

31982L0434

30.6.1982

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV

L 185/1

**DRUHÁ SMERNICA KOMISIE****zo 14. mája 1982****o aproximácii právnych predpisov členských štátov, ktorá sa týka metód analýzy, ktoré sú potrebné na kontrolu zloženia kozmetických výrobkov**

(82/434/EHS)

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

v šampónoch a vlasových lotionoch a stanovenie metanolu v pomere k etanolu alebo propán-2-olu;

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho hospodárskeho spoločenstva,

keďže opatrenia ustanovené touto smernicou sú v súlade so stanoviskom Výboru pre prispôsobenie smernice 76/768/EHS technickému pokroku,

so zreteľom na smernicu Rady 76/768/EHS z 27. júla 1976 o aproximácii právnych predpisov členských štátov vzťahujúcich sa na kozmetické výrobky<sup>(1)</sup>, zmenenú a doplnenú smernicou Komisie 79/661/EHS<sup>(2)</sup>, najmä na jej článok 8 odsek 1,

PRIJALA TÚTO SMERNICU:

*Článok 1*

keďže smernica 76/768/EHS ustanovuje úradné testovanie kozmetických výrobkov s cieľom zabezpečiť, aby vyhovovali podmienkam ustanoveným opatreniami Komisie týkajúcimi sa zloženia kozmetických výrobkov;

Členské štáty podniknú všetky kroky nevyhnutné na zabezpečenie, aby počas úradného testovania kozmetických výrobkov:

— dôkaz oxidačných činidiel a stanovenie peroxidu vodíka vo výrobkoch vlasovej kozmetiky,

keďže všetky metódy analýzy majú byť čím skôr ustanovené; keďže prvý krok smerom k dosiahnutiu tohto zámeru už bol podniknutý definovaním niektorých metód analýzy v smernici Komisie 80/1335/EHS<sup>(3)</sup>, druhý stupeň spočíva v definovaní metód na dôkaz niektorých oxidačných činidiel a stanovenie peroxidu vodíka vo výrobkoch vlasovej kozmetiky, dôkaz a semikvantitatívne stanovenie určitých oxidujúcich sa farbív vo farbách na vlasy, dôkaz a stanovenie dusitanov, dôkaz a stanovenie voľného formaldehydu, stanovenie rezorcinolu

— dôkaz a semikvantitatívne stanovenie určitých oxidujúcich sa farbív vo farbách na vlasy,

— dôkaz a stanovenie dusitanov,

<sup>(1)</sup> Ú. v. ES L 262, 27.9.1976, s. 169.<sup>(2)</sup> Ú. v. ES L 192, 31.7.1979, s. 35.<sup>(3)</sup> Ú. v. ES L 383, 31.12.1980, s. 27.

— dôkaz a stanovenie voľného formaldehydu,

— stanovenie rezorcinolu v šampónoch a vlasových lotionoch,  
— stanovenie metanolu v pomere k etanolu alebo propán-2-  
olu  
sa uskutočňovali v súlade s metódami opísanými v prílohe.

#### Článok 2

Členské štáty prijímú zákony, iné právne predpisy a správne opatrenia potrebné na dosiahnutie súladu s touto smernicou do 31. decembra 1983.

Bezodkladne o tom informujú Komisiu.

#### Článok 3

Táto smernica je adresovaná členským štátom.

V Bruseli 14. mája 1982

*Za Komisiu*  
Karl-Heinz NARJES  
*člen Komisie*

## PRÍLOHA

**I. DÔKAZ OXIDAČNÝCH ČINIDIEL A STANOVENIE PEROXIDU VODÍKA VO VÝROBKOCH VLASOVEJ KOZMETIKY**

## Účel a oblasť použitia

Jodometrické stanovenie peroxidu vodíka v kozmetike je možné len v neprítomnosti ostatných oxidačných činidiel, ktoré vytvárajú jód z jodidov. V dôsledku toho je pred jodometrickým stanovením peroxidu vodíka potrebné detekovať a identifikovať každé iné prítomné oxidačné činidlo. Tento dôkaz pozostáva z dvoch fáz; prvá zahŕňa peroxosíran, bromičnan a peroxid vodíka a druhá peroxid bárnatý.

## A. DÔKAZ PEROXOSÍRANOV, BROMIČNANOV A PEROXIDU VODÍKA

## 1. PRINCÍP

Peroxosíran sodný, peroxosíran draselný a peroxosíran amónny; bromičnan draselný, bromičnan sodný a peroxid vodíka – aj ten, ktorý pochádza z peroxidu bárnateho – sa dokazujú zostupnou papierovou chromatografiou s použitím dvoch vyvíjacích rozpúšťadiel.

## 2. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

## 2.1. 0,5 % (hmotn.) vodné referenčné roztoky nasledovných zlúčenín:

2.1.1. Peroxosíran sodný.

2.1.2. Peroxosíran draselný.

2.1.3. Peroxosíran amónny.

2.1.4. Bromičnan draselný.

2.1.5. Bromičnan sodný.

2.1.6. Peroxid vodíka.

2.2. Vyvíjacie rozpúšťadlo A, 80 % (obj.) etanol.

2.3. Vyvíjacie rozpúšťadlo B, benzén – metanol – 3-metylbután-1-ol – voda (v obj. pomere 34:38:18:10)

2.4. Detekčné činidlo A, 10 % (hmotn.) vodný roztok jodidu draselného.

2.5. Detekčné činidlo B, 1 % (hmotn.) vodný roztok škrobu.

2.6. Detekčné činidlo C, 10 % (hmotn.) roztok kyseliny chlorovodíkovej.

2.7. 4 M roztok kyseliny chlorovodíkovej.

## 3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1. Chromatografický papier (Whatman č. 3 a č. 4 alebo ich ekvivalent)

3.2. Mikropipeta, 1 µl.

3.3. Odmerné banky, 100 ml.

3.4. Skladané filtre.

3.5. Vyvíjacia komora na zostupnú papierovú chromatografiu.

## 4. PRÍPRAVA VZORKY

## 4.1. Výrobky rozpustné vo vode

Z každej vzorky sa pripraví dva roztoky rozpustením jednotlivo 1 g a 5 g výrobku v 100 ml vody. Na papierovú chromatografiu opísanú v oddieli 5 sa použije 1  $\mu$ l každého z roztokov.

## 4.2. Výrobky málo rozpustné vo vode

4.2.1. Naváži sa 1 g a 5 g vzorky a disperguje sa v 50 ml vody, doplní sa v každom prípade vodou do 100 ml a premieša sa. Obe disperzie sa prefiltrujú cez skladaný filter (3.4.) a na uskutočnenie papierovej chromatografie opísanej v oddieli 5 sa použije 1  $\mu$ l každého z filtrátov.

4.2.2. Ešte raz sa pripraví dve disperzie z každej vzorky dispergovaním 1 g a 5 g v 50 ml vody, okyslí sa zriedenou kyselinou chlorovodíkovou (2.7), doplní sa vodou do 100 ml a premieša sa. Disperzie sa prefiltrujú cez skladaný filter (3.4.) a na uskutočnenie papierovej chromatografie opísanej v oddieli 5 sa použije po 1  $\mu$ l dvoch filtrátov.

## 4.3. Krémy

V 100 ml vody sa disperguje 5 g a 20 g každého výrobku a na uskutočnenie papierovej chromatografie opísanej v oddieli 5 sa použijú tieto disperzie.

## 5. METÓDA

5.1. Primerané množstvo rozpúšťadiel A (2.2.) a B (2.3.) sa dá do dvoch samostatných chromatografických vyvíjajúcich komôr na uskutočnenie zostupnej papierovej chromatografie.

5.2. Na štartovaciu čiaru pásu chromatografického papiera (Whatman č. 3 alebo jeho ekvivalent), dlhého 40 cm a širokého 20 cm (3.1.) alebo inej vhodnej veľkosti, sa naniesie 1  $\mu$ l jedného roztoku vzorky a jedného referenčného roztoku.

5.3. Tento pás chromatografického papiera (5.2) sa umiestni do chromatografickej vyvíjajúcej komory naplnenej rozpúšťadlom A (5.1) a nechá sa vyvíjať, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne 35 cm (asi 15 hodín).

5.4. S použitím ďalšieho pásu chromatografického papiera (Whatman č. 4 alebo jeho ekvivalent) (3.1) a vyvíjacieho rozpúšťadla B sa zopakuje postup opísaný v oddieloch 5.2 a 5.3. Chromatogram sa nechá vyvíjať, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne 35 cm (asi päť hodín).

5.5. Po vyvíjaní sa chromatogramy vyberú a vysušia sa na vzduchu.

5.6. Škvryny na chromatograme sa zviditeľnia ich postriekaním postupne s:

5.6.1. detekčným činidlom A (2.4), krátko na to nasledovaným detekčným činidlom B (2.5). Prvé sa na chromatograme objavia škvryny peroxosíranov, nasledované škvrynami peroxidu vodíka. Škvryny sa označia ceruzkou;

5.6.2. detekčným činidlom C (2.6) na chromatogram získaný podľa oddielu 5.6.1; prítomnosť bromičnanov sa preukáže sivastomodrými škvrynami na chromatograme.

