

31983L0514

24.10.1983

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV

L 291/9

TRETIA SMERNICA KOMISIE

z 27. septembra 1983

o aproximácii právnych predpisov členských štátov týkajúcich sa metód analýzy, potrebných na kontrolu zloženia kozmetických výrobkov

(83/514/EHS)

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

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

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho hospodárskeho spoločenstva,

PRIJALA TÚTO SMERNICU:

Článok 1

so zreteľom na smernicu Rady 76/768/EHS z 27. júla 1976 o aproximácii právnych predpisov členských štátov vzťahujúcich sa na kozmetické výrobky⁽¹⁾, naposledy zmenenú a doplnenú smernicou 83/341/EHS⁽²⁾, a najmä na jej článok 8 ods. 1,

Členské štáty podniknú všetky kroky nevyhnutné k zabezpečeniu, že počas úradného testovania kozmetických výrobkov:

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

- stanovenie dichlórmétánu a 1,1,1-trichlóretánu,
- dôkaz a stanovenie chinolín-8-olu a bis(8-hydroxychinolínium)-sulfátu,
- stanovenie amoniaku,
- dôkaz a stanovenie nitrometánu,
- dôkaz a stanovenie kyseliny merkaptooctovej vo výrobkoch na onduláciu vlasov, na narovnávanie vlasov a na depiláciu,
- dôkaz a stanovenie hexachlorofénu (INN),
- stanovenie tosylchlóramidu sodného (INN),
- stanovenie celkového obsahu fluóru v zubných pastách,
- dôkaz a stanovenie organoortutnatých zlúčenín,

keďže všetky metódy analýzy majú byť čím skôr ustanovené; keďže dva kroky smerom k dosiahnutiu tohto zámeru už boli podniknuté definovaním niektorých metód analýzy v smernici Komisie 80/1335/EHS⁽³⁾ a 82/434/EHS⁽⁴⁾, tretí krok spočíva v definovaní metód na stanovenie dichlórmétánu a 1,1,1-trichlóretánu, dôkaz a stanovenie chinolín-8-olu a bis(8-hydroxychinolínium)-sulfátu, stanovenie amoniaku, dôkaz a stanovenie nitrometánu, dôkaz a stanovenie kyseliny merkaptooctovej vo výrobkoch na onduláciu vlasov, na narovnávanie vlasov a na depiláciu, dôkaz a stanovenie hexachlorofénu (INN), stanovenie tosylchlóramidu sodného (INN), stanovenie celkového obsahu fluóru v zubných pastách, dôkaz a stanovenie organoortutnatých zlúčenín, stanovenie sulfidov alkalických kovov a kovov alkalických zemín;

⁽¹⁾ Ú. v. ES L 262, 27.9.1976, s. 169.

⁽²⁾ Ú. v. ES L 188, 13.7.1983, s. 15.

⁽³⁾ Ú. v. ES L 383, 31.12.1980, s. 27.

⁽⁴⁾ Ú. v. ES L 185, 30.6.1982, s. 1.

— stanovenie sulfidov alkalických kovov a kovov alkalických zemín,

sa bude uskutočňovať 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 1984.

Bezodkladne o tom informujú Komisiu.

Článok 3

Táto smernica je adresovaná členským štátom.

V Bruseli 27. septembra 1983

Za Komisiu

Frans ANDRIESEN

člen Komisie

PRÍLOHA

STANOVENIE DICHLÓRMETÁNU A 1,1,1-TRICHLÓRETÁNU

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje stanovenie dichlórmetánu (metylénchloridu) a 1,1,1-trichlórétánu (metylchlorformu) vo všetkých kozmetických výrobkoch, ktoré môžu obsahovať tieto rozpúšťadlá.

2. DEFINÍCIA

Obsah dichlórmetánu a 1,1,1-trichlórétánu stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadrí v hmotnostných percentách.

