identyfikację i ilościowe oznaczanie niektórych barwników utleniających w farbach do włosów,

— identyfikację i oznaczanie azotynów,

⁽¹⁾ Dz.U. L 262 z 27.9.1976, str. 169.⁽²⁾ Dz.U. L 192 z 31.7.1979, str. 35.⁽³⁾ Dz.U. L 383 z 31.12.1980, str. 27.

— identyfikację i oznaczanie wolnego formaldehydu,

— oznaczanie rezorcyny w szamponach i płynach do włosów,
— oznaczanie metanolu w stosunku do etanolu lub propanolu-2,
wykonywano zgodnie z metodami opisanymi w załącznikach.

Artykuł 2

Najpóźniej do dnia 31 grudnia 1983 r. Państwa Członkowskie zobowiązane są przyjąć przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy.

Państwa Członkowskie niezwłocznie powiadamiają o tym Komisję.

Artykuł 3

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 14 maja 1982 r.

W imieniu Komisji

Karl-Heinz NARJES

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK

I. IDENTYFIKACJA ŚRODKÓW UTLENIAJĄCYCH I OZNACZANIE NADTLENKU WODORU W PRODUKTACH KOSMETYCZNYCH DO PIELEGNACJI WŁOSÓW

CEL I ZAKRES

Jodometryczne oznaczanie nadtlenu wodoru w kosmetykach jest możliwe wyłącznie w przypadku nieobecności innych środków utleniających, które uwalniają jod z jodków. W związku z tym przed jodometrycznym oznaczeniem nadtlenu wodoru konieczne jest wykrycie i identyfikacja innych występujących środków utleniających. Identyfikacja ta dzieli się na dwa etapy: pierwszy obejmuje nadsiarczany, bromiany i nadtlenu wodoru, a drugi nadtlenu baru.

A. IDENTYFIKACJA NADSIARCZANÓW, BROMIANÓW I NADTLENKU WODORU

1. ZASADA

Identyfikację nadsiarczanu sodu, nadsiarczanu potasu i nadsiarczanu amonu oraz bromianu potasu, bromianu sodu i nadtlenu wodoru – nawet tych pochodzących z nadtlenu baru – wykonuje się za pomocą chromatografii bibułowej zstępującej, z zastosowaniem dwóch rozpuszczalników rozwijających.

2. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

2.1. Wodne roztwory o odniesieniu 0,5% (m/v) następujących związków:

2.1.1. Nadsiarczan sodu

2.1.2. Nadsiarczan potasu

2.1.3. Nadsiarczan amonu

2.1.4. Bromian potasu

2.1.5. Bromian sodu

2.1.6. Nadtlenu wodoru

2.2. Rozpuszczalnik rozwijający A, etanol 80% (v/v)

2.3. Rozpuszczalnik rozwijający B, benzen - metanol - 3-metylobutan-1-ol - woda (34:38:18:10 obj)

2.4. Środek wywołujący A, 10-procentowy (m/v) roztwór wodny jodku potasu

2.5. Środek wywołujący B, 1-procentowy (m/v) roztwór wodny skrobi

2.6. Środek wywołujący C, 10-procentowy (m/m) kwas chlorowodorowy

2.7. 4 N kwas chlorowodorowy.

3. APARATURA I WYPOSAŻENIE

3.1. Bibuła chromatograficzna (bibuła „Whatman” nr 3 i nr 4 lub jej równoważniki)

3.2. Mikropipeta, 1 µl

3.3. Kolby miarowe, 100 ml

3.4. Sączki karbowane

3.5. Aparatura do zstępującej chromatografii bibułowej.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBK

4.1. Produkty rozpuszczalne w wodzie

Przygotować po dwa roztwory każdej próbki przez rozpuszczenie odpowiednio 1 g i 5 g produktu w 100 ml wody. Pobrać 1 µl każdego z tych roztworów do analizy metodą chromatografii bibułowej, opisaną w sekcji 5.

4.2. Produkty trudno rozpuszczalne w wodzie

4.2.1. Odważyć 1 g i 5 g próbki i zawiesić w 50 ml wody, uzupełnić do 100 ml wodą w obu przypadkach i wymieszać. Przesączyć obie dyspersje przez sączek karbowany (3.4) i pobrać po 1 µl każdego filtratu do analizy metodą chromatografii bibułowej, opisaną w sekcji 5.

4.2.2. Przygotować ponownie dwie dyspersje każdej próbki poprzez dyspergowanie 1g i 5 g w 50 ml wody, zakwaszając rozwodnionym kwasem solnym (2.7), mieszając i uzupełniając do 100 ml wodą. Przesączyć dyspersję przez sączek karbowany i pobrać 1 µl każdego filtratu do analizy metodą chromatografii bibułowej opisaną w sekcji 5.

4.3. Kremy

Zawiesić 5 g i 20 g każdego produktu w 100 ml wody i zastosować dyspersję do wykonania analizy metodą chromatografii bibułowej opisaną w sekcji 5.

5. METODA

5.1. Umieścić właściwą ilość rozpuszczalników A (2.2) i B (2.3) w komorach dwóch oddzielnych chromatografów w celu wykonania zstępującej chromatografii bibułowej. Nasycać komory chromatograficzne oparami rozpuszczalników przez co najmniej 24 godziny.

5.2. Nanieść po 1 µl jednego roztworu próbki i jednego roztworu odniesienia przygotowanych według opisu w sekcjach 4 i 2.1 na każdy punkt startowy paska bibuły chromatograficznej („Whatman” nr 3 lub równoważnej) o długości 40 cm i szerokości 20 cm (3.1) lub innego odpowiedniego formatu i odparować rozpuszczalnik na powietrzu.

5.3. Umieścić pasek chromatograficzny (5.2) w komorze chromatograficznej z rozpuszczalnikiem rozwijającym A (5.1) i rozwijać do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie odległość 35 cm (około 15 godzin).

5.4. Powtórzyć procedurę opisaną w sekcjach 5.2 i 5.3 z użyciem bibuły chromatograficznej (Whatman nr 4 lub równoważnej) (3.1) i rozpuszczalnika rozwijającego B. Rozdział chromatograficzny prowadzić do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie odległość 35 cm (około pięciu godzin).

5.5. Po rozwinięciu wyjąć chromatogramy z komory i wysuszyć na powietrzu.

5.6. Wywołać plamy na chromatogramie przez spryskanie go kolejno:

5.6.1. środkiem wywołującym A (2.4) i następnie, po krótkim czasie, środkiem wywołującym B (2.5). Najpierw pojawiają się na chromatografie plamy nadsiarczanów, a następnie wywołane zostaną plamy nadtlenu wodoru. Obrysować plamy ołówkiem;

5.6.2. środkiem wywołującym C (2.6) chromatogramów otrzymanych zgodnie z opisem w sekcji 5.6.1; szaroniebieskie plamy na chromatogramie wskazują na obecność bromianów.

5.7. W opisanych powyżej warunkach, właściwych dla rozpuszczalników rozwijających A (2.2) i B (2.3), wartości R_f dla substancji odniesienia (2.1) są w przybliżeniu następujące:

	Roztwór rozwijający A (2.2)	Roztwór rozwijający B (2.3)
Nadsiarczan sodu	0,40	0,10
Nadsiarczan potasu	0,40	0,02 + 0,05
Nadsiarczan amonu	0,50	0,10 + 0,20
Bromian sodu	0,40	0,20
Bromian potasu	0,40	0,10 + 0,20
Nadtlenek wodoru	0,80	0,80

B. IDENTYFIKACJA NADTLENU BARU

1. ZASADA

Identyfikację nadtlenku baru wykonuje się na podstawie powstawania nadtlenku wodoru po zakwaszeniu próbki (A.4.2) oraz na podstawie stwierdzenia obecności jonu baru:

- w przypadku nieobecności nadsiarczanów (A) – przez dodanie rozcieńczonego kwasu siarkowego do części kwaśnego roztworu próbki (B.4.1), w wyniku czego powstaje biały osad siarczanu baru. Obecność jonów baru w próbce (B.4.1) potwierdza się ponownie za pomocą chromatografii bibułowej według metody opisanej poniżej (B.5),
- w przypadku, gdy w próbce obecne są równocześnie nadtlenek baru i nadsiarczany (B.4.2), obecność jonów baru w roztworze stopu (B.4.2.3) stwierdza się przez rozpuszczenie pozostałości z roztworu (B.4.2), w podwyższonej temperaturze i w środowisku alkalicznym; po rozpuszczeniu w kwasie chlorowodorowym, za pomocą metody chromatografii bibułowej i/lub przez wytrącenie osadu siarczanu baru.

2. ODCZYNNIKI

2.1. Metanol

2.2. 36-procentowy (m/m) stężony kwas chlorowodorowy

2.3. 6 N kwas chlorowodorowy

2.4. 4 N kwas siarkowy

2.5. Sól dwusodowa kwasu rodyzonowego (3,4,5,6-tetraoksocyklohekseno-1,2-diolu).

2.6. Chlorek baru ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

2.7. Bezwodny węgiel sodu

2.8. 1-procentowy (m/v) roztwór wodny chlorku baru

2.9. Rozpuszczalnik rozwijający zawierający metanol, stężony kwas chlorowodorowy (stężenie 36 %) i wodę (80:10:10 obj.)

2.10. Środek wywołujący, 0,1-procentowy (m/v) roztwór wodny soli dwusodowej kwasu rodyzonowego, świeżo przygotowany bezpośrednio przez użyciem.