5.7. Za vyššie uvedených podmienok vzťahujúcich sa na vyvíjacie rozpúšťadlá A (2.2) a B (2.3) sú  $R_f$  hodnoty referenčných látok (2.1) približne nasledovné:

	Vyvíjacie činidlo A (2.2.)	Vyvíjacie činidlo B (2.3.)
peroxosíran sodný	0,40	0,10
peroxosíran draselný	0,40	0,02 + 0,05
peroxosíran amónny	0,50	0,10 + 0,20
bromičnan draselný	0,40	0,20
bromičnan sodný	0,40	0,10 + 0,20
peroxid vodíka	0,80	0,80

## B. DŮKAZ PEROXIDU BÁRNATÉHO

## 1. PRINCÍP

Peroxid bárnatý sa dokáže na základe vzniku peroxidu vodíka po okyslení vzorky (A.4.2) a na základe prítomnosti bárnateho iónu:

- v neprítomnosti peroxosíranov (A) pridaním zriedenej kyseliny sírovej k časti kyslého roztoku vzorky (B.4.1) v dôsledku čoho sa vytvorí biela zrazenina síranu bárnateho. Prítomnosť bárnatých iónov vo vzorke (B.4.1) sa opäť potvrdí papierovou chromatografiou nižšie opísaným spôsobom (B.5),
- ak je súčasne prítomný peroxid bárnatý a peroxosírany (B.4.2), upravením zvyšku roztoku (B.4.2) na alkalický; po rozpustení v kyseline chlorovodíkovej sa prítomnosť bárnatých iónov potvrdí v roztoku taveniny (B.4.2.3) papierovou chromatografiou a/alebo vyzrážaním síranu bárnateho.

## 2. ČINIDLÁ

## 2.1. Metanol.

## 2.2. 36 % (hmotn.) koncentrovaná kyselina chlorovodíková.

## 2.3. 6 M kyselina chlorovodíková.

## 2.4. 2 M kyselina chlorovodíková.

## 2.5. Disodná soľ kyseliny rodizónovej.

2.6. Chlorid bárnatý ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).

## 2.7. Bezvodý uhličitan sodný.

## 2.8. 1 % (hmotn.) vodný roztok chloridu bárnateho.

## 2.9. Vyvíjacie rozpúšťadlo pozostávajúce z metanolu, koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej (36 % hmotn.) a vody (obj. pomer 80: 10: 10).

## 2.10. Detekčné činidlo, 0,1 % (hmotn.) vodný roztok disodnej soli kyseliny rodizónovej, čerstvo pripravený pred použitím.

## 3. PRÍSTROJE A POMÔCKY

3.1. Mikropipeta, 5  $\mu\text{l}$ .

## 3.2. Platinové tégly.

## 3.3. Odmerné banky, 100 ml.

## 3.4. Chromatografický papier Schleicher and Schull 2043 b alebo jeho ekvivalent. Papier sa prečistí vyvíjaním cez noc vo vyvíjacej zostupnej chromatografickej komore (A.3.5) obsahujúcej vyvíjacie rozpúšťadlo (B.2.9) a potom sa vysuší.

## 3.5. Skladaný filtračný papier.

## 3.6. Bežné zariadenie pre uskutočnenie vzostupnej papierovej chromatografie.

## 4. PRÍPRAVA VZORKY

## 4.1. Výrobky bez prítomnosti peroxosíranu

## 4.1.1. 2 g výrobku sa dispergujú v 50 ml vody a pH disperzie sa upraví kyselinou chlorovodíkovou (B.2.3) na približne 1.

4.1.2. Vodná disperzia sa prenesie do 100 ml odmernej banky, doplní sa vodou po značku a premieša sa. Táto disperzia sa použije na papierovú chromatografickú analýzu opísanú v oddieli 5 a na dôkaz bária vyzrážaním síranu.

#### 4.2. Výrobky obsahujúce peroxosírany

4.2.1. 2 g výrobku sa dispergujú v 100 ml vody a prefiltrujú sa.

4.2.2. K vysušenému zvyšku sa pridá sedem až 10-násobok jeho hmotnosti uhličitanu sodného (B.2.7), premieša sa a zmes sa taví v platinovom tégliku (B.3.2) počas pol hodiny.

4.2.3. Tavenina sa ochladí sa na laboratórnu teplotu a rozpustí sa v 50 ml vody a prefiltruje sa (B.3.5).

4.2.4. Zvyšok sa znova rozpustí v kyseline chlorovodíkovej (B.2.3) a doplní sa vodou do 100 ml. Tento roztok sa použije na papierovú chromatografickú analýzu opísanú v oddieli 5 a na dôkaz bária vyzrážaním síranu.

#### 5. METÓDA

5.1. Primerané množstvo vyvíjacieho rozpúšťača (B.2.9) sa umiestni do vyvíjacej komory pre vzostupnú papierovú chromatografiu a nádoba sa nechá nasýtiť parami rozpúšťača aspoň počas 15 hodín.

5.2. Na kus chromatografického papiera – predupraveného, ako je opísané v oddieli B.3.4 – sa naniesie po 5 µl každého z roztokov pripravených podľa oddielov B.4.1.2 a B.4.2.4 a referenčného roztoku B.2.8 na tri body na štartovacej čiare.

5.3. Škvrný vzorky a štandardu sa vysušia na vzduchu. Chromatogram sa vyvíja, kým čelo rozpúšťača nevystúpi 30 cm.

5.4. Chromatogram sa vyberie z vyvíjacej nádoby a vysuší sa na vzduchu.

5.5. Škvrný na chromatograme sa zviditeľnia postriekaním papiera detekčným činidlom B.2.10. V prítomnosti bária sa na chromatograme objavia červené škvrny s  $R_f$  hodnotou okolo 0,10.

### C. STANOVENIE PEROXIDU VODÍKA

#### 1. PRINCÍP

Jodometrické stanovenie peroxidu vodíka je založené na nasledovnej reakcii:



Konverzia prebieha pomaly, ale môže byť urýchlená pridaním molybdénanu amónneho. Vzniknutý jód sa stanoví titráciou tiosíranom sodným a zodpovedá obsahu peroxidu vodíka.

#### 2. DEFINÍCIA

Obsah peroxidu vodíka stanovený nižšie opísaným spôsobom sa vyjadří ako hmotnostné percento (% hmotn.) výrobku.

#### 3. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

3.1. 1 M kyselina sírová.

3.2. Jodid draselný.

3.3. Molybdénan amónny.

3.4. 0,1 M roztok tiosíranu sodného.

- 3.5. 10 % (hmotn.) roztok jodidu draselného, pripravený tesne pred použitím.
- 3.6. 20 % (hmotn.) roztok molybdénanu amónneho.
- 3.7. 1 % (hmotn.) roztok škrobu.
4. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 4.1. Kadičky, 100 ml.
- 4.2. Byreta, 50 ml.
- 4.3. Odmerné banky, 250 ml.
- 4.4. Odmerné valce, 25 a 100 ml.
- 4.5. Nedelené pipety, 10 ml.
- 4.6. Kužeľovité banky, 250 ml.
5. METÓDA
- 5.1. Do 100 ml kadičky sa naváži 10 g (m gramov) výrobku, obsahujúceho približne 0,6 g peroxidu vodíka. Obsah sa s vodou prenesie do 250 ml odmernej banky, doplní sa vodou po značku a premieša sa.
- 5.2. Do 250 ml kužeľovitej banky (4.6) sa napipetuje 10 ml roztoku vzorky (5.1) a jeden po druhom sa pridá 100 ml 1 M kyseliny sírovej (3.1), 20 ml roztoku jodidu draselného (3.5) a tri kvapky roztoku molybdénanu amónneho (3.6).
- 5.3. Vzniknutý jód sa ihneď titruje 0,1 M roztokom tiosíranu sodného (3.4) a tesne pred dosiahnutím koncového bodom titrácie sa pridá niekoľko mililitrov roztoku škrobu (3.7) ako indikátora. Zaznamená sa spotreba 0,1 M roztoku tiosíranu sodného (3.4) v mililitroch (V).
- 5.4. Spôsobom opísaným v oddieloch 5.2 a 5.3 sa uskutoční slepý pokus, kde sa 10 ml roztoku vzorky nahradí 10 ml vody. Zaznamená sa spotreba 0,1 M roztoku tiosíranu sodného na slepú titráciu ( $V_0$  ml).
6. VÝPOČET

Výpočet obsahu peroxidu vodíka vo výrobku v hmotnostných percentách i (% hmotn.) sa vypočíta pomocou nasledovného vzorca:

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

kde:

m = množstvo analyzovaného výrobku v gramoch (5.1),

$V_0$  = spotreba 0,1 M roztoku tiosíranu sodného pri slepom pokuse v mililitroch (5.4),

V = spotreba 0,1 M roztoku tiosíranu sodného pri titrácii roztoku vzorky v mililitroch (5.3).

7. OPAKOVATEĽNOSŤ <sup>(1)</sup>

Pri obsahu peroxidu vodíka okolo 6 % hmotn. nemá rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke presiahnuť v absolútnej hodnote 0,2 %.

<sup>(1)</sup> Pozri normu ISO 5725.

## II. DŮKAZ A SEMIKVANTITATIVNE STANOVENIE URČITÝCH OXIDUJÚCICH SA FARBÍV VO FARBÁCH NA VLASY

### 1. ÚČEL A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je vhodná na dôkaz a semikvantitatívne stanovenie nasledovných látok vo farbách na vlasy vo forme krému alebo kvapaliny:

Látky	Symbol
<i>Fenyléndiamíny</i>	
o-fenyléndiamín	(OPD)
m-fenyléndiamín	(MPD)
p-fenyléndiamín (príloha V)	(PPD)
<i>Metylfenyléndiamíny</i>	
4-metyl-1,2-fenyléndiamín (toluén-3,4-diamín)	(OTD)
4-metyl-1,3-fenyléndiamín (toluén-2,4-diamín)	(MTD)
2-metyl-1,4-fenyléndiamín (toluén-2,5-diamín)	(PTD)
<i>Diaminofenoly</i>	
2,4-diaminofenol	(DAP)
<i>Hydrochinón</i>	
benzén-1,4-diol	(H)
$\alpha$ -Naftol	( $\alpha$ N)
<i>Pyrogalol</i>	
benzén-1,2,3-triol	(P)
<i>Rezorcinol</i>	
benzén-1,3-diol	(R)

### 2. PRINCÍP

Oxidujúce sa farbivá sa extrahujú z farieb vo forme krému alebo kvapaliny pri pH 10 s 96 % etanolom a dokazujú sa tenkovrstvovou chromatografiou, či už jedno- alebo dvoj-rozmernou.