3. PRINCÍP

Táto metóda využíva plynovú chromatografiu s chloroformom ako vnútorným štandardom.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá musia byť analyticky čisté.

4.1. Chloroform (CHCl_3).

4.2. Chlorid uhličitý (CCl_4).

4.3. Dichlórmetán (CH_2Cl_2).

4.4. 1,1,1-Trichlórétán (CH_3CCl_3).

4.5. Acetón.

4.6. Dusík.

5. PRÍSTROJE A POMÔCKY

5.1. Bežné laboratórne vybavenie.

5.2. Plynový chromatograf vybavený tepelnovodivostným detektorom.

5.3. Fľaša na prenesenie vzorky, 50 až 100 ml (pozri metódu na prípravu vzoriek 5.3) ⁽¹⁾.

5.4. Tlaková injekčná striekačka, 25 až 50 μl (pozri metódu na prípravu vzoriek 5.4.2.2) ⁽¹⁾.

6. POSTUP

6.1. Vzorke, ktorá nie je pod tlakom: vzorka sa presne naváži do kónickej banky so zátkou. Pridá sa presne navážené množstvo chloroformu (4.1) ako vnútorného štandardu zodpovedajúce predpokladanému množstvu dichlórmetánu a 1,1,1-trichlórétánu obsiahnutému vo vzorke. Dôkladne sa premieša.

⁽¹⁾ Ú. v. ES L 383, 31.12.1980, s. 27.

- 6.2. Vzorka pod tlakom: použije sa metóda na prípravu vzoriek opísaná v príslušnej kapitole, ale s nasledujúcimi upresneniami:
- 6.2.1. Po prenesení vzorky do fľaše (5.3) sa ďalej do tejto fľaše pridá objem chloroformu (4.1), ako vnútorného štandardu, zodpovedajúci predpokladanému množstvu dichlórometánu a/alebo 1,1,1-trichlóretánu obsiahnutému vo vzorke. Dôkladne sa premieša. Mŕtvý objem ventilu sa prepláchnu 0,5 ml chloridu uhličitého (4.2). Po vysušení sa z rozdielu hmotnosti presne stanoví hmotnosť pridaného vnútorného štandardu.
- 6.2.2. Po naplnení striekačky vzorkou by sa špička striekačky mala vypláchnuť prúdom dusíka (4.6) tak, že v nej pred nástrekom vzorky do chromatografu nezostane žiadny zvyšok.
- 6.2.3. Po odobratí každej vzorky by sa povrch ventilu a prenášacej časti mal niekoľkokrát prepláchnuť acetónom (4.5) (ak sa vyžaduje, s použitím injekčnej striekačky) a potom sa dôkladne vysuší dusíkom (4.6).
- 6.2.4. Za každú analýzu sa uskutočnia merania s použitím dvoch rôznych fliaš na prenášanie vzoriek a za každú fľašu sa vykoná päť meraní.

7. PODMIENKY PRE CHROMATOGRAFIU

7.1. **Predkolóna**

Materiál kolóny: nehrdzavejúca oceľ.

Dĺžka: 300 mm.

Priemer: 3 až 6 mm.

Náplň: rovnaký materiál, akým je naplnená analytická kolóna.

7.2. **Kolóna**

Stacionárna fáza vyrobená z Hallcomidu M 18 na chromosorb. Kolóna musí poskytovať rozlíšenie „R“ rovnaké, alebo lepšie ako 1,5, kde:

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

kde:

r_1 a r_2 = retenčné časy (v minútach),

W_1 a W_2 = šírka pík v polovičnej výške píku (v milimetroch),

d' = rýchlosť zapisovača (v milimetroch za minútu).