3. APARATURA I WYPOSAŻENIE

3.1. Mikropipeta, 5 μl

3.2. Tygły platynowe

3.3. Kolby miarowe, 100 ml

3.4. Bibuła chromatograficzna firmy „Schleicher and Schull” 2043b lub równoważna. Bibulę oczyszcza się przez pozostawienie jej na noc w komorze chromatograficznej (A.3.5) zawierającej rozpuszczalnik rozwijający (B.2.9), a następnie suszy się ją.

3.5. Karbowany sączek bibułowy.

3.6. Aparatura do zstępującej chromatografii bibułowej.

4. PRZYGOTOWANIE PRÓBK

4.1. **Produkty niezawierające nadsiarczanów**

4.1.1. Zawiesić 2 g produktu w 50 ml wody i doprowadzić kwasem chlorowodorowym (B.2.3) pH dyspersji do wartości około 1.

- 4.1.2. Za pomocą wody przenieść dyspersję do 100-mililitrowej kolby miarowej, uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Dyspersji tej używa się do analizy metodą chromatografii bibułowej opisaną w sekcji 5 oraz do identyfikacji baru przez wytrącenie siarczanu.

4.2. **Produkty zawierające nadsiarczany**

- 4.2.1. Zawiesić 2 g produktu w 100 ml wody i przesączyć.
- 4.2.2. Do wysuszonej pozostałości dodać siedem do dziesięciu razy więcej wagowo węgla sodu (B.2.7), wymieszać i stapać mieszaninę w tyglu platynowym (B.3.2) przez pół godziny.
- 4.2.3. Schłodzić do temperatury pokojowej, rozpuścić stop w 50 ml wody i przesączyć (B.3.5).
- 4.2.4. Rozpuścić pozostałość ze stopu w kwasie chlorowodorowym (B.2.3) i uzupełnić wodą do 100 ml. Roztworu tego używa się do analizy metodą chromatografii bibułowej, opisaną w sekcji 5, oraz do identyfikowania obecności baru przez wytrącenie siarczanu.

5. **METODA**

- 5.1. Umieścić właściwą ilość rozpuszczalnika rozwijającego (B.2.9) w komorze do zstępującej chromatografii bibułowej i nasycać komorę przez co najmniej 15 godzin.
- 5.2. Na kawałku bibuły chromatograficznej - przygotowanej tak jak opisano w sekcji B.3.4 - nanieść po 5 µl każdego roztworu, przygotowanego zgodnie ze wskazówkami przedstawionymi w sekcjach B.4.1.2 i B.4.2.4, oraz roztwór odniesienia B.2.8 w trzech punktach startowych.
- 5.3. Wysuszyć bibułę z naniesionymi próbkami i roztworem odniesienia na powietrzu. Rozwijać chromatogram do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie 30 cm.
- 5.4. Wyjąć chromatogram z komory i wysuszyć na powietrzu.
- 5.5. Wywołać plamy na chromatogramie przez spryskanie bibuły środkiem wywołującym B.2.10. W przypadku obecności baru na chromatogramie pojawiają się czerwone plamy o wartości RF około 0,10.

C. OZNACZENIE NADTLENKU WODORU

1. **ZASADA**

Jodometryczne oznaczanie nadtlenu wodoru przeprowadza się według następującej reakcji:



Przemiana ta zachodzi powoli, lecz można ją przyspieszyć przez dodanie heptamolibdenianu (VI) amonu. Ilość powstałego jodu oznacza się miareczkowo tiosiarczanem sodu i stanowi ona miarę zawartości nadtlenu wodoru.

2. **DEFINICJA**

Zawartość nadtlenu wodoru oznaczona w sposób opisany poniżej jest wyrażona jako procent masowy (% m/m) produktu.

3. **ODCZYNNIKI**

Wszystkie odczynniki powinny być czyste do analizy.

- 3.1. 2 N kwas siarkowy
- 3.2. Jodek potasu
- 3.3. Heptamolibdenian (VI) amonu
- 3.4. 0,1 N tiosiarczan sodu

- 3.5. 10-procentowy (m/v) roztwór jodku potasu, świeżo przygotowany bezpośrednio przez użyciem
- 3.6. 20-procentowy (m/v) roztwór heptamolibdenianu (VI) amonu
- 3.7. 1-procentowy (m/v) roztwór skrobi
4. APARATURA I WYPOSAŻENIE
- 4.1. Zlewki, 100 ml
- 4.2. Biureta, 50 ml
- 4.3. Kolby miarowe, 250 ml
- 4.4. Cylindry miarowe, 25 i 100 ml
- 4.5. Pipety jednomiarowe, 10 ml
- 4.6. Kolby stożkowe, 250 ml
5. METODA
- 5.1. W zlewce 100-mililitrowej odważyć około 10 g (m gramów) produktu zawierającego około 0,6 g nadtlenu wodoru. Przenieść zawartość zlewki za pomocą wody do kolby miarowej 250-mililitrowej, uzupełnić wodą do kreski i wymieszać.
- 5.2. Odmierzyć pipetą 10 ml roztworu próbki (5.1) do 250-mililitrowej kolby stożkowej (4.6) i dodawać kolejno 100 ml 2N kwasu siarkowego (3.1), 20 ml roztworu jodku potasu (3.5) i trzy krople roztworu heptamolibdenianu (VI) amonu (3.6).
- 5.3. Miareczkować powstały jod bezzwłocznie 0,1N roztworem tiosiarczanu sodu (3.4) i bezpośrednio przed osiągnięciem punktu końcowego dodać kilka mililitrów roztworu skrobi (3.7) jako wskaźnika. Zarejestrować zużycie 0,1N roztworu tiosiarczanu sodu (3.4) w mililitrach (V).
- 5.4. Przeprowadzić analizę ślepej próby według sposobu opisanego w sekcji 5.2 i 5.3, zastępując 10 ml roztworu próbki 10 ml wody. Zarejestrować zużycie 0,1N roztworu tiosiarczanu sodu w analizie ślepej próby (V_0 ml).
6. OBLICZENIE

Obliczyć zawartość nadtlenu wodoru w produkcie, w procentach masowych (% m/m), według następującego wzoru:

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

gdzie:

m = ilość produktu poddawanego analizie (5.1),

V_0 = zużycie 0,1N roztworu tiosiarczanu do analizy ślepej próby w mililitrach (5.4),

V = zużycie 0,1N roztworu tiosiarczanu do analizy roztworu próbki w mililitrach (5.3).

7. POWTARZALNOŚĆ ⁽¹⁾

W przypadku produktu zawierającego około 6 % m/m nadtlenu wodoru, różnica pomiędzy wynikami dwóch oznaczeń przeprowadzonych równoległe dla tej samej próbki nie powinna przekraczać wartości bezwzględnej 0,2 %.

⁽¹⁾ Patrz: norma ISO 5725.

II. IDENTYFIKACJA I PÓŁIŁOŚCIOWE OZNACZANIE NIEKTÓRYCH BARWNIKÓW UTLENIAJĄCYCH W FARBACH DO WŁOSÓW

1. CEL I ZAKRES

Metoda jest odpowiednia do identyfikacji i półilościowego oznaczania następujących substancji w farbach do włosów, w postaci kremu lub płynu:

Substancje	Symbol
<i>Fenylenodwuaminy</i>	
o-fenylenodwuamina	(OPD)
m-fenylenodwuamina	(MPD)
p-fenylenodwuamina (załącznik V)	(PPD)
<i>Metylofenylenodwuaminy</i>	
4-metylo-1,2-fenylenodwuamina (3,4-dwuaminotoluen)	(OTD)
4-metylo-1,3-fenylenodwuamina (2,4-dwuaminotoluen)	(MTD)
2-metylo-1,4-fenylenodwuamina (2,5 dwuaminotoluen)	(PTD)
<i>Dwuaminofenole</i>	
2,4-dwuaminofenol	(DAP)
<i>Hydrochinon</i>	
1,4-dwuhydroksybenzen	(H)
α-naftol	(α-N)
<i>Pirogalol</i>	
1,2,3-trójhdroksybenzen	(P)
<i>Rezorcynol</i>	
1,3-dwuhydroksybenzen	(R)

2. ZASADA

Barwniki utleniające z farb w postaci kremu lub płynu ekstrahuje się za pomocą 96-procentowego alkoholu etylowego oraz przy pH = 10 i identyfikuje się je metodą chromatografii cienkowarstwowej, jedno- lub dwukierunkowej.

W celu półilościowego oznaczenia tych substancji, chromatogramy próbek otrzymane za pomocą czterech układów rozwijających są porównywane z chromatogramami substancji odniesienia otrzymanymi w tym samym czasie i w możliwie jak najbardziej podobnych warunkach.

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czyste do analizy.