Pre semikvantitatívne stanovenie týchto látok sa chromatogramy vzoriek porovnávajú prostredníctvom štyroch vyvíjacích sústav, v ktorých sa vyvíjali chromatogramy referenčných látok v tom istom čase a za čo najbližších podmienok.

### 3. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

- 3.1. Etanol, bezvodý.
- 3.2. Acetón.
- 3.3. Etanol, 96 % obj.
- 3.4. Roztok amoniaku, 2 % ( $d_4^{20} = 0,91$ ) = 0,91 g/ml).



- 3.5. Kyselina L-(+)-askorbová.
- 3.6. Chloroform.
- 3.7. Cyklohexán.
- 3.8. Dusík, technický.
- 3.9. Toluén.
- 3.10. Benzén.
- 3.11. Bután-1-ol.
- 3.12. Bután-2-ol.
- 3.13. Kyselina fosforová, 50 % obj. roztok.
- 3.14. Diazóniové činidlo. Buď:
- 3-nitrobenzéndiazónium-chlórbenzénsulfonát (vo forme stabilizovanej soli) ako v Červenej 2 JN – Francolor,
  - alebo 2-chlór-3-nitrobenzéndiazónium-naftalénbenzoát (vo forme stabilizovanej soli) ako v činidle NNCD – katalógové číslo 74 150 FLUKA,
- alebo ich ekvivalent.
- 3.15. Dusičnan strieborný.
- 3.16. 4-(Dimetylamino)benzaldehyd.
- 3.17. 2,5-Dimetylfenol.
- 3.18. Hexahydrát chloridu železitého.
- 3.19. Kyselina chlorovodíková, 10 % hmotn. roztok.
- 3.20. **Referenčné látky**

Referenčné látky sú tie, ktoré sú uvedené v odstavci 1 „Účel a oblasť použitia“. V prípade aminoszlúčenín, referenčné látky musia byť vo forme ich hydrochloridu (mono- alebo di-) alebo ako voľné zásady.

3.21. **Referenčné roztoky, 0,5 % (hmotn.)**

Pripravujú sa 0,5 % (hmotn./objem) roztoky každej z referenčných látok v oddieli 3.20.

Do 10 ml odmernej banky sa naváži 50 mg ± 1 mg referenčnej látky.

Pridá sa 5 ml 96 % etanolu (3.3) a 250 mg kyseliny askorbovej (3.5).

Roztok sa pridaním roztoku amoniaku (3.4) upraví na alkalický s pH 10 (overí sa indikátorovým papierikom).

Pridá sa 10 ml 96 % etanolu (3.3) a premieša sa.

Roztoky môžu byť uchovávané jeden týždeň v chlade a bez prístupu svetla.

V niektorých prípadoch po pridaní kyseliny askorbovej a amoniaku môže dôjsť k vzniku zrazeniny. V tom prípade sa má pred pokračovaním nechať usadiť.

3.22. **Vyvíjacie rozpúšťadlá**

3.22.1. Acetón – chloroform – toluén (obj. diely 35: 25: 40)

3.22.2. Chloroform – cyklohexán – absolútny etanol- 25 % amoniak (obj. diely 80: 10: 10: 1).

3.22.3. Benzén – bután-2-ol – voda (obj. diely 50: 25: 25). Poriadne sa premieša a po oddelení pri laboratórnej teplote (20 až 25 °C) sa použije vrchná fáza.

3.22.4. Bután-1-ol – chloroform – činidlo M (obj. diely 7: 70: 23). Opatrne sa oddelí pri laboratórnej teplote (20 až 25 °C) a použije sa spodná fáza.

Príprava činidla M	
roztok amoniaku, 5 % (obj.)	24 obj. dielov
kyselina fosforová, 50 % (3.13)	1 obj. diel
voda	75 obj. dielov

#### Poznámka

Vyvíjacie rozpúšťadlá obsahujúce amoniak sa tesne pred použitím riadne premiešajú.

### 3.23. Detekčné činidlá

#### 3.23.1. Diazóniové činidlo

Prípraví sa 5 % (hmotn.) vodný roztok vybraného činidla (3.16) v 100 ml 10 % (hmotn.) vodného kyseliny chlorovodíkovej (3.19). Tento roztok sa musí vždy čerstvo pripraviť tesne pred použitím.

#### 3.23.2. Ehrlichovo činidlo

2 g p-(dimetylamino)benzaldehydu (3.16) sa rozpustia v 100 ml 10 % (hmotn.) vodného kyseliny chlorovodíkovej (3.19).

#### 3.23.3. 2,5-Dimetyfenol – hexahydrát chloridu železitého

Roztok 1: 1 g 2,5-dimetyfenolu (3.17) v 100 ml 96 % etanolu (3.3).

Roztok 2: 4 g hexahydrátu chloridu železitého (3.18) sa rozpustia v 100 ml 96 % etanolu (3.3).

Na zviditeľnenie škvrín sa týmito roztokmi postrekuje postupne, najprv roztokom 1, potom roztokom 2.

#### 3.23.4. Amoniakálny dusičnan strieborný

25 % amoniak (3.4) sa pridáva do 5 % (hmotn.) vodného roztoku dusičnanu strieborného (3.15), kým sa zrazenina práce nerozpustí. Toto činidlo sa musí pripraviť tesne pred použitím.

Neuchováva sa.

## 4. PRÍSTROJE A POMÔCKY

### 4.1. Bežné laboratórne vybavenie pre tenkovrstvovú chromatografiu.

4.1.1. Plastový alebo sklený kryt zostrojený tak, že chromatografická platňa je obklopená dusíkom počas vyvíjania škvrín a sušenia. Toto opatrenie je nevyhnutné z dôvodu náchylnosti určitých farbív na oxidáciu.

4.1.2. Mikrostriekačka, 10 µl, delená na 0,2 µl dieliky, s kolmo zrezanou ihlou alebo 50 µl viacnásobný dávkovač, pripevnený svorkou na stojan spôsobom, keď platňa môže byť udržiavaná pod dusíkom.

4.1.3. Silikagélkové tenkovrstvové platne, pripravené na použitie, 0,25 mm hrubé, s rozmermi 20 × 20 cm (Macherey and Nagel, silikagél G-HR na plastovej podložke alebo ich ekvivalent).

4.2. Centrifúga, 4 000 ot./min.

4.3. Centrifugačné kvety, 10 ml s PTFE vyloženými skrutkovacími uzávermi alebo ich ekvivalenty.

## 5. POSTUP

### 5.1. Spracovanie testovaných vzoriek

Prvé 2 až 3 cm krému vytlačeného z tuby sa odhodia.

Do centrifugačnej kvety (4.3) dopredu prefúknutej dusíkom sa vloží nasledovné: 300 mg kyseliny askorbovej s 3 g krému alebo 3 g homogenizovanej kvapaliny.

Po kvapkách sa pridá 25 % amoniak (3.4), kým pH nie je 10. Doplní sa 96 % etanolom (3.3) do 10 ml.

Zhomogenizuje sa po dusíkom (3.8), zazátkuje sa a odstreduje na centrifúge pri 4 000 ot./min. počas 10 min.

Použije sa kvapalnú supernatant.

## 5.2. Chromatografia

### 5.2.1. Nanesenie škvŕn na platne

Na chromatografickú platňu (4.1.3) sa pod dusíkovou atmosférou (3.8) nanesie 1  $\mu$ l každého z vyššie opísaných referenčných roztokov na deväť bodov umiestnených 1,5 cm od seba na čiare približne 1,5 cm od okraja platne.

Tieto škvŕny referenčných roztokov sa usporiadajú nasledovne.

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

Navyše, na body 10 a 11 sa nanesie po 2  $\mu$ l testovaných roztokov vzoriek získaných podľa oddielu 5.1.

Platňa sa uchováva po dusíkom (3.8) až do chvíle, kým sa bude vyvíjať.

### 5.2.2. Vyvíjanie

Platňa sa umiestni do vyvíjacej komory prečúknutej dusíkom (3.8), nasýtenej jedným zo štyroch vyvíjajúcich rozpúšťadiel (3.22) a nechá sa vyvíjať pri laboratórnej teplote (20 až 25 °C) v tme, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne 15 cm od štartovacej čiary.

Platňa sa vyberie a vysuší pod dusíkom (3.8) pri laboratórnej teplote.

### 5.2.3. Postriekanie

Platňa sa ihneď postrieka jedným zo štyroch roztokov špecifikovaných v 3.23.

### 5.2.4. Dôkaz

Porovnajú sa  $R_f$  hodnoty a farba škvŕn získaných zo vzorky so škvŕnami z chromatografovaných referenčných látok.

Tabuľka I udáva príklady  $R_f$  hodnôt a farieb pre každú látku v závislosti od použitého rozpúšťadla a detekčného činidla.

Potvrdenie nejednoznačnej identifikácie sa môže niekedy dosiahnuť klinovou metódou – pridaním príslušnej referenčnej látky do extraktu vzorky.

### 5.2.5. Semikvantitatívny odhad

Vizuálne sa porovná intenzita škvŕn pre každú látku identifikovanú v 5.2.4 v príslušnom rozsahu koncentrácií referenčných látok.