7.3. Ako príklady sú uvedené kolóny, ktoré poskytujú dané výsledky:

Kolóna	I	II
Materiál:	nehrdzavejúca oceľ	nehrdzavejúca oceľ
Dĺžka:	350 cm	400 cm
Priemer:	3 mm	6 mm
Nosič:		
chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
zrornosť:	100 – 120 meš	60 – 80 meš
Stacionárna fáza:	Hallcomid M 18, 10 %	Hallcomid M 18, 20 %

Teplotné podmienky sa môžu líšiť v závislosti od použitého prístroja. Na príkladoch boli nastavené takto:

Kolóna	I	II
Teploty:		
kolóna:	65 °C	75 °C
dávkovací ventil:	150 °C	125 °C
detektor:	150 °C	200 °C
Nosný plyn:		
prietoková rýchlosť hélia:	45 ml/min.	60 ml/min.
vstupný tlak:	2,5 bar	2 bar
Nástrek:	15 µl	15 µl

8. ZMES NA STANOVENIE ODOZVOVÉHO FAKTORA

Do kónickej banky so zátkou sa presným vážením pripraví nasledujúca zmes:

dichlórmetán (4.3), 30 % (hmotn.),
1,1,1-trichlórétán (4.4), 35 % (hmotn.),
chloroform (4.1), 35 % (hmotn.).

9. VÝPOČTY

9.1. **Výpočet odozvového faktora látky „p“ vo vzťahu k látke „a“ zvolenej ako vnútorný štandard**

Nech prvá látka je „p“, potom:

k_p = jej odozvový faktor,

m_p = jej hmotnosť v zmesi,

A_p = plocha jej píku.

Nech druhá látka je „a“, potom:

k_a = jej odozvový faktor (zvolený ako rovný jednej),

M_a = jej hmotnosť v zmesi,

A_a = plocha jej píku.

Potom:

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

Na príkladoch boli získané nasledovné hodnoty odozvových faktorov (pre chloroform: $k = 1$):

dichlórmetán: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$,

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

9.2. **Výpočet % (hmotn.) dichlórmetánu a 1,1,1-trichlórétánu prítomných v analyzovanej vzorke**

Nech:

m_a = hmotnosť pridaného chloroformu (v gramoch),

M_s = hmotnosť analyzovanej vzorky (v gramoch),

A_a = plocha píku chloroformu,

A_1 = plocha píku dichlórmetánu,

A_2 = plocha píku 1,1,1-trichlórétánu,

potom:

$$\% \text{ (hmotn.) } \text{CH}_2\text{Cl}_2 = \frac{m_p \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times M_s}$$

$$\% \text{ (hmotn.) } \text{CH}_3\text{CCl}_3 = \frac{m_p \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_a \times M_s}$$

10. OPAKOVATEĽNOSŤ⁽¹⁾

Pri obsahu dichlórmetánu a/alebo 1,1,1-trichlórétánu 25 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelné uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 2,5 % (hmotn.).

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

DÔKAZ A STANOVENIE CHINOLÍN-8-OLU A BIS(8-HYDROCHINOLÍNÍUM)-SULFÁTU

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje dôkaz a kvantitatívne stanovenie chinolín-8-olu a jeho sulfátu.

2. DEFINÍCIA

Obsah chinolín-8-olu a bis(8-hydroxychinolínium)-sulfátu stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadří v hmotnostných percentách chinolín-8-olu.

3. PRINCÍP

3.1. **Dôkaz**

Dokazujú sa tenkovrstvovou chromatografiou.

3.2. **Stanovenie**

Stanovenie sa uskutoční spektrofotometriou komplexu získaného reakciou s Fehlingovým roztokom pri 410 nm.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Chinolín-8-ol.

4.2. Benzén. Vzhľadom na jeho jedovatosť je potrebné pracovať s benzénom veľmi opatrne.

4.3. Chloroform.

4.4. Vodný roztok hydroxidu sodného, 50 % (hmotn.) roztok.

4.5. Pentahydrát síranu meďnatého.

4.6. Vínan draselno-sodný.

4.7. 1 M kyselina chlorovodíková.

4.8. 0,5 M kyselina sírová.

4.9. 1 M roztok hydroxidu sodného.