- 3.1 Bezwodny alkohol etylowy
- 3.2. Aceton
- 3.3. Alkohol etylowy, 96-procentowy v/v
- 3.4 Roztwór amoniaku, 25-procentowy, ($d_4^{20} = 0,91$) = 0.91

- 3.5. Kwas L(+) askorbinowy
- 3.6. Chloroform
- 3.7. Cykloheksan
- 3.8. Azot techniczny
- 3.9. Toluen
- 3.10. Benzen
- 3.11. n-butanol
- 3.12. Butan-2-ol
- 3.13. Kwas podfosforawy, roztwór 50-procentowy v/v.
- 3.14. Odczynnik do dwuazowania. Jeden z dwóch do wyboru:
- chlorobenzenosulfonian-3-nitro-1-benzenodwuazoniowy (stabilizowany w postaci soli), tak jak w Red 2 JN-Francolor
 - naftalenobenzoesan-2-chloro-4-nitro-1-benzenodwuazoniowy (stabilizowany w postaci soli), tak jak w odczynniku NNCD – odniesienie nr 74150 FLUKA
- lub równoważny.
- 3.15. Azotan srebra
- 3.16. p-dwumetyloaminobenzaldehyd
- 3.17. 2,5-dwumetylofenol
- 3.18. Sześciowodny chlorek żelazowy
- 3.19. Kwas chlorowodorowy, roztwór 10-procentowy m/v.
- 3.20. **Substancje odniesienia**
- Substancje odniesienia przedstawiono w ust. 1 „Cel i zakres”. W przypadku związków aminowych substancją odniesienia może być chlorowodorek (mono- lub di-) lub wolna zasada.
- 3.21. **Roztwory odniesienia 0,5-procentowe (m/v).**
- Przygotowuje się roztwór A 0,5-procentowy (m/v) wszystkich substancji odniesienia podanych w sekcji. 3.20.
- Odważyć 50 mg $\pm$ 1 mg substancji odniesienia w 10-mililitrowej kolbie miarowej.
- Dodać 5 ml 96-procentowego alkoholu etylowego (3.3) i 250 mg kwasu askorbinowego (3.5).
- Zalkalizować dodając roztwór amoniaku (3.4), do uzyskania wyraźnego odczynu o pH 10 (z badać papierkiem wskaźnikowym).
- Uzupełnić 96-procentowym alkoholem etylowym (3.3) do 10 ml i wymieszać.
- Roztwory można przechowywać przez tydzień, w chłodnym miejscu i bez dostępu światła.
- W niektórych przypadkach po dodaniu kwasu askorbinowego i amoniaku może wytrącać się osad. W tej sytuacji przed przystąpieniem do kolejnych czynności należy pozwolić na jego osadzenie się.
- 3.22. **Rozpuszczalniki rozwijające**
- 3.22.1. Aceton – chloroform – toluen (35:25:40 obj.)
- 3.22.2. Chloroform – cykloheksan – etanol absolutny – 25-procentowy amoniak (80:10:10:1 obj.)
- 3.22.3. Benzen – butan-2-ol – woda (50:25:25). Po rozdzieleniu w temperaturze pokojowej (20-25 °C), należy dobrze wstrząsnąć i zastosować górną fazę.
- 3.22.4. Butanol – chloroform – odczynnik M (7:70:23 obj.). Rozdzielać starannie, w temperaturze pokojowej (20-25°C) i stosować dolną fazę.

Przygotowanie odczynnika M:

25-procentowy (v/v) roztwór amoniaku	24 objętości
50-procentowy kwas podfosforawy (3.13)	1 objętość
woda	75 objętości

Uwaga

Rozpuszczalniki rozwijające zawierające amoniak bezpośrednio przed użyciem należy dobrze wstrząsnąć.

3.23. Wskaźniki wywołujące do rozpylania**3.23.1. Odczynnik do dwuazowania**

Przygotować 5-procentowy (m/v) roztwór wodny wybranego odczynnika (3.14). Roztwór ten należy przygotować bezpośrednio przed użyciem.

3.23.2. Odczynnik Ehrlicha

Rozpuścić 2 g p-dwumetyloaminobenzaldehydu (3.16) w 100 ml 10-procentowego (m/v) wodnego roztworu kwasu chlorowodorowego (3.19).

3.23.3. 2,5-dwumetylofenol - chlorek żelaza sześciowodny.

Roztwór1: rozpuścić 1 g dwumetylofenolu (3.17) w 100 ml 96-procentowego etanolu (3.3).

Roztwór 2: rozpuścić 4 g chlorku żelaza sześciowodnego (3.18) w 100 ml 96-procentowego etanolu (3.3).

Do wywoływania roztwory te należy rozpylać oddzielnie, najpierw roztwór 1, następnie roztwór 2.

3.23.4. Amoniakalny azotan srebra.

Do 5-procentowego (m/v) wodnego roztworu azotanu srebra (3.15) dodać 25-procentowy amoniak (3.4), aż do rozpuszczenia osadu.

Odczynnik ten musi zostać przygotowany bezpośrednio przed użyciem. Nie należy go przechowywać.

4. APARATURA**4.1. Stosuje się zwykle wyposażenie laboratoryjne do chromatografii cienkowarstwowej.****4.1.1. Osłona z tworzywa sztucznego lub szklana, skonstruowana tak, aby azot mógł opływać płytkę chromatograficzną podczas nanoszenia kropli próbek i suszenia. Ostrożność ta jest konieczna ze względu na podatność pewnych barwników na utlenianie.****4.1.2. Mikrostrzykawka 10-mikrolitrowa, kalibrowana, z podziałkami 0,2 µl, z okrągło zakończoną igłą, lub lepiej 50-mikrolitrowa, wielokrotny dozownik, zmontowany na statywie śrubowym w taki sposób, że płytka może być utrzymywana w atmosferze azotu.****4.1.3. Cienkowarstwowe płytki krzemionkowe gotowe do stosowania, o grubości 0,25 mm, o wymiarach 20 × 20 cm (firmy Macherey and Nagel, Silica G-HR, które mają podłoże ze sztucznego tworzywa, lub płytki równoważne).****4.2. Wirówka, 4000 obrotów/minuta.****4.3. Probówki do wirówki, 10-mililitrowe z korkiem gwintowym pokrytym PTFE lub probówki równoważne.****5. PROCEDURA****5.1. Przygotowanie próbek**

Odrzucić pierwsze 2 lub 3 cm kremu wyciśniętego z tuby.

W probówce wirówki (4.3), uprzednio przepłukanej azotem, umieścić: 300 mg kwasu askorbinowego, 3 g kremu lub 3 g homogenizowanego płynu.

Wkraplać 25-procentowy amoniak (3.4) do uzyskania pH 10. Uzupełnić 96-procentowym alkoholem etylowym (3.3) do 10 ml.

Homogenizować w atmosferze azotu (3.8), zamknąć i następnie wirować przy 4000 obrotów na minutę przez 10 minut.

Do analizy stosować ciecz znajdującą się na górze.

5.2. Chromatografia**5.2.1. Nanoszenie kropli na płytki**

W atmosferze azotu (3.8), nanieść na płytkę chromatograficzną (4.1.3) po 1 µl wszystkich opisanych powyżej roztworów odniesienia, w dziewięciu punktach, oddalonych od siebie o 1,5 cm, wzdłuż linii znajdującej się średnio 1,5 cm od krawędzi płytki.

Roztwory odniesienia należy rozmieścić następująco:

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

Dodatkowo nanieść w punktach 10 i 11 odpowiednio po 2 µl próbek badanych roztworów, otrzymanych zgodnie z opisem w sekcji 5.1.

Utrzymywać płytkę w atmosferze azotu, aż do chwili, kiedy zostanie poddana rozdzielni chromatograficznej.

5.2.2. Rozwijanie

Umieścić płytkę w komorze uprzednio przepłukanej azotem (3.8), nasyconej jednym z czterech rozpuszczalników (3.22) i pozostawić do rozwijania w temperaturze pokojowej (20-25°C) w ciemności, do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie wysokość około 15 cm od linii bazowej.

Wyjąć płytkę z komory i suszyć w atmosferze azotu (3.8), w temperaturze pokojowej.

5.2.3. Spryskiwanie

Spryskać płytkę bezzwłocznie jednym z czterech roztworów wymienionych w punkcie 3.23.

5.2.4. Identyfikacja

Porównać wartości R_f i barwy otrzymanych plam z tymi otrzymanymi dla substancji odniesienia poddanej chromatograficznemu rozdzielni.

Tabela I podaje przykłady wartości R_f i barwy dla każdej substancji, zależnie od stosowanych rozpuszczalników i użytych wskaźników wywołujących.

Potwierdzenie wątpliwej identyfikacji można czasem uzyskać metodą wzorca wewnętrznego, dodając roztwór odpowiedniej substancji odniesienia do ekstraktu próbki.

5.2.5. Ocena półilościowa

Porównać wizualnie intensywność plam dla każdej substancji identyfikowanej w punkcie 5.2.4 z odpowiednim zakresem stężeń substancji odniesienia.

Jeśli stężenie jednej lub kilku substancji znalezionych w próbce jest zbyt wysokie, rozcieńczyć ekstrakt próbki i powtórzyć pomiar.

TABELA I

Wartości R_f i barwy otrzymane bezpośrednio po spryskaniu.

Substancja odniesienia (3.20)	Rozpuszczalniki rozwijające				Rozpylane wskaźniki wywołujące			
	Wartości R_f				Otrzymane barwy			
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Dwuazowy (3.23.1)	Ehrlicha (3.23.2)	Dwumetylofenol (3.23.3)	AgNO ₃ (3.24.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	blado-brązowa	—	—	bladobrzązowa
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	fioletowo-brązowa ^(*)	żółta	bladobrzązowa	bladobrzązowa
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	brązowa	jasnoczerwona*	fioletowa	szara
OTO	0,60	0,60	0,53	0,60	brązowa ^(*)	bladopomarańczowa	bladobrzązowa	szarawobrzązowa
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	czerwonawobrzązowa ^(*)	żółta	brązowa	czarna
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	brązowa	pomarańczowa	fioletowa ^(*)	szara
DAP	0,07	—	0	0,05	brązowa ^(*)	pomarańczowa	fioletowa	brązowa
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	pomarańczowa	fioletowa	czarna ^(*)
a-N	0,90	0,80	0,90	0,75	pomarańczowo-brązowa	—	fioletowa fioletowa ^(*)	czarna
P	0,37	—	0,67	0,05	brązowa	bardzo lekko blado fioletowa	bardzo lekko bladobrzązowa	brązowa*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	pomarańczowa*	bladofioletowa	bardzo lekko bladobrzązowa	bladobrzązowa

Uwaga:

1. OPD jest słabo widoczna, należy użyć rozpuszczalnika (3.22.3), aby rozdzielić ją wyraźnie od OTD.

2. (*) Wskazuje najlepszą wywołaną barwę.