Ak je zistí, že koncentrácia jednej alebo viacerých látok je nadmerná, extrakt vzorky sa zriedi a stanovenie sa zopakuje.

TABULKA I

**R<sub>i</sub> hodnoty a farby škvŕn získaných ihneď po postriekaní**

Refe-renčná látka (3.20)	Vývíjacie rozpúšťadlo				Detekčné činidlá			
	R <sub>i</sub> hodnoty				Výsledné farby			
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Diazóniové (3.23.1)	Ehrlichove (3.23.2)	Dimetylphenol (3.23.3)	AgNO <sub>3</sub> (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	svetlohnedá	—	—	svetlohnedá
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	fialovo-hnedá (*)	žltá	svetlohnedá	svetlohnedá
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	hnedá	jasno červená(*)	fialová	sivá
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	hnedá (*)	svetlooranžová	svetlohnedá	sivasto hnedá
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	červenkasto-hnedá (*)	žltá	hnedá	čierna
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	hnedá	oranžová	fialová (*)	sivá
DAP	0,07	—	0	0,05	hnedá (*)	oranžová	fialová	hnedá
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	oranžová	fialová	čierna (*)
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	oranžovo-hnedá	—	fialová (*)	čierna
P	0,37	—	0,67	0,05	hnedá	fialovkastá	nahnedkastá	hnedá (*)
R	0,50	0,37	0,80	0,17	oranžová (*)	svetlofialová	nahnedkastá	svetlohnedá

## Poznámky

- OPD sa málo výrazne prejavuje; musí sa použiť rozpúšťadlo (3.22.3), aby sa jasne oddelil od OTD.
- (\*) Označuje najlepšie vyvinutú farbu.

## 6. PRESKÚMANIE DVOJROZMERNOU TENKOVRSŤOVOU CHROMATO-GRAFIU

Pre tento postup pre dvojrozmernú chromatografiu sú potrebné prídavné štandardy a činidlá.

## 6.1. Prídavné referenčné roztoky a látky

- 6.1.1. Naftalén-2-ol (β-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-fenyléndiamín (2-NPPD).
- 6.1.6. 4-Nitro-1,2-fenyléndiamín (2-NPPD).

Prípravia sa 0,5 % (hmotn.) roztoky každej z prídavných referenčných látok spôsobom opísaným v 3.21.

## 6.2. Prídavné vývíjacie rozpúšťadlo

- 6.2.1. Etyl-acetát – cyklohexán – 25 % roztok amoniaku (obj. diely 65: 30: 0,5).

## 6.3. Prídavná detekčná sústava

Do vývíjacej komory pre tenkovrstvovú chromatografiu sa umiestni sklenená nádoba, do nej sa dajú asi 2 g kryštalického jódu a vývíjacia komora sa uzavrie primeraným uzáverom.

**6.4. Chromatografia**

- 6.4.1. Na povrch adsorbentu tenkovrstvovej platne (4.1.3) sa nakreslia dve čiary, ako je zobrazené na obr. 1.
- 6.4.2. Pod dusíkovou atmosférou (4.1.1) sa na základný bod 1 (obr. 1), asi 2 cm od oboch okrajov, nanesú 1 až 4  $\mu\text{l}$  extraktu (5.1) Množstvo extraktu závisí od intenzity škvrn na chromatogramoch 5.2.
- 6.4.3. Medzi body 2 a 3 (obr. 1) rozdelia oxidujúce sa farbivá, indentifikované alebo predpokladane identifikované v bode 5.2 (so vzdialenosťou medzi bodmi 1,5 cm). Nanesú sa 2  $\mu\text{l}$  príslušných referenčných roztokov – okrem DAP, ktorého sa musí naniesť 6  $\mu\text{l}$ . Táto operácia sa robí pod dusíkom (6.4.2).
- 6.4.4. Operácia v 6.4.3 sa zopakuje na základných bodoch 4 a 5 (obr. 1) a platňa sa uchováva pod dusíkom až do chvíle, kým sa bude vyvíjať (vzdialenosť medzi bodmi 1,5 cm).
- 6.4.5. Chromatografická vyvíjacia komora sa prefúkne dusíkom (3.8) a naleje sa do nej primerané množstvo vyvíjacieho rozpúšťadla 3.2.2.2. Platňa (6.4.4) sa umiestni do vyvíjacej komory a nechá sa vyvíjať v prvom elučnom smere (obr. 1) v tme.  
Eluuje sa, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne čiaru vyznačenú na platni (približne 13 cm).
- 6.4.6. Platňa sa vyberie z vyvíjacej komory a umiestni sa do chromatografickej vyvíjacej komory dopredu prefúknuť dusíkom, aby sa odparilo rozpúšťadlo a to aspoň na 60 minút.
- 6.4.7. Pomocou delenej skúmavky sa do vyvíjacej komory prefúknuť dusíkom (3.8) sa umiestni primerané množstvo elučného rozpúšťadla (6.2), do vyvíjacej komory (6.4.6) sa umiestni platňa pootočená o  $90^\circ$  a nechá sa vyvíjať druhým elučným smerom (tiež v tme), kým čelo rozpúšťadla nedosiahne čiaru nakreslenú na povrchu adsorbentu. Platňa sa vyberie z vyvíjacej komory a elučné rozpúšťadlo sa nechá odpariť na vzduchu.
- 6.4.8. Platnička sa na 10 minút umiestni do chromatografickej vyvíjacej komory s parami jódu (6.3) a dvojrozmerný chromatogram sa interpretuje na základe  $R_f$  hodnôt a farby škvrn súčasne chromatografovaných referenčných látok (tab. 2 udáva prehľad  $R_f$  hodnôt a farieb).

*Poznámka*

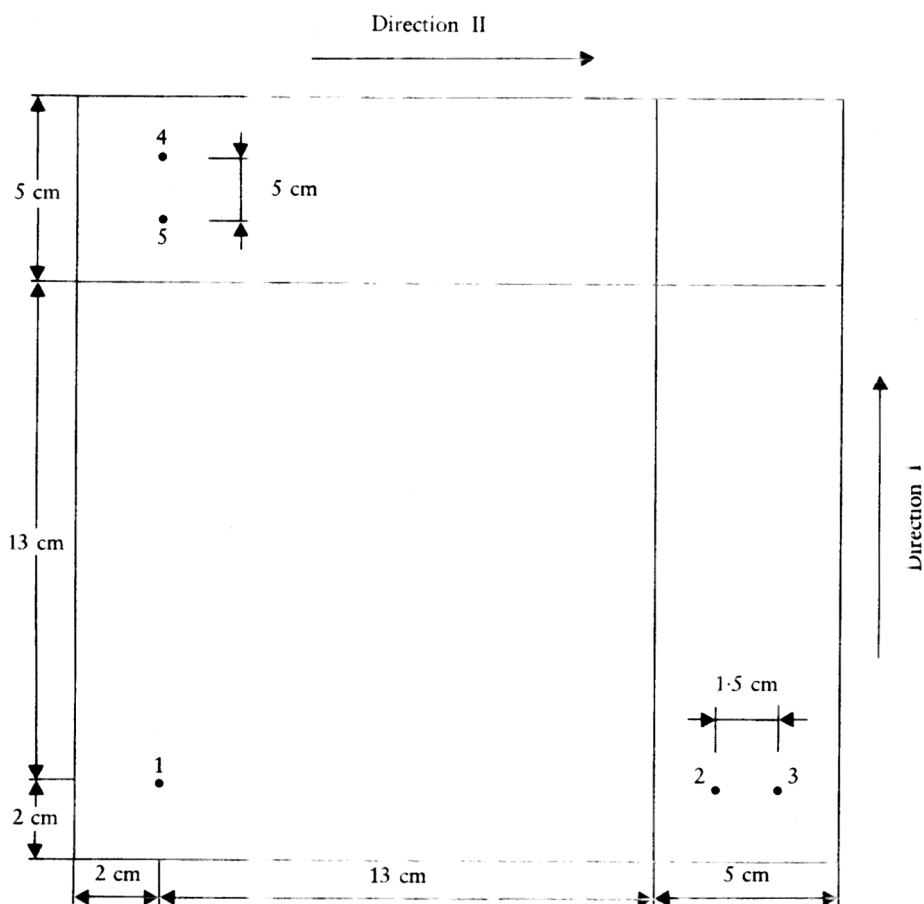
Na získanie maximálneho vyfarbenia škvrn sa chromatogram nechá na vzduchu pol hodiny po vyvolaní.

- 6.4.9. Prítomnosť oxidujúcich sa farbív zistených v 6.4.8 môže byť definitívne potvrdená zopakovaním operácií opísaných v 6.4.1 až 6.4.8 a pridaním na základný bod 1 na škvrnu množstva extraktu uvedeného v 6.4.2 ešte 1  $\mu\text{l}$  referenčnej látky identifikovanej v 6.4.8. Ak sa pri porovnaní s chromatogramom získaným v 6.4.8 nenájde žiadna ďalšia škvrna, interpretácia chromatogramu 6.4.8 je správna.

TABUĽKA II  
Farby škvŕn referenčných látok po chromatografii a vyvolaní v parách jódu

Referenčná látka	Farba po vyvolaní v parách jódu
R	běžová
P	hnedá
$\alpha$ N	fialová
$\beta$ N	svetlohnedá
H	fialovohnedá
MPD	žltkastohnedá
PPD	fialovohnedá
MTD	tmavohnedá
PTD	žltkastohnedá
DAP	tmavohnedá
OAP	oranžová
MAP	žltkastohnedá
PAP	fialovohnedá
2NPPD	hnedá
4NOPD	oranžová

Obrázok 1



## III. DÔKAZ A STANOVENIE DUSITANOV

## A. DÔKAZ

## 1. ÚČEL A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je vhodná na dôkaz dusitanov v kozmetických výrobkoch, predovšetkým v krémoch a pastách.