4.10. Etanol.

4.11. Bután-1-ol.

4.12. Ládová kyselina octová.

- 4.13. 0,1 M kyselina chlorovodíková.
- 4.14. „Celit 545“ alebo jeho ekvivalent.
- 4.15. **Štandardné roztoky**
- 4.15.1. Do 100 ml odmernej banky sa naváži 100 mg chinolín-8-olu (4.1). Rozpustí sa v malom množstve kyseliny sírovej (4.8). Doplní sa kyselinou sírovou (4.8) po značku.
- 4.15.2. Do 100 ml odmernej banky sa naváži 100 mg chinolín-8-olu. Rozpustí sa v etanole (4.10). Doplní sa etanolom (4.10) po značku a premieša sa.
- 4.16. **Fehlingov roztok**
- Roztok A
- Do 100 ml odmernej banky sa naváži 7 g pentahydrátu síranu meďnatého (4.5). Rozpustí sa v malom množstve vody. Doplní sa vodou po značku a premieša sa.
- Roztok B
- Do 100 ml odmernej banky sa naváži 35 g vínanu draselného-sodného (4.6). Rozpustí sa v 50 ml vody. Pridá sa 20 ml roztoku hydroxidu sodného (4.4). Doplní sa vodou po značku a premieša sa. Tesne pred použitím sa do 100 ml odmernej banky pipetou preniesie 10 ml roztoku A a 10 ml roztoku B. Doplní sa vodou po značku a premieša sa.
- 4.17. **Elučné zmesi pre tenkovrstvovú chromatografiu**
- I: Bután-1-ol (4.11)/kyselina octová (4.12)/voda (obj. diely 80: 20: 20).
- II: Chloroform (4.13)/kyselina octová (4.12) (obj. diely 95: 5).
- 4.18. 2,6-Dichlór-4-(chlórímino)cyklohexa-2,5-dienón, 1 % (hmotn./objem) roztok v etanole (4.10).
- 4.19. Uhličitan sodný, 1 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.20. Etanol (4.10), 30 % (obj.) roztok vo vode.
- 4.21. Dinátrium-dihydrogen-etyléndiamíntetraacetát, 5 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.22. **Tlmivý roztok, pH 7**
- Do jednolitrovej odmernej banky sa naváži 27 g bezvodého dihydrogenfosforečnanu draselného a 70 g trihydrátu hydrogenfosforečnanu didraselného. Doplní sa vodou po značku.
- 4.23. **Príprava tenkovrstvových platničiek**
- Hotové tenkovrstvové chromatografické platne o hrúbke 0,25 mm (napr. Merck Kieselgel 60 alebo ich ekvivalent). Pred použitím sa postrieka 10 ml činidla (4.21) a vysuší pri 80 °C.
5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. 100 ml banka s okrúhlym dnom a zábrusovým skleným hrdlom.
- 5.2. Odmerné banky.
- 5.3. Delené pipety, 10 a 5 ml.