6. BADANIE METODĄ DWUKIERUNKOWEJ CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

Procedura chromatografii dwukierunkowej wymaga zastosowania dodatkowych wzorców i odczynników.

6.1. Dodatkowe roztwory i substancje odniesienia:6.1.1. β -naftol (B-N)

6.1.2. 2-aminofenol (OAP)

6.1.3. 3-aminofenol (MAP)

6.1.4. 4-aminofenol (PAP)

6.1.5. 2-nitro-1,4-fenylenodwuamina (2-NPPD)

6.1.6. 4-nitro-1,2-fenylenodwuamina (4-NOPD)

Przygotować 0,5-procentowe m/v roztwory wszystkich dodatkowych substancji odniesienia, według wskazówek przedstawionych w punkcie 3.21.

6.2. Dodatkowy rozpuszczalnik rozwijający

6.2.1. Octan etylu - cykloheksan - 25-procentowy roztwór amoniaku (65:30:0,5 obj.).

6.3. Dodatkowy układ wskaźnika wywołującego

Umieścić szklane naczynie w komorze do chromatografii cienkowarstwowej, dodać około 2 g kryształów jodu i zamknąć komorę odpowiednią pokrywką.

6.4. Chromatografia

- 6.4.1. Na powierzchni absorbentu płytki cienkowarstwowej (4.1.3) narysować dwie linie, tak jak pokazano na rysunku 1.
- 6.4.2. W atmosferze azotu (4.1.1) nanieść od 1 do 4 µl ekstraktu (5.1) w punkcie bazowym 1 (rys. 1), który znajduje się w odległości 2 cm od obu krawędzi. Ilość naniesionego ekstraktu zależy od intensywności plam na chromatogramach 5.2.
- 6.4.3. Między punktami 2 i 3 (rys. 1) rozdzielić barwniki utleniające, zidentyfikowane lub do identyfikacji, przez rozdział chromatograficzny 5.2 (odległość między punktami wynosi 1,5 cm). Nanosić po 2 µl wszystkich roztworów odniesienia, z wyjątkiem DAP, który trzeba nanieść w ilości 6 µl. Czynności należy wykonywać w atmosferze azotu (6.4.2).
- 6.4.4. Powtórzyć operację 6.4.3 w punktach bazowych 4 i 5 (rys. 1) i utrzymywać płytkę w atmosferze azotu, aż do chwili rozpoczęcia rozdziału chromatograficznego (odległość między punktami wynosi 1,5 cm).
- 6.4.5. Przepłukać komorę chromatograficzną azotem (3.8) i umieścić w niej odpowiednią ilość rozpuszczalnika rozwijającego 3.22.2. Umieścić płytkę (6.4.4) w komorze i rozwinąć ją w ciemności w pierwszym kierunku elucji (rys. 1) w ciemności.
- Eluować do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie linię zaznaczoną na płytce (około 13 cm).
- 6.4.6. Wyjąć płytkę z komory i umieścić ją w komorze chromatograficznej przepłukanej uprzednio azotem, co najmniej na 60 minut, w celu odparowania wymywanego rozpuszczalnika.
- 6.4.7. Przy pomocy kalibrowanej probówki wprowadzić do komory przepłukanej azotem (3.8) odpowiednią ilość rozpuszczalnika wymywanego (6.2), umieścić płytkę obróconą o 90° w komorze (6.4.6) i prowadzić rozdział chromatograficzny w drugim kierunku (również w ciemności) do chwili, kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie linię narysowaną na powierzchni absorbentu. Wyjąć płytkę z komory i odparować rozpuszczalnik wymywający na powietrzu.
- 6.4.8. Umieścić płytkę w komorze chromatograficznej z parami jodu (6.3) na 10 minut i interpretować dwukierunkowy chromatogram korzystając z wartości R_f i barw substancji odniesienia, rozdzielanych chromatograficznie w tym samym czasie (tabela II stanowi przewodnik po wartościach R_f i barwach).

Uwaga

W celu maksymalnego wybarwienia plam chromatogram należy pozostawić wystawiony na działanie powietrza na pół godziny po rozwinięciu.

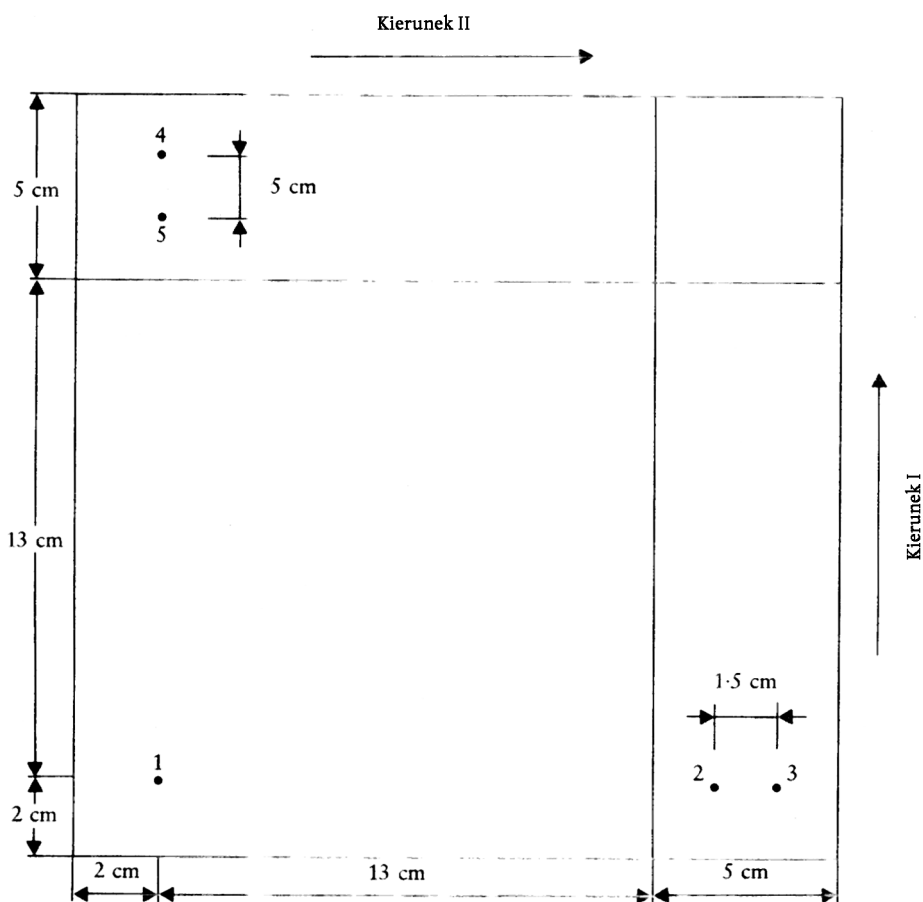
- 6.4.9. Obecność barwników utleniających stwierdzoną w punkcie 6.4.8 można ostatecznie potwierdzić przez powtórzenie czynności opisanych w punktach 6.4.1-6.4.8, oraz przez dodanie w 1 punkcie bazowym do ilości ekstraktu podanej w punkcie 6.4.2, 1 µl substancji odniesienia zidentyfikowanej w 6.4.8. Jeśli nie zostanie znaleziona dodatkowa plama w porównaniu z chromatogramem otrzymanym według punktu 6.4.8, interpretacja chromatogramu 6.4.8. jest prawidłowa.

TABELA II

Barwa substancji odniesienia po procesie chromatografii i wywołaniu parami jodu

Substancja odniesienia	Barwa po wywołaniu parami jodu
R	beżowa
P	brązowa
alfa-N	fioletowa
beta-N	bladobrązowa
H	fioletowo-brązowa
MPD	żółtawobrązowa
PPD	fioletowo-brązowa
MTD	ciemnobrązowa
PTD	żółtawobrązowa
DAP	ciemnobrązowa
OAP	pomarańczowa
MAP	żółtawobrązowa
PAP	fioletowo-brązowa
2-NPPD	brązowa
4-NOPD	pomarańczowa

Rysunek 1



III. IDENTYFIKACJA I OZNACZANIE AZOTYNÓW

A. IDENTYFIKACJA

1. CEL I ZAKRES

Metoda jest odpowiednia do identyfikowania azotynu w produktach kosmetycznych, szczególnie w kremach i pastach.

2. ZASADA

Na obecność azotynu wskazuje powstawanie barwnych pochodnych z fenylohydrazonem aldehydu 2-aminobenoesowego (Nitrin®).

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

3.1. Rozcieńczony kwas siarkowy: rozcieńczyć 2 ml stężonego kwasu siarkowego ($(d_4^{20} = 1,84) = 1,84$) w 11 ml destylowanej wody

3.2. Rozcieńczony kwas chlorowodorowy: rozcieńczyć 1 ml stężonego kwasu chlorowodorowego ($(d_4^{20} = 1,19) = 1,19$) w 11 ml destylowanej wody.

3.3. Metanol

3.4. Roztwór fenylohydrazonu aldehydu 2-aminobenoesowego (odczynnik Nitrin®) w metanolu.

Odważyć 2,0 g Nitrinu® i przenieść ilościowo do 100-mililitrowej kolby miarowej. Dodać kroplami 4 ml rozcieńzonego kwasu chlorowodorowego (3.2) i wstrząsnąć. Uzupełnić do kreski metanolem i mieszać do chwili, kiedy roztwór stanie się całkowicie przezroczysty. Przechowywać roztwór w brązowej szklanej butli (4.3).