## 2. PRINCÍP

Prítomnosť dusitanov sa indikuje vznikom farebných derivátov reakciou s 2-aminobenzaldehyd-fenylhydrazónom (Nitrin<sup>®</sup>).

## 3. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

3.1. Zriedená kyselina sírová: 1 ml koncentrovanej kyseliny sírovej ( $d_4^{20} = 1,84$ ) = 1,84 g/ml) sa zriedi 11 ml destilovanej vody.

3.2. Zriedená kyselina chlorovodíková: 1 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej ( $d_4^{20} = 1,19$ ) = 1,19 g/ml) sa zriedi 11 ml destilovanej vody.

3.3. Metanol.

3.4. Roztok 2-aminobenzaldehyd-fenylhydrazónu (činidla Nitrin<sup>®</sup>) v metanole.

Naváži sa 2,0 g Nitrinu<sup>®</sup> a kvantitatívne sa prenesie do 100 ml odmernej banky. Po kvapkách sa pridajú 4 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej (3.2) a premieša sa. Doplní sa metanolom po značku a mieša sa, kým sa roztok úplne nevyčíri. Roztok sa uschová vo fľaši z tmavého skla.

## 4. PRÍSTROJE A POMÔCKY

4.1. Kadičky, 50 ml.

4.2. Odmerná banka, 100 ml.

4.3. Fľaša z tmavého skla, 125 ml.

4.4. Sklená platnička, 10 × 10 cm.

4.5. Plastová špachtľa.

4.6. Filtračný papier, 10 × 10 cm.

## 5. POSTUP

5.1. Časť vzorky určená na analýzu sa rovnomerne rozmiestni na povrchu sklenej platničky (4.4) tak, aby pokryla plochu vrstvou s hrúbkou nepresahujúcou 1 cm.

5.2. Filtračný papier sa (4.6) sa namočí destilovanou vodou. Položí sa na vzorku a filtračný papier sa popritláča plastovou špachtľou (4.5).

5.3. Počká sa asi jednu minútu a do stredu filtračného papiera sa nanesú:

— dve kvapky zriedenej kyseliny sírovej (3.1),

— nasledované dvoma kvapkami roztoku Nitrin-u<sup>®</sup> (3.4).

5.4. Po piatich až desiatich sekundách sa filtračný papier sníme a preskúma sa na dennom svetle. Prítomnosť dusitanov sa prejaví červenkastopurpurovým sfarbením.

V prípade nízkeho obsahu dusitanov sa červenkastopurpurové sfarbenie zmení po piatich až 15 sekundách na žlté. K tejto farebnej zmene dôjde až po jednej až dvoch minútach, ak bol obsah dusitanov vysoký.

#### 6. POZNÁMKA

Intenzita červenkastopurpurového sfarbenia a čas, ktorý uplynie do jeho zmeny na žlté môže poskytnúť informáciu o obsahu dusitanov vo vzorke.

### B. STANOVENIE

#### 1. ÚČEL

Táto metóda opisuje stanovenie dusitanov v kozmetických výrobkoch.

#### 2. DEFINÍCIA

Obsah dusitanov vo vzorke, stanovený touto metódou, sa vyjadrí v hmotnostných % dusitanu sodného.

#### 3. PRINCÍP

Po zriedení vzorky vodou a jej vyčírení, prítomné dusitany reagujú so sulfanilamidom a N-(1-naftyl)etyléndiamínom a intenzita získaného sfarbenia sa meria pri 538 nm.

#### 4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

##### 4.1. Číriace činidlá: tieto činidlá nemôžu byť použité dlhšie ako jeden týždeň od ich prípravy.

##### 4.1.1. Carrezovo činidlo I:

106 g hexakynoželeznanu draselného,  $K_4Fe(KN)_6 \cdot 3H_2O$ , sa rozpustí v destilovanej vode a zriedi sa vodou do 1 000 ml.

##### 4.1.2. Carrezovo činidlo II:

219,5 g octanu zinočnatého,  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  a 30 ml ľadovej kyseliny octovej sa rozpustí v destilovanej vode a zriedi sa vodou do 1 000 ml.

##### 4.2. Roztok dusitanu sodného:

V 1 000 ml odmernej banke sa v destilovanej vode rozpustí 0,500 g dusitanu sodného sa a zriedi sa vodou po značku. 10,0 ml tohto zásobného štandardného roztoku sa zriedi do 500 ml; 1 ml takéhoto roztoku = 10 mikrogramov  $NaNO_2$ .

##### 4.3. 1 M roztok hydroxidu sodného.

##### 4.4. 0,2 % roztok hydrochloridu sulfanilamidu.

Za tepla sa rozpustí 2,0 g sulfanilamidu v 800 ml vody. Ochladí sa a za miešania pridá sa 100 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej. Zriedi sa vodou do 1 000 ml.

##### 4.5. 5 M kyselina chlorovodíková.

##### 4.6. N-1-naftylové činidlo

Tento roztok musí byť pripravený v deň jeho použitia. 0,1 g dihydrochloridu N-(1-naftyl)etyléndiamínu sa rozpustí vo vode a zriedi sa vodou do 100 ml.

#### 5. PRÍSTROJE A POMÔCKY

##### 5.1. Analytické váhy.

##### 5.2. 100, 250, 500 a 1 000 ml odmerné banky.

##### 5.3. Nedelené alebo delené pipety.



- 5.4. 100 ml odmerné valce.
- 5.5. Skladané filtračné papiere, bez dusitanov, s priemerom 15 cm.
- 5.6. Vodný kúpeľ.
- 5.7. Spektrofotometer s kyvetami s optickou dráhou dlhou 1 cm.
- 5.8. pH meter.
- 5.9. 10 ml mikrobyreta.
- 5.10. 250 ml kadičky.
6. POSTUP
  - 6.1. S presnosťou na 0,1 mg sa naváži približne 0,5 g (m gramov) homogenizovanej vzorky, s horúcou destilovanou vodou sa kvantitatívne preniesie do 250 ml kadičky (5.10) a objem sa doplní horúcou destilovanou vodou približne na 150 ml. Kadička (5.10) sa umiestni vodného kúpeľa (5.6) pri 80 °C na pol hodiny. Počas zahrievania sa občas pretrepe.
  - 6.2. Ochladí sa na laboratórnu teplotu a jeden po druhom sa za miešania pridajú 2 ml Carrezovho činidla I (4.1.1) a 2 ml Carrezovho činidla II (4.1.2).
  - 6.3. Na úpravu pH na 8.3 sa pridá 1 M roztok hydroxidu sodného (4.3) (s použitím pH metra (5.8)). Obsah sa kvantitatívne preniesie do 250 ml odmernej banky a doplní sa destilovanou vodou po značku.
  - 6.4. Obsah sa premieša a prefiltruje cez skladaný filtračný papier (5.5).
  - 6.5. Do 100 ml odmernej banky (5.2) sa pipetou (5.3) preniesie primeraný podiel (V ml) číreho filtrátu, ale nie viac ako 25 ml a pridá sa destilovaná voda do objemu 60 ml.
  - 6.6. Po premiešaní sa pridá 10,0 ml roztoku hydrochloridu sulfanilamidu (4.4) a potom 6,0 ml 5 M kyseliny chlorovodíkovej (4.5). Premieša sa a nechá sa stáť päť minút. Pridajú sa 2,0 ml N-1-naftylového činidla (4.6), premieša sa a nechá sa stáť tri minúty. Zriedi sa vodou po značku a premieša sa.
  - 6.7. Zopakovaním operácií 6.5 a 6.6 bez pridania N-1-naftylového činidla (4.6) sa pripraví slepý pokus.
  - 6.8. Pri 538 nm sa zmeria (5.7) absorbanca roztoku získaného pod 6.6 s použitím slepého pokusu (6.7) ako štandardu.
  - 6.9. Z kalibračného grafu (6.10) sa odčíta obsah dusitanu sodného v mikrogramoch na 100 ml roztoku ( $m_1$  mikrogramov), ktorý zodpovedá absorbancii nameranej v 6.8.
  - 6.10. S použitím roztoku obsahujúceho 10 µg dusitanu sodného na 100 ml (4.2) sa pripraví kalibračný graf s koncentraciami 0, 20, 40, 60, 80 a 100 µg dusitanu sodného na 100 ml.
7. VÝPOČET

Obsah dusitanu sodného vo vzorke v hmotnostných percentách sa vypočíta pomocou nasledovného vzorca:

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

kde:

$m$  = hmotnosť vzorky v gramoch, vzatej na analýzu (6.1),

$m_1$  = obsah dusitanu sodného v mikrogramoch, zisteného v 6.9,

$V$  = počet mililitrov filtrátu použitého na meranie (6.5).

#### 8. OPAKOVATELNOSŤ <sup>(1)</sup>

Pri obsahu dusitanu sodného okolo 0,2 % hmotn. nemá rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke presiahnuť v absolútnej hodnote 0,005 %.

### IV. DÔKAZ A STANOVENIE VOLNÉHO FORMALDEHYDU

#### 1. ÚČEL A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje dôkaz a stanovenie voľného formaldehydu. Je použiteľná na všetky typy kozmetických výrobkov a pozostáva z troch častí:

##### 1.1. Dôkaz

##### 1.2. Stanovenie s pentán-2,4-diómom kolorimetricky

Táto metóda je nevhodná, ak je formaldehyd viazaný v zlúčeninách alebo polymerizovaný, ako je to v prípade donorov formaldehydu. Ak obsah prevyšuje maximálnu povolenú koncentráciu, musí sa použiť nasledovná metóda.