- 5.4. Nedelené pipety, 20, 15, 10 a 5 ml.
 - 5.5. Oddeľovacie lieviky, 100, 50 a 25 ml.
 - 5.6. Skladaný filtračný papier, priemer 90 mm.
 - 5.7. Rotačná vákuová odparka.
 - 5.8. Spätný chladič so zábrusovým skleneným hrdlom.
 - 5.9. Spektrofotometer.
 - 5.10. Kvetety s optickou dráhou dlhou 10 mm.
 - 5.11. Miešadlo s výhrevnou platňou.
 - 5.12. Sklenená chromatografická kolóna rozmerov: dĺžka 160 mm s priemerom 8 mm, na spodnom, zúženom konci so zátkou zo sklenej vaty a s nastavcom na možnú aplikáciu tlaku na hornom konci.
6. POSTUP
- 6.1. **Dôkaz**
- 6.1.1. *Kvapalné vzorky*
- 6.1.1.1. Hodnota pH časti testovanej vzorky sa upraví na 7. Na štartovaciu čiaru na predpripravenej silikagélovej tenkovrstvovej platničke (4.23) sa naniesie 5 a 10 µl vzorky.
- 6.1.1.2. Na dva ďalšie body na štartovacej čiare sa naniesie 10 a 30 µl štandardného roztoku (4.15.2); potom sa platnička nechá vyvíjať v jednej z dvoch elučných zmesí (4.17).
- 6.1.1.3. Keď čelo rozpúšťadla dosiahne 150 mm, platnička sa vysuší pri 110 °C (počas 15 minút). Škvvrny chinolín-8-olu fluoreskujú pod UV lampou (366 nm) na žltlo.
- 6.1.1.4. Platnička sa postrieka roztokom uhličitanu sodného (4.19). Vysuší sa a postrieka sa roztokom 2,6-dichlór-4-(chlórímino)cyklohexa-2,5-dienónu (4.18). Chinolín-8-ol sa zviditeľní ako modrá škvrna.
- 6.1.2. *Tuhé vzorky alebo krémy*
- 6.1.2.1. 1 g vzorky sa disperguje v 5 ml tlmivého roztoku (4.22). Potom sa prenesie s 10 ml chloroformu (4.3) do oddeľovacieho lievika a pretrepe sa. Po oddelení chloroformovej vrstvy sa vodná vrstva ešte dvakrát extrahuje 10 ml chloroformu (4.3). Spojené a prefiltrované chloroformové extrakty sa v 100 ml banke s guľatým dnom (5.1) odparia na rotačnej vákuovej odparke (5.7) takmer do sucha. Odparok sa rozpustí v 2 ml chloroformu (4.3) a 10 a 30 µl škvvrny získaného roztoku sa naniesú na silikagélovú platňu na chromatografiu na tenkej vrstve (4.23) podľa metódy opísanej vyššie v 6.1.1.1 a ďalej.
- 6.1.2.2. Na platničku sa naniesie 10 a 30 µl štandardného roztoku (4.15.2) a pokračuje sa, ako je opísané v 6.1.1.2 až 6.1.1.4.
- 6.2. **Stanovenie**
- 6.2.1. *Kvapalné vzorky*
- 6.2.1.1. Do 100 ml banky s guľatým dnom sa naváži 5 g vzorky. Pridá sa 1 ml roztoku kyseliny sírovej (4.8) a zmes sa odparí za zníženého tlaku pri 50 °C takmer dosucha.

- 6.2.1.2. Tento zvyšok sa rozpustí v 20 ml teplej vody. Prenesie sa do 100 ml odmernej banky. Opláchne sa trikrát 20 ml vody. Doplní sa vodou do 100 ml a premieša sa.
- 6.2.1.3. Do 50 ml oddeľovacieho lievika (5.5) sa pipetou preniesie 5 ml tohto roztoku. Pridá sa 10 ml Fehlingovho roztoku (4.16). Získaný meďnatý komplex chinolín-8-olu (oxín-kuprium (ISO)), sa extrahuje trikrát 8 ml chloroformu (4.3).
- 6.2.1.4. Chloroformové vrstvy sa prefiltrujú a zachytávajú do 25 ml odmernej banky (5.2). Doplnia sa chloroformom (4.3) po značku a premiešajú sa. Meria sa absorbančia žltého roztoku voči chloroformu pri 410 nm.
- 6.2.2. *Tuhé vzorky alebo krémy*
- 6.2.2.1. Do 100 ml banky s guľatým dnom (4.1) sa naváži 0,500 g vzorky. Pridá sa 30 ml benzénu (4.2) a 20 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.7). Obsah sa za miešania zahrieva na reflux počas 30 minút.
- 6.2.2.2. Obsah banky sa preniesie do 100 ml oddeľovacieho lievika (5.5). Opláchne sa 5 ml 1 M HCl (4.7). Vodná fáza sa preniesie do banky s guľatým dnom (5.1) a benzénová fáza sa premyje 5 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.7).
- 6.2.2.3. V prípade vytvorenia emulzií, čo bráni ďalšiemu postupu, sa zmieša 0,500 g vzorky s 2 g Celitu 545 (4.14), čím sa vytvorí voľne sypký prášok. Zmes sa po malých častiach preniesie do sklenenej chromatografickej kolóny (5.12).