4. APARATURA

4.1. Zlewki, 50 ml

4.2. Kolba miarowa, 100 ml

4.3. Butla z brązowego szkła, 125 ml

4.4. Płytki szklane, 10 × 10 cm

4.5. Łopatkę z tworzywa sztucznego

4.6. Bibuła filtracyjna, 10 × 10 cm

5. PROCEDURA

5.1. Rozsmarować część badanej próbki równomiernie na szklanej płytce (4.4), aby pokryć powierzchnię do grubości nie większej niż 1 cm.

5.2. Zanurzyć arkusz bibuły filtracyjnej (4.6) w wodzie destylowanej. Położyć bibułę na próbce i przycisnąć łopatką z tworzywa sztucznego (4.5).

5.3. Odczekać około jednej minuty i nanieść na środek bibuły filtracyjnej:

— krople rozcieńzonego kwasu siarkowego (3.1),

— następnie dwie krople roztworu Nitrinu® (3.4).

5.4. Po czasie od 5 do 10 sekund zdjąć bibułę filtracyjną i obejrzeć w świetle dziennym. Czerwonawopurpurowe zabarwienie wskazuje na obecność azotynu.

Jeśli zawartość azotynu jest niewielka, czerwonawopurpurowa barwa zmienia się w żółtą po upływie od 5 do 15 sekund. Jeżeli zawartość azotynu jest niska, zmiana barwy z czerwonawopurpurowej na żółtą następuje po upływie 15 sekund. Ta zmiana ma miejsce tylko po czasie od jednej do dwóch minut, w przypadku dużej zawartości azotynów.

6. UWAGA

Intensywność czerwonawopurpurowej barwy i czas, który upływa przed jej zmianą na żółtą, może być wskaźnikiem zawartości azotynu w próbce.

B. OZNACZANIE

1. CEL

Metoda opisuje oznaczanie azotynów w produktach kosmetycznych.

2. DEFINICJA

Zawartość azotynów w próbce oznaczona zgodnie z niniejszą metodą jest wyrażona w % masowych azotynu sodu.

3. ZASADA

Po rozcieńczeniu próbki wodą i wyklarowaniu roztworu azotan obecny w próbce poddany zostaje reakcji z sulfaniloamidem i N-1-naftyloetylenodwuaminą, a gęstość optyczną otrzymanej barwy oznacza się przy 538 nm.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Odczynniki klarujące: odczynniki te nie mogą być używane dłużej niż przez tydzień od momentu ich przygotowania.

4.1.1. Odczynnik I Carreza:

Rozpuścić 106 g 3'hydratu żelazocyjanku (II) potasowego $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ w wodzie destylowanej i rozcieńczyć wodą do 1000 ml.

4.1.2. Odczynnik II Carreza:

Rozpuścić 219,5 g octanu cynku $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ i 30 ml lodowatego kwasu octowego w wodzie destylowanej i rozcieńczyć wodą do 1000 ml.

4.2. Roztwór azotynu (ES) sodu:

Rozpuścić 0,500 g azotynu sodu w wodzie destylowanej w kolbie miarowej 1000-mililitrowej i rozcieńczyć wodą do kreski, rozcieńczyć 10,0 ml tego bazowego standardowego roztworu do 500 ml, 1 ml tego roztworu = 10 mikrogramów $NaNO_2$.

4.3. 1N roztwór wodorotlenku sodu

4.4. 0,2-procentowy chlorowodorek sulfaniloamidu:

Rozpuścić 2,0 g sulfaniloamidu w 800 ml wody przez ogrzewanie. Schłodzić i dodać 100 ml stężonego kwasu chlorowodorowego, równocześnie mieszając. Rozcieńczyć wodą do 1000 ml.

4.5. 5 N kwas chlorowodorowy

4.6. Odczynnik N-1- naftyl

Ten roztwór musi zostać przygotowany w dniu zastosowania. Rozpuścić 0,1 g dwuchlorowodoru N-1-naftyloetylenodwuaminy w wodzie i rozcieńczyć wodą do 100 ml.

5. APARATURA

5.1. Waga analityczna

5.2. Kolby miarowe o pojemności 100, 250, 500 i 1000 ml

5.3. Pipety ze zbiornikiem lub kalibrowane

- 5.4. Cylindry miarowe, 100 ml
- 5.5. Sączki filtracyjne karbowane o średnicy 15 cm, niezawierające azotynów
- 5.6. Łaźnia wodna
- 5.7. Spektrofotometr z naczynkami optycznymi o długości drogi optycznej 1 cm.
- 5.8. Pehametr
- 5.9. Mikrobiureta, 10 ml
- 5.10. Zlewki, 250 ml
6. PROCEDURA
- 6.1. Odważyć około 0,5 g (m gramów) homogenizowanej próbki, z dokładnością do 0,1 mg, przenieść za pomocą gorącej wody destylowanej ilościowo do 250 ml zlewki (5.10) i uzupełnić objętość gorącą wodą destylowaną do około 150 ml. Umieścić zlewkę (5.10) w łaźni wodnej (5.6) o temperaturze 80 °C na pół godziny. Podczas tego okresu od czasu do czasu wstrząsnąć zawartość.
- 6.2. Schłodzić do temperatury pokojowej i dodawać kolejno, równocześnie mieszając, 2 ml odczynnika I Carreza (4.1.1) i 2 ml odczynnika II Carreza (4.1.2).
- 6.3. Dodawać 1N roztwór wodorotlenku sodu (4.3), aż do uzyskania pH 8,3. (Używać pehametru (5.8)). Przenieść zawartość ilościowo do 250-mililitrowej kolby miarowej (5.2) i uzupełnić do kreski wodą destylowaną.
- 6.4. Wymieszać zawartość i przesączyć przez sączek karbowany (5.5).
- 6.5. Przenieść pipetą (5.3) odpowiednią podwielokrotność (V ml) klarownego filtratu, lecz nie więcej niż 25 ml, do 100-mililitrowej kolby miarowej (5.2) i dodać wodę destylowaną do objętości 60 ml.
- 6.6. Po zmieszaniu dodać 10,0 ml roztworu chlorowodoru sulfaniloamidu (4.4), a następnie 6,0 ml 5N roztworu kwasu chlorowodorowego (4.5). Wymieszać i pozostawić do odstania na pięć minut. Dodać 2 ml odczynnika N-1 naftylowego (4.6), wymieszać i pozostawić do odstania na trzy minuty. Rozcieńczyć wodą do kreski i wymieszać.
- 6.7. Przygotować ślepą próbę, powtarzając czynności 6.5 i 6.6, bez dodawania odczynnika N-1-naftylowego (4.6).
- 6.8. Zmierzyć za pomocą spektrofotometru (5.7) gęstość optyczną przy 538 nm roztworu otrzymanego według punktu 6.6, z zastosowaniem roztworu do ślepej próby (6.7) jako odniesienia.
- 6.9. Odczytać z wykresu kalibracyjnego (6.10) zawartość azotynu sodu w mikrogramach na 100 ml roztworu (m_1 mikrogramów), która odpowiada gęstości optycznej zmierzonej w punkcie 6.8.
- 6.10. Przygotować wykres kalibracyjny dla stężeń 0, 20, 40, 60, 80, 100 µg azotynu sodu w 100 ml, stosując roztwór azotynu sodu o stężeniu 10 µl na ml (4.2).
7. OBLICZENIE

Obliczyć zawartość azotynu sodu w procentach masowych, za pomocą następującego wzoru:

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

gdzie:

m = masa próbki pobranej do analizy w gramach (6.1),

m_1 = zawartość azotynu sodu w mikrogramach oznaczona w punkcie 6.9,

V = ilość mililitrów filtratu użytego do pomiaru (6.5).

8. POWTARZALNOŚĆ ⁽¹⁾

Dla zawartości około 0,2-procentowego m/m azotynu sodu różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,005 %.

IV. IDENTYFIKACJA I OZNACZANIE WOLNEGO FORMALDEHYDU

1. CEL I ZAKRES

Niniejsza metoda opisuje oznaczanie wolnego formaldehydu. Metoda może służyć do badania wszystkich produktów kosmetycznych i składa się z trzech części:

1.1. Identyfikacja

1.2. Ogólne oznaczanie metodą kolorymetryczną z pentano-2,4-dionem.

Tej metody nie stosuje się, jeśli używany formaldehyd jest związany lub polimeryzowany, tak jak w przypadku donorów formaldehydu. Jeżeli wynik przewyższa maksymalne dozwolone stężenie, należy zastosować poniższą metodę.

1.3. Oznaczanie wodorosiarczynem

W metodzie tej nie uwzględnia się formaldehydu w związkach najbardziej związanych czy polimerycznych. Niemniej jednak oznacza się niektóre łączenia nietrwale (np. heksametylenotetraminę). Ponadto w przypadku obecności roztworu buforowego pomiar zasadowości jest trudny do wykonania.

2. DEFINICJA

Zawartość wolnego formaldehydu w próbce oznaczona według tej metody jest wyrażona w procentach masowych.

3. ZASADA

3.1. Część I - Identyfikacja

Formaldehyd w środowisku kwasu siarkowego nadaje odczynnikowi Schiffa barwę różową lub fioletowo-różową.