##### 1.3. Stanovenie s hydrogensiričitanom

Pri tejto metóde väčšina formaldehydu viazaného v zlúčeninách alebo polymerizovaného nie je zahrnutá vo výsledku. Avšak stanoví sa z niektorých menej stálych zlúčenín (napríklad z hexametylétetramínu). Navyše meranie alkalinity je obtiažne v prítomnosti tlmivého roztoku.

#### 2. DEFINÍCIA

Obsah voľného formaldehydu vo vzorke sa stanoveného podľa tejto metódy sa vyjadří v hmotnostných percentách.

#### 3. PRINCÍP

##### 3.1. I. časť – dôkaz

Formaldehyd v prostredí kyseliny sírovej zmení farbu Schiffovho činidla na ružovú alebo svetlofialovú.

##### 3.2. II. časť – stanovenie s pentán-2,4-diómom

Formaldehyd reaguje s pentán-2,4-diómom v prítomnosti octanu amónneho za vzniku 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidínu. Tento sa extrahuje bután-1-olom a meria sa absorbanca extraktu pri 410 nm.

<sup>(1)</sup> Pozri normu ISO 5725.

**3.3. III. časť – stanovenie s siričitanom**

Formaldehyd reaguje v kyslom prostredí pri 0 °C so siričitanmi za vzniku adičnej zlúčeniny. Nadbytok protónov sa titruje hydroxidom sodným. Spotrebované protóny tvoria základ pre výpočet na stanovenie množstva formaldehydu. Slepý pokus bez siričitanu umožňuje meranie alkalinity alebo kyslosti prostredia.

**4. ČINIDLÁ**

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Ladová kyselina octová.

4.2. Bezzvodý octan amónny.

4.3. Bután-1-ol.

4.4. Kyselina sírová, približne 1 M.

4.5. Čerstvo pripravený 0,1 M roztok siričitanu sodného.

4.6. Schiffovo činidlo: do kadičky sa naváži 100 mg fuchsínu a rozpustí sa v 75 ml vody pri 80 °C.

Po ochladení sa pridá 2,5 g heptahydrátu siričitanu sodného ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ) a 1,5 ml koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej ( $d_4^{20} = 1,19$ ) = 1,19 g/ml). Doplňuje sa do 100 ml.

(Toto činidlo je po dvoch týždňoch nevhodné na použitie.)

4.7. Pentán-2,4-diónové činidlo

V 1 000 ml odmernej banke sa rozpustí:

150 g octanu amónneho (4.2),

2 ml pentán-2,4-diónu (čerstvo predestilovaného za zníženého tlaku – nemá vykazovať akúkoľvek absorbciu pri 410 nm),

3 ml ľadovej kyseliny octovej (4.1).

Doplňuje sa vodou do 1 000 ml (pH roztoku: okolo 6,4).

Toto činidlo sa musí pripravovať čerstvé.

4.8. Štandardný roztok kyseliny sírovej, 0,05 M.

4.9. Štandardný roztok hydroxidu sodného, 0,1 M.

4.10. Roztok jódu, 0,05 M.

4.11. Roztok tiosíranu, 0,1 M.

4.12. Zásobný roztok formaldehydu

5 g 37 až 40 % roztoku formaldehydu sa vleje do 1 000 ml odmernej banky a doplní sa do 1 000 ml.

Obsah formaldehydu v tomto roztoku sa stanoví nasledovne: vezme sa z neho 10,0 ml, pridá sa 25 ml štandardného 0,05 M roztoku jódu (4.10) a 10 ml 1 M roztoku hydroxidu sodného.

Nechá sa stáť päť minút.

Pridá sa 11 ml 1 M roztoku HCl a nadbytok 0,05 M roztoku jódu (4.10) sa titruje štandardným 0,1 M roztokom tiosíranu sodného (4.11) s použitím roztoku škrobu ako indikátora.

1 ml 0,05 M roztoku jódu (4.10) zodpovedá 1,5 mg formaldehydu.

4.13. Referenčný roztok formaldehydu

Do 100 ml odmernej banky sa pipetou preniesie 5,00 ml zásobného roztoku 4.12 a doplní sa do 100 ml demineralizovanou vodou.

5,00 ml tohto roztoku sa pipetou preniesie do 500 ml odmernej banky a doplní sa do 500 ml demineralizovanou vodou.

1 ml takto pripraveného roztoku obsahuje približne 1 µg formaldehydu.

Vypočíta sa presný obsah formaldehydu.

4.14. Roztok tymolftaleínu, 0,1 g/100 ml 50 % etanolu.

4.15. Referenčné reakčné činidlo: ako činidlo 4.7, ale bez pentán-2,4-diónu.

**5. PRÍSTROJE A POMÔCKY**

5.1. Bežné laboratórne vybavenie.

5.2. Filtračný papier na oddelenie fáz, Whatman 1 PS (alebo jeho ekvivalent).

5.3. Centrifúga.

- 5.4. Spektrofotometer.
  - 5.5. Sklené kvvety s optickou dráhou dlhou 1 cm.
  - 5.6. Potenciometer s grafickým zapisovačom.
  - 5.7. Sklené/kalomelové elektródy (odporúča sa použitie špeciálnych elektród pre nízke teploty).
6. POSTUP
- 6.1. **Dôkaz**
    - 6.1.1. 2 g testovanej vzorky sa navážia do 10 ml kadičky.
    - 6.1.2. Pridajú sa dve kvapky 1 M kyseliny sírovej (4.4) a 2 ml Schiffovho činidla (4.6) (toto činidlo musí byť pred pridaním úplne bezfarebné).

Pretrepe sa nechá sa stáť päť minút.
    - 6.1.3. Ak sa do piatich minút pozoruje ružové alebo svetlofialové sfarbenie, obsah formaldehydu je vyšší ako 0,01 % a stanoví sa podľa postupu 6.2 a ak je to potrebné, podľa 6.3.
  - 6.2. **Stanovenie s pentán-2,4-diómom kolorimetricky**
    - 6.2.1. *Roztok vzorky*
      - 6.2.1.1. Do 100 ml odmernej banky sa s presnosťou na 0,001 g naváži také množstvo (m gramov) vzorky, aby odhadovaný obsah formaldehydu bol asi 150 mikrogramov.
      - 6.2.1.2. Doplní sa demineralizovanou vodou do 100 ml a premieša sa.
      - 6.2.1.3. Do 50 ml Erlenmeyerovej banky sa pridá:

10,00 ml roztoku z 6.2.1.2,

5,00 ml pentán-2,4-diónového činidla (4.7),

demineralizovaná voda do celkového objemu 30 ml.
    - 6.2.2. *Referenčný roztok*

Možné rušivé vplyvy spôsobené sfarbením pozadia testovanej vzorky sa vylúčia použitím tohto referenčného roztoku.

Do 50 ml Erlenmeyerovej banky sa pridá:

10,00 ml roztoku 6.2.1.2,

5,00 ml referenčného reakčného činidla (4.15),

demineralizovaná voda do celkového objemu 30 ml.
    - 6.2.3. *Roztok na slepý pokus*

Do 50 ml Erlenmeyerovej banky sa pridá:

5,00 ml pentán-2,4-diónového činidla (4.7),

demineralizovaná voda do celkového objemu 30 ml.
    - 6.2.4. *Stanovenie*
      - 6.2.4.1. Banky z 6.2.1.3, 6.2.2 a 6.2.3 sa pretrepú a ponoria do vodného kúpeľa zahriateho na 60 °C presne na 10 minút. Počas dvoch minút sa nechajú ochladiť v kúpeľi z ľadovej vody.

- 6.2.4.2. Ich obsah sa prenesie do 50 ml oddeľovacích lievikov obsahujúcich 10,00 ml bután-1-olu (4.3). Každá banka sa opláchne 3 až 5 ml vody a voda po vypláchnutí sa pridá do lievikov. Zmesi sa intenzívne pretrepú presne 30 sekúnd. Nechajú sa oddeliť.
- 6.2.4.3. Cez filtračný papier na oddelenie fáz sa zmesi prefiltrujú do meracích kyviet. Odstreďovanie na centrifúge (5 000 ot./min. na päť minút) je menej praktické a zdĺhavejšie.
- 6.2.4.4. Pri 410 nm sa zmeria absorbanca  $A_1$  extraktu roztoku vzorky z 6.2.1.3 oproti extraktu z referenčnej vzorky 6.2.2.
- 6.2.4.5. Podobne sa zmeria extrakt z roztoku na slepý pokus z 6.2.3 oproti bután-1-olu ( $A_2$ ).

*Poznámka*

Všetky tieto operácie sa musia uskutočniť do 25 minút od momentu umiestnenia Erlenmeyerových baniek do vodného kúpeľa pri 60 °C.

6.2.5. *Kalibračná krivka*

- 6.2.5.1. Do 50 ml Erlenmeyerovej banky sa umiestni:

5,00 ml referenčného roztoku (4.13),

5,00 ml pentán-2,4-diiónového činidla (4.7),

demineralizovaná voda do celkového objemu 30 ml.

- 6.2.5.2. Pokračuje sa ako v oddieli 6.2.4.5, zmeria sa absorbanca oproti bután-1-olu (4.3).

- 6.2.5.3. Postup sa zopakuje s 10, 15, 20 a 25 ml referenčného roztoku.

- 6.2.5.4. Na získanie nulovej hodnoty sa postupuje ako v 6.2.4.5.

- 6.2.5.5. Po odčítaní nulovej hodnoty (6.2.4.5) od každej z absorbancií získaných v 6.2.5.2 a 6.2.5.3 sa zostrojí kalibračná krivka. Beerov zákon platí do 30 µg formaldehydu.