Po každom pridaní pritlačte náplň kolóny. Hneď ako sa do kolóny preniesie celá zmes, eluuje sa kyselinou chlorovodíkovou (4.13) takým spôsobom, aby sa 10 ml eluátu získalo približne za 10 minút (ak je to potrebné, elúcia môže byť uskutočnená pod miernym tlakom dusíka). Počas elúcie sa musí zabezpečiť, aby nad vrstvou náplne kolóny vždy bolo nejaké množstvo kyseliny chlorovodíkovej. Prvých 10 ml eluátu sa ďalej spracuje, ako je opísané v 6.2.2.4.

- 6.2.2.4. Zachytené vodné fázy (6.2.2.2) alebo eluát (6.2.2.3) sa odparia na vákuovej rotačnej odparke za zníženého tlaku takmer do sucha.
- 6.2.2.5. Zvyšok sa rozpustí v 6 ml roztoku hydroxidu sodného (4.9). Pridá sa 20 ml Fehlingovho roztoku (4.16) a obsah banky sa preniesie do 50 ml oddeľovacieho lievika (5.5). Banka sa premyje 8 ml chloroformu (4.3). Pretrepe sa a chloroformová fáza sa prefiltruje do 50 ml odmernej banky (5.2).
- 6.2.2.6. Extrakcia sa zopakuje trikrát s 8 ml chloroformu (4.3). Chloroformové fázy sa prefiltrujú a zachytávajú do 50 ml odmernej banky. Doplní sa chloroformom (4.3) po značku a premieša sa. Meria sa absorbančia žltého roztoku voči chloroformu (4.3) pri 410 nm.

7. KALIBRAČNÁ KRIVKA

Do štyroch 100 ml baniek s guľatým dnom (5.1), kde každá obsahuje 3 ml 30 % vodného etanolu (4.20), sa napipetuje 5, 10, 15 a 20 ml štandardného roztoku (4.15.1), odpovedajúce 5, 10, 15 a 20 mg chinolín-8-olu. Postupuje sa, ako je opísané v 6.2.1.

8. VÝPOČET

8.1. *Kvapalné vzorky*

$$\text{Obsah chinolín-8-olu (v \% (hmotn.))} = \frac{a}{m} \times 100,$$

kde:

a = miligramy chinolín-8-olu odčítané z kalibračnej krivky (7),

m = hmotnosť testovanej časti vzorky (6.2.1.1) (v miligramoch).

8.2. Tuhé vzorky alebo krémy

$$\text{Obsah chinolín-8-olu (v \% (hmotn.))} = \frac{2 \cdot a}{m} \times 100,$$

kde:

a = miligramy chinolín-8-olu odčítané z kalibračnej krivky (7),

m = hmotnosť testovanej časti vzorky (6.2.1.1) (v miligramoch).

9. OPAKOVATEĽNOSŤ⁽¹⁾

Pri obsahu chinolín-8-olu okolo 0,3 % by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,02 %.

STANOVENIE AMONIAKU**1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA**

Táto metóda opisuje stanovenie voľného amoniaku v kozmetických výrobkoch.

2. DEFINÍCIA

Obsah amoniaku stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadří v hmotnostných percentách amoniaku.

3. PRINCÍP

Roztok chloridu bárnateho sa pridá do testovanej časti kozmetických výrobkov zriedenej vo vodnom roztoku metanolu. Akákoľvek zrazenina, ktorá by vznikla sa odfiltruje alebo odstredí na centrifúge. Tento postup zabraňuje stratám amoniaku počas destilácie s vodnou parou z niektorých solí amoniaku, ako napríklad uhličitan alebo hydrogenuhličitan amónny a soli mastných kyselín, s výnimkou octanu amónneho.