3.2. Część II – Oznaczanie pentano-2,4-dionem

Formaldehyd reaguje z pentano-2,4-dionem, w obecności octanu amonu tworząc 3,5-dwuacetylo-1,4-dwuhydroksybutan-2-ol. Jest ona ekstrahowana butan-1-olem, a absorbancję ekstraktu mierzy się przy 410 nm.

⁽¹⁾ Patrz: norma ISO 5725.

3.3. Część III – Oznaczanie wodorosiarczynem

Formaldehyd reaguje z wodorosiarczynem w środowisku kwaśnym, przy temperaturze 0 °C, tworząc związek addycyjny. Nadmiar protonów oznacza się za pomocą miareczkowania wodorotlenkiem sodu. Zużyte protony stanowią podstawę obliczeń mających na celu oznaczenie ilości formaldehydu. Ślepa próba bez siarczynu umożliwia pomiar zasadowości lub kwasowości środowiska.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być czyste do analizy.

4.1. Kwas octowy lodowaty**4.2. Bezwodny octan amonu****4.3. Butan-1-ol****4.4. Kwas siarkowy, około 2N****4.5. Świeżo przygotowany 0,1 M roztwór siarczynu sodu****4.6. Odczynnik Shiffa 100 mg fuksyny odważa się do zlewki i rozpuszcza w 75 ml wody, w temperaturze 80 °C.**

Po schłodzeniu dodaje się 2,5 g siarczynu sodu siedmiowodnego ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) i 1,5 ml stężonego kwasu chlorowodorowego ($(d_{4}^{20} = 1,19) = 1,19$). Uzupełnia się wodą do 100 ml.

(Odczynnik nie nadaje się do użycia po upływie dwóch tygodni)

4.7. Odczynnik pentano-2,4-dion

W kolbie miarowej o pojemności 1000 ml rozpuścić:

150 g octanu amonu (4.2),

2 ml pentano-2,4-dionu, świeżo destylowanego pod zmniejszonym ciśnieniem – nie powinien wykazywać absorpcji przy 410 nm)

3 ml kwasu octowego lodowatego (4.1).

Uzupełnić wodą do 1000 ml (pH roztworu: około 6,4).

Odczynnik ten powinien być świeżo przygotowany.

4.8. Standardowy roztwór kwasu siarkowego, 0,1 N**4.9. Standardowy roztwór wodorotlenku sodu, 0,1 N****4.10. Roztwór jodu, 0,1 N****4.11. Tiosiarczan sodu, 0,1 N****4.12. Roztwór podstawowy formaldehydu**

Nalać 5 g 37–40-procentowego roztworu formaldehydu do 1000 ml kolby miarowej i uzupełnić do 1000 ml.

Oznaczyć stężenie tego roztworu w następujący sposób: pobrać 10,00 ml; dodać 25,00 ml standardowego roztworu jodu 0,1 N (4.10) i 10,00 ml roztworu wodorotlenku sodu 1N.

Pozostawić do odstania na pięć minut.

Dodać 11 ml HCl 1N, a nadmiar standardowego roztworu jodu 0,1N (4.10) oznaczyć przez miareczkowanie standardowym roztworem tiosiarczanu sodu (4.11), używając roztworu skrobi jako wskaźnika.

1 ml 0,1N roztworu jodu (4.10) odpowiada 1,5 mg formaldehydu.

4.13. Roztwór odniesienia formaldehydu

Przenieść za pomocą pipety 5,00 ml podstawowego roztworu (4.12) do 100-mililitrowej kolby pomiarowej i uzupełnić wodą demineralizowaną do 100 ml.

Przenieść za pomocą pipety 5,00 ml powyższego roztworu do 500-mililitrowej kolby pomiarowej i uzupełnić wodą demineralizowaną do 500 ml.

1 ml tego roztworu zawiera około 1 µg formaldehydu.

Obliczyć dokładną zawartość.

4.14. Roztwór tymoloftaleiny, 0,1 g/100 ml 50-procentowego alkoholu etylowego**4.15. Roztwór odczynnika odniesienia: tak jak w przypadku odczynnika 4.7, lecz bez pentano-2-4-dionu****5. APARATURA****5.1. Standardowe wyposażenie laboratoryjne.****5.2. Sączek do rozdzielania faz, bibuła Whatman 1PS (lub równoważna)****5.3. Wirówka**

- 5.4. Spektrofotometr
- 5.5. Naczynka szklane o długości ścieżki optycznej 1 cm.
- 5.6. Potencjometr z rejestratorem wykresu
- 5.7. Szklane/kalomelowe elektrody (zaleca się stosowanie specjalnych elektrod niskotemperaturowych).

6. PROCEDURA

6.1. Identyfikacja

- 6.1.1. Odważyć 2 g próbki analitycznej do 10-mililitrowej zlewki.
- 6.1.2. Dodać dwie krople 2N kwasu siarkowego (4.4) i 2 ml odczynnika Shiffa (4.6) (odczynnik w momencie zastosowania musi być całkowicie bezbarwny).

Wstrząsnąć i odstawić na pięć minut.
- 6.1.3. Jeżeli w ciągu pięciu minut pojawi się różowe lub purpurowo-różowe zabarwienie, formaldehyd występuje w nadmiarze wynoszącym 0,01 % i trzeba go oznaczyć według procedury 6.2 oraz, w razie konieczności, według procedury 6.3.

6.2. Oznaczanie za pomocą analizy kolorymetrycznej pentano-2,4-dionu

6.2.1. Roztwór próbki

- 6.2.1.1. W 100-mililitrowej kolbie miarowej zważyć z dokładnością do 0,001 g ilość (w mikrogramach) próbki analitycznej odpowiadającą przypuszczalnej zawartości formaldehydu, czyli około 150 mikrogramów.
- 6.2.1.2. Uzupełnić wodą demineralizowaną do 100 ml i wymieszać.
- 6.2.1.3. Do 50-mililitrowej kolby stożkowej Erlenmeyera dodać:
 - 10,00 ml roztworu z 6.2.1.2,
 - 5,00 ml odczynnika pentano-2,4-dionu (4.7),
 - wodę demineralizowaną do końcowej objętości 30 ml.

6.2.2. Roztwór odniesienia

Zastosowanie takiego roztworu odniesienia eliminuje możliwą interferencję, spowodowaną barwą tła w próbce analitycznej.

Do 50-mililitrowej kolby stożkowej Erlenmeyera dodać:

- 10,00 ml roztworu z 6.2.1.2,
- 5,00 ml roztworu odczynnika odniesienia (4.15),
- wodę demineralizowaną do końcowej objętości 30 ml.

6.2.3. Roztwór do próby ślepej

Do 50-mililitrowej kolby stożkowej Erlenmeyera dodać:

- 5,00 ml odczynnika pentano-2,4-dionu (4.7),
- wodę demineralizowaną do końcowej objętości 30 ml.

6.2.4. Oznaczanie

- 6.2.4.1. Wstrząsać mieszaniny z punktów 6.2.1.3, 6.2.2 i 6.2.3 i zanurzyć na dokładnie 10 minut w łaźni wodnej, w temperaturze 60 °C. Pozostawić do schłodzenia na dwie minuty w łaźni wodnej z lodem.

- 6.2.4.2. Przenieść mieszaniny do 50 ml rozdzielaczy zawierających po 10,00 ml butan-1-olu (4.3). Przepłukać każdą kolbę wodą w ilości 3-5 ml, a następnie dolać tę wodę do rozdzielaczy. Potrząsać energicznie mieszaniną przez dokładnie 30 sekund. Pozostawić do rozdzielenia.
- 6.2.4.3. Przesączyć do naczynek pomiarowych, przez sączek do rozdziału faz. Odwirowanie (5000 obrotów/min przez pięć minut) jest mniej praktyczne i dłużej trwa.
- 6.2.4.4. Zmierzyć gęstość optyczną A_1 ekstraktu roztworu próbki z 6.2.1.3 przy 410 nm w porównaniu z ekstraktem roztworu odniesienia 6.2.2.
- 6.2.4.5. Podobnie zmierzyć ekstrakt roztworu do ślepej próby z 6.2.3 w porównaniu z butan-1-olem (A_2).

Uwaga

Wszystkie czynności muszą być wykonane w ciągu 25 minut od chwili umieszczenia kolb stożkowych Erlenmeyera w łaźni wodnej o temperaturze 60 °C.

6.2.5. *Krzywa kalibracyjna*

- 6.2.5.1. W 50-mililitrowej kolbie stożkowej Erlenmeyera umieścić:

5,00 ml rozcieńczonego standardowego roztworu (4.13),

5,00 ml odczynnika pentano-2,4-dionu (4.7),

uzupełnić wodą demineralizowaną do końcowej objętości 30 ml.

- 6.2.5.2. Dalej postępować według wskazówek przedstawionych w 6.2.4.5, zmierzyć gęstość optyczną w porównaniu z butan-1-olem (4.3).

- 6.2.5.3. Powtórzyć operację z 10, 15, 20 i 25 ml roztworu standardowego.

- 6.2.5.4. Dla otrzymania wartości zerowej, postępować jak w punkcie 6.2.4.5.

- 6.2.5.5. Wykreślić krzywą kalibracyjną po odjęciu wartości zerowej (6.2.4.5) od każdej gęstości optycznej otrzymanej w 6.2.5.2 i 6.2.5.3. Prawo Beera obowiązuje do 30 µg formaldehydu.

6.3. **Oznaczanie wodorosiarczynem**

6.3.1. *Przygotowanie próbki analitycznej*

6.3.1.1. Test

W zważonej zlewce zważyć z dokładnością do 0,001 g ilość (m g) próbki analitycznej, odpowiadającą przypuszczalnej zawartości formaldehydu, czyli od 3-20 mg.