6.3. **Stanovenie s hydrogensiričitanom**

6.3.1. *Príprava vzorky*

6.3.1.1. Na stanovenie

Do preváženej kadičky sa s presnosťou na 0,001 g naváži také množstvo (m gramov) vzorky, aby odhadovaný obsah formaldehydu bol medzi 3 a 20 mg formaldehydu.

6.3.1.2. Na referenčné stanovenie

Vzorka na referenčné stanovenie sa naváži (m' gramov) podobným spôsobom.

6.3.2. *Stanovenie*

- 6.3.2.1. Do 100 ml kadičky sa umiestni 50,00 ml 0,1 M roztoku siričitanu sodného (4.5) a pridá sa 10,00 ml 0,05 M kyseliny sírovej (4.8). Premieša sa.

- 6.3.2.2. S cieľom dosiahnutia celkovej teploty + 2 °C sa kadička sa ponorí do zmesi ľadu a soli. Naleje sa do vzorky na stanovenie 6.3.1.1.

- 6.3.2.3. Za stáleho pretrepávania a udržiavania teploty medzi + 2 a + 4 °C sa rýchlo potenciometricky titruje 0,1 M roztokom hydroxidu sodného (4.9) (bod ekvivalencie leží medzi pH 9 a 11). Nech  $V_1$  je objem spotrebovaného 0,1 M roztoku hydroxidu sodného (4.9).

6.3.3. *Slepý pokus*

Ďalší roztok pripravený podľa 6.3.2.1 sa titruje za podmienok opísaných v 6.3.2.

Nech  $V_2$  je objem spotrebovaného 0,1 M roztoku hydroxidu sodného (4.9).

6.3.4. *Referenčné stanovenie*

Kyslosť alebo alkalinita vzorky v skúmanej vzorke ( $m'$  gramov) sa stanoví potenciometrickou titráciou s 0,1 M roztokom hydroxidu sodného (4.9) alebo 0,05 M kyseliny sírovej (4.8). Nech  $v'$  je objem spotrebovaného 0,1 M roztoku hydroxidu sodného alebo 0,05 M kyseliny sírovej.

6.3.5. *Poznámky*

Dôležité je presné dodržanie podmienok pri stanoveniach.

Stanovenie sa dá uskutočniť v prítomnosti tymolftaleínu (4.14) ako indikátora.

## 7. VYJADRENIE VÝSLEDKOV

7.1. **Výpočet pre kolorimetrickú metódu**

7.1.1. Od  $A_1$  sa odpočíta  $A_2$  a z kalibračnej krivky (6.2.5.5) sa odčíta množstvo  $C$  formaldehydu v testovanom roztoku vzorky (6.2.1.3) v mikrogramoch.

7.1.2. Obsah formaldehydu vo vzorke v hmotnostných percentách (% hmotn.) sa vypočíta pomocou nasledovného vzorca:

$$\text{obsah formaldehydu v \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2. **Výpočet pre hydrogensiričitanovú titračnú metódu**

Vzťah objemu spotrebovaného 0,1 M roztoku hydroxidu sodného (4.9) alebo 0,05 M kyseliny sírovej (4.8) na titráciu vzorky na referenčné stanovenie a hmotnosti  $m$ :

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

Pre neutrálny výrobok je  $v$  samozrejme nula.

7.2.1. V prípade kyslého výrobku:

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

7.2.2. V prípade alkalického výrobku:

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

7.3. **Poznámka**

Ak sa líšia výsledky týchto dvoch metód, berie sa do úvahy nižšia hodnota.

## 8. OPAKOVATELNOSŤ (!)

Pri obsahu formaldehydu okolo 0,2 % nemá rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke presiahnuť 0,005 % pre kolorimetrickú metódu a 0,05 % pre hydrogensiričitanovú metódu.

(!) Pozri normu ISO 5725.

## V. STANOVENIE REZORCINOLU V ŠAMPÓNOCH A VLASOVÝCH LOTIONOCH

## 1. ÚČEL A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda presne určuje stanovenie rezorcinolu v šampónoch a vlasových lotionoch pomocou plynovej chromatografie. Táto metóda je vhodná pri jeho obsahu vo vzorke od 0,1 do 2,0 % hmotnosti.

## 2. DEFINÍCIA

Obsah rezorcinolu vo vzorke stanovený touto metódou sa vyjadri v hmotnostných percentách.

## 3. PRINCÍP

Rezorcinol a 3,5-dihydroxytoluén (5-metylbenzén-1,3-diol), pridaný do vzorky ako vnútorný štandard sa oddelia od vzorky tenkovrstvovou chromatografiou. Obe zlúčeniny sa izolujú zoškrabaním ich škvŕn z tenkovrstvovej platne a extrakciou metanolom. Nakoniec sa extrahované zlúčeniny vysušia, nasilylujú a stanovia sa plynovou chromatografiou.

## 4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. 25 % (hmotn.) kyselina chlorovodíková.

4.2. Metanol.

4.3. 96 % (obj.) etanol.

4.4. Hotové komerčné silikagélové TLC platne (na plastovom alebo hliníkovom podklade) s fluorescenčným indikátorom. Deaktivujú sa nasledovne: Platne potiahnuté silikagélom sa postriekajú vodou do lesklého vzhľadu. Platne sa nechajú vysušiť na vzduchu pri laboratórnej teplote jednu až tri hodiny.

*Poznámka*

Ak platne nie sú deaktivované, môže dochádzať k ireverzibilnej adsorpcii rezorcinolu na silikagél.

4.5. Vytváracie rozpúšťadlo: acetón – chloroform – kyselina octová (obj. diely 20: 75: 5).

4.6. Referenčný roztok rezorcinolu: 400 mg rezorcinolu sa rozpustí v 100 ml 96 % etanolu (4.3) (1 ml zodpovedá 4 000 µg rezorcinolu).

4.7. Roztok vnútorného štandardu: 400 mg 3,5-dihydroxytoluénu (DHT) sa rozpustí v 100 ml 96 % etanolu (4.3) (1 ml zodpovedá 4 000 µg DHT).

4.8. Štandardná zmes: v 100 ml odmernej banke sa zmieša 10 ml roztoku 4.6 a 10 ml roztoku 4.7, doplní sa 96 % etanolom po značku (4.3) a premieša sa (1 ml zodpovedá 400 µg rezorcinolu a 400 µg DHT).

4.9. Silylačné činidlá:

4.9.1. N,O-bis(trimetylsilyl)trifluoáacetamid (BSTFA).

4.9.2. Hexametyldisilazán (HMDS).

- 4.9.3. Trimetylchlórsilán (TMCS).
5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. Bežné zariadenie na tenkovrstvovú a plynovú chromatografiu.
- 5.2. Laboratórne sklo.
6. POSTUP
- 6.1. **Príprava vzorky**
- 6.1.1. Do 150 ml kadičky sa presne naváži časť výrobku (m gramov), ktorá obsahuje približne 20 až 50 mg rezorcinolu.
- 6.1.2. Okyslí sa kyselinou chlorovodíkovou (4.1), kým zmes nie je kyslá (potrebné sú približne 2 až 4 ml), pridá sa 10 ml (40 mg DHT) roztoku vnútorného štandardu (4.7) a premieša sa. S etanolom (4.3) sa preniesie do 100 ml odmernej banky, etanolom sa doplní po značku a premieša sa.
- 6.1.3. 250 µl roztoku (6.1.2) sa nanesie na deaktivovanú silikagélovú platňu (4.4) vo forme súvislej čiary dlhšej približne 8 cm. Treba si dať pozor, aby bola čiara čo najtenšia.
- 6.1.4. Na tú istú platňu sa rovnakým spôsobom (6.1.3) nanesie 250 µl referenčného roztoku (4.8).
- 6.1.5. Na dva body štartovacej čiary sa nanesie po 5 µl z každého z roztokov 4.6 a 4.7 na uľahčenie lokalizácie po vyvinutí platne.
- 6.1.6. Platňa sa nechá vyvinúť v parami nenasýtenej vyvíjacej komore naplnenej vyvíjacím rozpúšťadlom 4.5, kým čelo rozpúšťadla nedosiahne úroveň 12 cm od štartovacej čiary; to zvyčajne trvá 45 minút. Platňa sa vysuší na vzduchu a oblasť rezorcinolu/DHT sa lokalizuje pod krátkovlnným UV žiarením (254 nm). Tieto dve zlúčeniny majú približne rovnaké  $R_f$  hodnoty. Škrvny sa označia ceruzkou vo vzdialenosti 2 mm od vonkajšej tmavej línie ohraničujúcej škrvny. Označené oblasti sa zoškrabú a adsorbent z každej škrvny sa zozbiera do 10 ml fľaše.
- 6.1.7. Adsorbent obsahujúci vzorku a adsorbent obsahujúci referenčnú zmes sa extrahuje nasledovným spôsobom:  
pridajú sa 2 ml metanolu (4.2) a extrahuje sa jednu hodinu za stáleho miešania. Prefiltruje sa a extrakcia sa opakuje s 2 ml metanolu ďalších 15 minút.
- 6.1.8. Extrakty sa spoja a rozpúšťadlo sa odparí do sucha cez noc vo vákuovom exsikátore naplnenom vhodným sušidlom. Nesmie sa použiť nijaký zdroj tepla.
- 6.1.9. Zvyšok (6.1.8) sa silyluje spôsobom uvedeným pod 6.1.9.1 a 6.1.9.2.
- 6.1.9.1. Mikrostriekačkou sa pridá 200 µl BSTFA (4.9.1) a zmes sa nechá v uzavretej nádobe počas 12 hodín pri laboratórnej teplote.
- 6.1.9.2. Jeden po druhom sa mikrostriekačkou pridá 200 µl HMDS (4.9.2) a 100 µl TMCS (4.9.3) a zmes sa zahrieva 30 minút na 60 °C v uzavretej nádobe. Zmes sa ochladí.
- 6.2. **Plynová chromatografia**
- 6.2.1. *Chromatografické podmienky*

Kolóna musí poskytovať rozlíšenie, R, minimálne 1,5, kde:

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

kde:

$r_1$  a  $r_2$  = retenčné časy dvoch pík v minútach,

$r_1$  a  $r_2$  = šírka tých istých pík v polovičnej výške v mm,

$d'$  = rýchlosť zapisovača v mm za minútu.