6.3.1.2. Test odniesienia

W podobny sposób zważyć analityczną próbkę odniesienia (m g).

6.3.2. *Oznaczanie*

- 6.3.2.1. Umieścić 50,00 ml 0,1 M siarczyny sodu (4.5) w 100-mililitrowej zlewce i dodać 10,00 ml 0,1 N kwasu siarkowego (4.8). Wstrząsnąć.

- 6.3.2.2. Zanurzyć zlewkę w mieszaninie lodu i soli w celu utrzymania temperatury całości na poziomie +2 °C. Zlać do próbki analitycznej 6.3.1.1.

- 6.3.2.3. Miareczkować bezzwłocznie potencjometrycznie 0,1N wodorotlenkiem sodu (4.9), nieustannie wstrząsając i utrzymując temperaturę pomiędzy +2 a +4 °C (punkt równoważnikowy znajduje się między pH 9 i 11). Jako V_1 oznaczamy objętość użytego 0,1N wodorotlenku sodu (4.9).

6.3.3. Ślepa próba

Zmiareczkować przygotowany dodatkowo roztwór, w sposób opisany w punkcie 6.3.2.1 i w warunkach przedstawionych w 6.3.2.

V_2 oznaczamy objętość użytego 0,1N wodorotlenku sodu (4.9).

6.3.4. Test odniesienia

Kwasowość lub zasadowość próbki oznacza się za pomocą miareczkowania potencjometrycznego 0,1N wodorotlenkiem sodu (4.9) lub 0,1N kwasem siarkowym (4.8) w próbce analitycznej „m”. Jako v' oznaczamy objętość użytego 0,1N wodorotlenku sodu lub kwasu siarkowego 0,1N.

6.3.5. Uwagi

Istotne jest dokładne przestrzeganie warunków testu.

Możliwe jest oznaczenie obecności tymoloftaleiny (4.14) jako wskaźnika.

7. PRZEDSTAWIENIE WYNIKÓW

7.1. Obliczenie dla metody kolorymetrycznej

7.1.1. Odjąć A_2 od A_1 i odczytać z krzywej kalibracyjnej (6.2.5.5) ilość C formaldehydu w mikrogramach w roztworze analizowanej próbki (6.2.1.3).

7.1.2. Obliczyć zawartość procentową formaldehydu w masie próbki (% m/m) według następującego wzoru:

$$\text{zawartość formaldehydu w \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2. Obliczenie dla metody miareczkowania wodorosiarczynem

Odnieść objętość 0,1N wodorotlenku sodu (4.9) lub 0,1N kwasu siarkowego (4.8) użytego do testu odniesienia do masy m :

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

Dla produktu obojętnego wartość v wynosi oczywiście zero.

7.2.1. W przypadku produktu kwasowego:

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

7.2.2. W przypadku produktu zasadowego:

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

7.3. Uwaga

Jeżeli wyniki dwóch metod różnią się od siebie, uwzględnia się tylko wartość niższą.

8. POWTARZALNOŚĆ ⁽¹⁾

W przypadku zawartości formaldehydu w ilości 0,2 % różnica w wynikach dwóch równoległych oznaczeń wykonanych na tej samej próbce w metodzie kolorymetrycznej nie może przekraczać 0,005 %, a w metodzie wodorosiarczynowej – 0,05 %.

⁽¹⁾ Patrz: norma ISO 5725.

V. OZNACZANIE REZORCYNY W SZAMPONACH I PŁYNACH DO WŁOSÓW

1. CEL I ZAKRES

Podaną metodą chromatografii gazowej oznacza się rezorcynę w szamponach i płynach do włosów. Metoda jest odpowiednia dla stężeń 0,1-2,0% w masie próbki.

2. DEFINICJA

Zawartość rezorcyny w próbce określona tą metodą jest wyrażana w procentach masowych.

3. ZASADA

Rezorcynę i 3,5-dwuhydroksytoluen (5-metylorezorcyna), dodawane jako standard wewnętrzny, wydziela się z próbki metodą chromatografii cienkowarstwowej. Oba związki są izolowane przez zdrapywanie ich plam z płytki cienkowarstwowej i ekstrahowanie metanolem. Na zakończenie ekstrahowane związki suszy się, siluluje i oznacza metodą chromatografii gazowej.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być czyste do analizy.

4.1. Kwas chlorowodorowy, 25 % (m/m)

4.2. Metanol

4.3. Etanol, 96 % (v/v)

4.4. Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej (TLC), pokryte żelą krzemionkowym, ze sztucznego tworzywa lub aluminiowe, ze wskaźnikiem fluorescencyjnym. Dezaktywację przeprowadza się w następujący sposób: spryskiwać wodą standardowe płytki, pokryte żelą krzemionkowym do chwili, gdy staną się szkliste. Pozostawić spryskane płytki do wyschnięcia w temperaturze pokojowej na jedną do trzech godzin.

Uwaga

Jeśli płytki nie zostaną dezaktywowane, mogą wystąpić straty rezorcyny na skutek nieodwracalnej adsorpcji na żelu krzemionkowym.

4.5. Roztwór rozwijający; aceton - chloroform - kwas octowy (20:75:5 obj.).

4.6. Standardowy roztwór rezorcyny: rozpuścić 400 mg rezorcyny w 100 ml 96-procentowego etanolu (4.3) (1 ml odpowiada 4000 µg rezorcyny).

4.7. Roztwór standardu wewnętrznego: rozpuścić 400 mg 3,5-dwuhydroksytolenu (DHT) w 100 ml 96-procentowego etanolu (4.3) (1 ml odpowiada 4000 µg DHT).

4.8. Mieszanina standardowa; zmieszać 10 ml roztworu 4.6 i 10 ml roztworu 4.7 w 100-mililitrowej kolbie miarowej, uzupełnić 96-procentowym etanolem (4.3) do kreski i wymieszać (1 ml odpowiada 400 µg rezorcyny i 400 µg DHT).

4.9. Środki sililujące:

4.9.1. N, O-bis-(trójmetylosililo)-trójfluoroacetamid (BSTFA)

4.9.2. Heksametylodwusilazan (HMDS)

4.9.3. Trójmetrylochlorosilan (TMCS).

5. APARATURA

5.1. Zwykłe wyposażenie do chromatografii cienkowarstwowej i gazowej

5.2. Szkło laboratoryjne

6. PROCEDURA

6.1. Przygotowanie próbeki

6.1.1. Zważyć dokładnie do 150-mililitrowej zlewki próbkę analityczną (m gramów) produktu, która zawiera około 20 do 50 mg rezorcyny.

6.1.2. Zakwaszać kwasem solnym (4.1) do momentu, kiedy mieszanina stanie się kwaśna (średnio potrzeba 2 do 4 ml), dodać 10 ml (40 mg DHT) roztworu standardowego wewnętrznego (4.7) i wymieszać. Przenieść do 100-mililitrowej kolby miarowej z etanolem (4.3), uzupełnić do kreski etanolem i wymieszać.

6.1.3. Nanieść 250 µl roztworu (6.1.2) na dezaktywowaną płytkę z żel krzemionkowym (4.4) w formie ciągłej linii o długości około 8 cm. Należy zadbać o to, aby linia była możliwie jak najwęższa.

6.1.4. Nanieść 250 µl mieszaniny standardowej (4.8) na tę samą płytkę, w taki sam sposób jak w punkcie (6.1.3).

6.1.5. Nakropić w dwóch punktach linii początkowej po 5 µl każdego z roztworów 4.6 i 4.7, w celu łatwiejszego umiejscowienia po rozwinięciu płytki.

6.1.6. Rozwijać płytkę w komorze pozbawionej podkładu (nienasyconej), wypełnionej rozpuszczalnikiem rozwijającym 4.5, do momentu, w którym czoło rozpuszczalnika osiągnie linię w odległości 12 cm od linii początkowej; zwykle trwa to około 45 minut. Wysuszyć płytkę na powietrzu i umiejscowić strefę rezorcyny/DHT w świetle nadfioletowym o krótkich falach (254 nm). Oba związki mają w przybliżeniu te same wartości R_f . Oznaczyć pasma ołówkiem, w odległości 2 mm od zewnętrznej linii brzegowej pasm. Usunąć te strefy z płytki i zebrać adsorbent z każdego pasma do kolby 10-mililitrowej.

6.1.7. Ekstrahować adsorbent zawierający próbkę i adsorbent zawierający mieszaninę standardową w następujący sposób:

dodać 2 ml metanolu (4.2) i ekstrahować przez godzinę, nieustannie mieszając. Przesączyć mieszaninę i powtórzyć ekstrakcję przez kolejne 15 minut z 2 ml metanolu.

6.1.8. Połączyć ekstrakty i odparować rozpuszczalnik, susząc przez noc w eksykatorze zawierającym odpowiedni środek suszący. Nie stosować ogrzewania.

6.1.9. Sililować pozostałości (6.1.8) stosownie do wskazówek w punktach 6.1.9.1 lub 6.1.9.2.

6.1.9.1. Dodać 200 µl BSTFA (4.9.1) mikrostrzykawką i pozostawić mieszaninę w zamkniętym naczyniu na 12 godzin, w temperaturze pokojowej.

6.1.9.2. Dodać kolejno 200 µl HMDS (4.9.2) i 100 µl TMCS (4.9.3) mikrostrzykawką i ogrzewać mieszaninę przez 30 minut, w temperaturze 60°C, w zamkniętym naczyniu. Mieszaninę schłodzić.