Zistilo sa, že je vhodná nasledovná kolóna a podmienky pre plynovú chromatografiu:

Kolóna	materiál:	nehrdzavejúca oceľ
	dĺžka:	200 cm
	vnútorný priemer:	~ 3 mm
	náplň:	10 % OV-17 na Chromosorbe WAW, 100 až 120 meš

Plameňovo-ionizačný detektor

Teploty:

kolóna:	185 °C (izotermicky)
detektor:	250 °C
vstrekovací ventil:	250 °C
Nosný plyn:	dusík
prietok:	45 ml/min.

Prietok vodíka a vzduchu nastavte podľa pokynov výrobcu.

- 6.2.2. Do plynového chromatografu sa vstrekuje 1 až 3 µl roztoku získaného v 6.1.9. Pre každý roztok (6.1.9) sa uskutoční päť nástrekov; meria sa plocha pík, vypočíta sa priemerná hodnota a vypočíta sa pomer plochy pík:  $S = \text{plocha píku rezorcinolu} / \text{plocha píku DHT}$ .

## 7. VÝPOČET

Obsah rezorcinolu vo vzorke sa vyjadrí v hmotnostných % (% hmotn.) je daný:

$$\% \text{ rezorcinolu} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{vzorky}}}{S_{\text{standardnej zmesi}}}$$

kde:

M = testovaný podiel výrobku v gramoch (6.1.1),

$S_{\text{vzorky}}$  = priemerný pomer plochy pík podľa 6.2.2 pre roztok vzorky,

$S_{\text{standardnej zmesi}}$  = priemerný pomer plochy pík podľa 6.2.2 pre štandardnú zmes.

## 8. OPAKOVATELNOSŤ (\*)

Pri obsahu rezorcinolu okolo 0,5 % nemá rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke presiahnuť v absolútnej hodnote 0,025 %.

## VI. STANOVENIE METANOLU V POMERE K ETANOLU A PROPÁN-2-OLU

### 1. ÚČEL A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje analýzu metanolu plynovou chromatografiou vo všetkých druhoch kozmetických výrobkov (vrátane aerosólov).

Môže byť stanovený relatívny obsah 0 až 10 %.

### 2. DEFINÍCIA

Obsah metanolu stanovený touto metódou sa vyjadří v hmotnostných % metanolu v pomere k etanolu a propán-2-olu.

### 3. PRINCÍP

Stanovenie sa uskutoční plynovou chromatografiou.

(\*) Pozri normu ISO 5725.

## 4. ČINIDLÁ

Použijú sa analyticky čisté činidlá.

## 4.1. Metanol.

## 4.2. Absolútny etanol.

## 4.3. Propán-2-ol.

## 4.4. Chloroform, zbavený alkoholov premytím vodou.

## 5. PRÍSTROJE A POMÔCKY

## 5.1. Plynový chromatograf:

s tepelnovodivostným detektorom (katarometrom) pre aerosólové vzorky,

s plameňovo-ionizačným detektorom pre neaerosólové vzorky.

## 5.2. Odmerné banky, 100 ml.

## 5.3. Pipety, 2 ml, 20 ml, 0 až 1 ml.

5.4. Mikrostriekačky 0 až 100  $\mu$ l a 0 až 5  $\mu$ l

a (iba pre aerosólové vzorky) špeciálna vzduchotesná striekačka so zasúvacím ventilom (pozri postup prípravy vzorky na obr. 5<sup>(1)</sup>).

## 6. POSTUP

6.1. **Príprava vzorky**

6.1.1. Z aerosólových vzoriek sa pripravujú vzorky podľa II. kapitoly prílohy smernice Komisie 80/1335/EHS z 22. decembra 1980<sup>(1)</sup> a potom sa analyzujú plynovou chromatografiou za podmienok v 6.2.1..

6.1.2. Z neaerosólových vzoriek sa pripravujú vzorky podľa vyššie uvedenej II. kapitoly, zriedia sa vodou na hladinu 1 až 2 % etanolu alebo propán-2-olu a potom sa analyzujú plynovou chromatografiou za podmienok v 6.2.2.

6.2. **Plynová chromatografia**

6.2.1. Pre aerosólové vzorky sa používa tepelnovodivostný detektor (katarometer).

6.2.1.1. Použije sa kolóna naplnená 10 % Hallcomid-om M18 na Chromosorbe WAW, 100 až 200 meš.

6.2.1.2. Kolóna musí poskytovať rozlíšenie, R, minimálne 1,5, kde:

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

kde:

$r_1$  a  $r_2$  = retenčné časy dvoch pík v minútach,

$r_1$  a  $r_2$  = šírka tých istých pík v polovičnej výške v mm,

$d'$  = rýchlosť zapisovača v mm za minútu.

6.2.1.3. Nasledujúce podmienky umožňujú dosiahnuť uvedené rozlíšenie:

Kolóna	materiál:	nehrdzavejúca oceľ
	dĺžka:	3,5 m
	priemer:	3 mm
Prúd cez mostík katarometra:		150 mA

(<sup>1</sup>) Ú. v. ES L 383, 31. 12. 1980, s. 27.

Nosný plyn:	hélium
tlak:	2,5 bar
prietok:	45 ml/min.
Teploty:	
vstrekovací ventil:	150 °C
detektor:	150 °C
ohrev kolóny:	65 °C

Merania plochy píkov sa môžu zdokonaľiť elektronickou integráciou.

6.2.2. Pre neaerosólové vzorky:

6.2.2.1. Použije sa kolóna naplnená Chromosorbom 105 alebo Porapakom QS a plameňovo-ionizačný detektor.

6.2.2.2. Kolóna musí poskytovať rozlíšenie, R, minimálne 1,5, kde:

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

$r_1$ a $r_2$	= retenčné časy dvoch píkov v minútach,
$w_1$ a $w_2$	= šírka tých istých píkov v polovičnej výške v mm,
$d'$	= rýchlosť zapisovača v mm za minútu.

6.2.2.3. Nasledujúce podmienky umožňujú dosiahnuť uvedené rozlíšenie:

Kolóna	materiál:	nehrdzavejúca oceľ
	dĺžka:	2 metre
	priemer:	3 mm

Citlivosť elektrometra:  $8 \times 10^{-10}$  A

Plyny:

nosný:	dusík
tlak:	2,1 bar
prietok:	40 ml/min.

Pomocný plyn: vodík

tlak:	1,5 bar
prietok:	20 ml/min.

Teploty:

vstrekovací ventil:	150 °C
detektor:	230 °C
ohrev kolóny:	120 až 130 °C

## 7. KALIBRAČNÝ GRAF

7.1. Pri postupe pre plynovú chromatografiu 6.2.1 (kolóna Hallcomid M18) sa použijú nasledovné referenčné zmesi. Tieto zmesi sa pripravujú meraním s pipetami, ale presné množstvo sa zistí okamžitým vážením pipety alebo banky po každom pridaní.

Relatívny obsah (% hmotn.)	Metanol (ml)	Etanol alebo propán-2-ol (ml)	Chloroform pridaný do objemu
približne 2,5 %	0,5	20	100 ml
približne 5,0 %	1,0	20	100 ml
približne 7,5 %	1,5	20	100 ml
približne 10,0 %	2,0	20	100 ml

Do chromatografu sa nastreknú 2 až 3  $\mu$ l za podmienok v 6.2.1.

Vypočíta sa pomer plôch píkov (metanol/etanol alebo metanol/propán-2-ol) pre každú zmes. Zostrojí sa kalibračný graf, kde sa vynesie na:

os X: % metanolu v pomere k etanolu alebo propán-2-olu,

os Y: pomer plochy píkov (metanol/etanol alebo metanol/propán-2-ol).

- 7.2. Pri postupe pre plynovú chromatografiu 6.2.2 (Porapak QS alebo Chromosorb 105) sa použijú nasledovné referenčné zmesi. Tieto zmesi sa pripravujú meraním mikrostriekačkou a pipetou, ale presné množstvo sa zistí okamžitým vážením pipety alebo banky po každom pridaní.

Relatívny obsah (% hmotn.)	Metanol (ml)	Etanol alebo propán-2-ol (ml)	Chloroform pridaný do objemu
približne 2,5 %	50	2	100 ml
približne 5,0 %	100	2	100 ml
približne 7,5 %	150	2	100 ml
približne 10,0 %	200	2	100 ml

Do chromatografu sa nastrekujú 2 až 3  $\mu$ l za podmienok v 6.2.2.

Vypočíta sa pomer plôch pík (metanol/etanol alebo metanol/propán-2-ol) pre každú zmes. Zostrojí sa kalibračný graf, kde sa vynesie na:

os X: % metanolu v pomere k etanolu alebo propán-2-olu,

os Y: pomer plochy pík (metanol/etanol alebo metanol/propán-2-ol).

- 7.3. Kalibračný graf musí byť priamka.

8. OPAKOVATELNOSŤ <sup>(1)</sup>

Pri obsahu metanolu 5 % v pomere k etanolu alebo propán-2-olu nemá rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke presiahnuť 0,25 %.

<sup>(1)</sup> Pozri normu ISO 5725.