6.2. Chromatografia gazowa

6.2.1. Warunki chromatograficzne

Kolumna musi mieć zdolność rozdzielczą R równą lub większą niż 1,5, gdzie:

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

gdzie:

r_1 i r_2 = czasy retencji w minutach dwóch pików,

w_1 i w_2 = szerokość tych dwóch pików w połowie wysokości w mm,

d' = szybkość przesuwu papieru w mm na minutę.

Następujące kolumny i warunki chromatografii gazowej uznano za odpowiednie:

Kolumna	materiał:	stal nierdzewna
	długość:	200 cm
	średnica wewnętrzna:	~ 3
	wypełnienie:	10 % OV-17 na Chromosorbie WAW 100 do 120 oczek mm
Detektor płomieniowo-jonizacyjny		
Temperatury:		
	kolumna:	185 °C (izotermiczna)
	detektor:	250 °C
	dozownik:	250 °C
Gaz nośny:		azot
Przepływ:		45 ml/min.

Dla ustawienia przepływów wodoru i powietrza należy przestrzegać instrukcji producenta.

- 6.2.2. Wprowadzić strzykawką 1 do 3 µl roztworów otrzymanych w punkcie 6.1.9 do chromatografu gazowego. Wykonać pięć iniekcji dla każdego roztworu (6.1.9), zmierzyć powierzchnię pików, obliczyć średnią wartość i stosunek powierzchni pików: $S = \text{powierzchnia pików rezorcyny} / \text{powierzchnia pików DHT}$.

7. OBLICZENIE

Stężenie rezorcyny w próbce, w procentach masowych (% m/m), jest wyrażone wzorem:

$$\% \text{ (m/m) rezorcyny} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{próbki}}}{S_{\text{mieszaniny standardowej}}}$$

gdzie:

M = próbka analityczna w gramach (6.1.1),

$S_{\text{próbki}}$ = średni stosunek powierzchni pików według 6.2.2 dla roztworu próbki,

$S_{\text{mieszaniny standardowej}}$ = średni stosunek powierzchni pików według 6.2.2 dla mieszaniny standardowej.

8. POWTARZALNOŚĆ ⁽¹⁾

Dla zawartości rezorcyny około 0,5 % różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,025 %.

VI. OZNACZANIE METANOLU W STOSUNKU DO ETANOLU LUB PROPAN-2-OLU

1. CEL I ZAKRES

Metoda opisuje analizę metanolu metodą chromatografii gazowej we wszystkich produktach kosmetycznych (łącznie z aerozolowymi).

Oznaczać można względne poziomy stężenie 0-10 %.

2. DEFINICJA

Zawartość metanolu oznaczana tą metodą wyrażana jest w procentach masowych metanolu w stosunku do etanolu lub propan-2-olu.

3. ZASADA

Oznaczanie wykonuje się metodą chromatografii gazowej.

⁽¹⁾ Patrz: norma ISO 5725.

4. ODCZYNNIKI

Należy używać odczynników czystych do analizy.

4.1. Metanol

4.2. Absolutny etanol

4.3. Propan-2-ol

4.4. Chloroform, wolny od alkoholi poprzez przemyć wodą

5. APARATURA

5.1. Chromatograf gazowy:

z detektorem katarometrycznym dla próbek aerozoli,

z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym dla próbek nieaerozolowych.

5.2. Kolby miarowe, 100 ml

5.3. Pipety, 2 ml, 20 ml, 0-1 ml

5.4. Mikrostrzykawki 0 do 100 µl i 0 do 5 µl

oraz (tylko dla próbek aerozolowych) specjalne gazoszczelne strzykawki z zaworem suwakowym (patrz: procedura pobierania próbek, rysunek 5 (¹)).

6. PROCEDURA

6.1. Przygotowanie próbek

6.1.1. Probki wyrobów aerozolowych przygotowuje się zgodnie z przepisami rozdziału II załącznika do dyrektywy Komisji 80/1335/EWG z dnia 22 grudnia 1980 r (¹), a następnie poddaje się je analizie metodą chromatografii gazowej, w warunkach przedstawionych w punkcie 6.2.1.

6.1.2. Probki wyrobów nieaerozolowych, przygotowane zgodnie z wymienionym powyżej rozdziałem II, rozcieńcza się wodą do poziomu stężenia od 1 do 2 % etanolu lub propan-2-olu, a następnie poddaje się je analizie metodą chromatografii gazowej, w warunkach przedstawionych w punkcie 6.2.2.

6.2. Chromatografia gazowa

6.2.1. Dla próbek aerozolowych używa się detektora katarometrycznego.

6.2.1.1. Wypełnienie kolumny: 10 % Hallcomid M 18 na Chromosorbie WAW, 100 do 200 mesh.

6.2.1.2. Kolumna musi mieć zdolność rozdzielczą R równą lub większą niż 1,5, gdzie:

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

gdzie:

r_1 i r_2 = czasy retencji w minutach dla dwóch pików,

w_1 i w_2 = szerokość tych dwóch pików w połowie wysokości,

d' = szybkość przesuwu papieru w mm na minutę.

6.2.1.3. Na uzyskanie tej rozdzielczości pozwalają następujące warunki:

Kolumna	materiał:	stal nierdzewna
	długość:	3,5 metrów
	średnica:	3 mm
Natężenie prądu mostka katarometru		150 mA,

(¹) Dz.U. L 383 z 31.12.1980, str. 27.

Gaz nośny	hel
ciśnienie	2,5 bar
przepływ	45 ml/min
Temperatury:	
dozownik:	150 °C
detektor:	150 °C
piec kolumny:	65 °C

Dokładność pomiarów powierzchni pików można poprawić poprzez zastosowanie całkowania elektronicznego.

6.2.2. Dla próbek nieaerolizowanych:

6.2.2.1. Kolumnę wypełnia się: Chromosorb 105 lub Porapak QS, oraz stosuje się detektor płomieniowo-jonizacyjny.

6.2.2.2. Kolumna musi mieć zdolność rozdzielczą R równą lub większą niż 1,5 gdzie:

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

r_1 i r_2 = czasy retencji w minutach dla dwóch pików,

w_1 i w_2 = szerokości tych dwóch pików w połowie wysokości w mm,

d' = szybkość przesuwu papieru w mm na minutę.

6.2.2.3. Tę rozdzielczość uzyskano w następujących warunkach:

Kolumna:	materiał	stal nierdzewna
	długość:	2 metry
	średnica:	3 mm
Czułość elektrometru:		8×10^{-10} A

Gazy:

nośnik:	azot
ciśnienie:	2,1 bar
przepływ:	40 ml/min

Gaz pomocniczy:	wodór
ciśnienie:	1,5 bar
przepływ:	20 ml/min

Temperatury:	
dozownik:	150 °C
detektor:	230 °C
piec kolumny:	120-130 °C

7. STANDARDOWY WYKRES

7.1. W celu wykonania analizy metodą chromatografii gazowej według 6.2.1 (kolumna Hallcomid M 18) należy stosować poniższe mieszaniny standardowe. Mieszaniny przygotowuje się przez odmierzenie pipetami, lecz należy ustalić dokładną ilość składnika przez bezpośrednie zważenie pipety lub kolby po każdym dodaniu składnika.

Stężenie względne (m/m%)	Metanol (ml)	Etanol lub pro- pan-2-ol (ml)	Chloroform dodany do objętości (ml)
w przybliżeniu 2,5 %	0,5	20	100 ml
w przybliżeniu 5,0 %	1,0	20	100 ml
w przybliżeniu 7,5 %	1,5	20	100 ml
w przybliżeniu 10,0 %	2,0	20	100 ml

Wprowadzić 2 do 3 μ l do chromatografu, stosując warunki podane w punkcie 6.2.1.

Obliczyć stosunek powierzchni pików (metanol/etanol) lub (metanol/propan-2-ol) dla wszystkich mieszanin. Wykreślić standardowy wykres z użyciem oznaczeń:

oś X: % metanolu w stosunku do etanolu lub propan-2-olu,

oś Y: stosunek powierzchni pików (metanol/etanol) lub (metanol/propan-2-ol).

- 7.2. W celu wykonania analizy metodą chromatografii gazowej według punktu 6.2.2 (kolumna Porapak QS lub Chromosorb 105), należy stosować poniższe mieszaniny standardowe. Mieszaniny przygotowuje się przez odmierzenie mikrostrzykawką i pipetą, lecz należy ustalić dokładną ilość składnika przez bezpośrednie zważenie pipety lub kolby po każdym dodaniu składnika.

Stężenie względne (mm%)	Metanol (ml)	Etanol lub propan-2-ol (ml)	Woda dodana do objętości (ml)
w przybliżeniu 2,5 %	50	2	100 ml
w przybliżeniu 5,0 %	100	2	100 ml
w przybliżeniu 7,5 %	150	2	100 ml
w przybliżeniu 10,0 %	200	2	100 ml

Wprowadzić 2 do 3 μ l do chromatografu, stosując warunki podane w punkcie 6.2.2.

Obliczyć stosunek powierzchni pików (metanol/etanol) lub (metanol/propan-2-ol) dla wszystkich mieszanin. Wykreślić standardowy wykres z użyciem oznaczeń:

oś X: % metanolu w stosunku do etanolu lub propan-2-olu

oś Y: stosunek powierzchni pików (metanol/etanol) lub (metanol/propan-2-ol).

- 7.3. Standardowy wykres musi być linią prostą.

8. POWTARZALNOŚĆ ⁽¹⁾

Dla zawartości metanolu 5 % w stosunku do etanolu lub propan-2-olu, różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 0,25 %.

⁽¹⁾ Patrz: norma ISO 5725.