Z filtrátu alebo supernatantu sa amoniak oddelí destiláciou s vodnou parou a stanoví sa potenciometrickou alebo inou titráciou.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Metanol.**4.2. Dihydrát chloridu bárnateho, 25 % (hmotn.) roztok.****4.3. Kyselina trihydrogenboritá, 4 % (hmotn.) roztok.****4.4. Kyselina sírová, 0,25 M štandardný roztok.****4.5. Kvapalina obmedzujúca penenie.****4.6. Hydroxid sodný, 0,5 M štandardný roztok.****4.7. Indikátor, ak je potrebný: 5 ml 0,1 % (hmotn./objem) roztoku metylčervene v etanole sa zmieša s 2 ml 0,1 % (hmotn.) roztoku metylénovej modrej vo vode.**

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. Bežné laboratórne vybavenie.
- 5.2. Centrifúga so 100 ml uzavierateľnými odstredivkovými skúmavkami.
- 5.3. Aparatúra na destiláciu s vodnou parou.
- 5.4. Potenciometer.
- 5.5. Indikátorová sklenená elektróda a kalomelová (s chloridom ortuťným) referenčná elektróda.
6. POSTUP
- 6.1. Do 100 ml odmernej banky sa naváži vzorka o hmotnosti m) odpovedajúca maximálne 150 mg amoniaku.
- 6.2. K vzorke sa pridá 10 ml vody, 10 ml metanolu (4.1) a 10 ml roztoku chloridu bárnateho (4.2). Doplň sa metanolom (4.1) do 100 ml.
- 6.3. Roztok sa premieša a nechá sa stáť cez noc v chladničke (5 °C).
- 6.4. Potom sa ešte chladný roztok prefiltruje alebo odstredí na centrifúge v uzavretých kvetách počas 10 minút, tak aby sa získal číry filtrát alebo vrstva supernatantu.
- 6.5. 40 ml tohto číreho roztoku sa pipetou preniesie do aparatúry na destiláciu s vodnou parou (5.3) s prídavkom 0,5 ml kvapaliny obmedzujúcej penenie (4.5), ak je to potrebné.
- 6.6. Predestiluje sa a 200 ml destilátu sa zachytáva do 250 ml kadičky obsahujúcej 10 ml štandardného roztoku kyseliny sírovej (4.4) a 0,1 ml indikátora (4.7).
- 6.7. Nadbytok kyseliny sa spätne titruje so štandardným roztokom hydroxidu sodného (4.6).
- 6.8. *Poznámka:* pre potenciometrické stanovenie sa 200 ml destilátu zachytáva do 250 ml kadičky obsahujúcej 25 ml roztoku kyseliny trihydrogenboritej (4.3) a titruje sa štandardným roztokom kyseliny sírovej (4.4); zostrojí sa titračná krivka.

7. VÝPOČTY

7.1. **Výpočet v prípade spätnej titrácie**

Nech:

V_1 = objem spotrebovaného roztoku hydroxidu sodného (4.6) (v mililitroch)

M_1 = jeho skutočná molarita (4.6),

M_2 = skutočná molarita roztoku kyseliny sírovej (4.4),

m = hmotnosť naváženej časti vzorky (6.1) (v miligramoch),

potom:

$$\% \text{ (hmotn.) amoniaku} = \frac{(20 M_2 - V_1 M_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(20 M_2 - V_1 M_1) \times 4250}{m}$$

7.2. **et v prípade priamej potenciometrickej titrácie**

Nech:

V_2 = objem spotrebovaného roztoku kyseliny sírovej (4.4) (v mililitroch)

M_2 = jeho skutočná molarita (4.4),

m = hmotnosť naváženej časti vzorky (6.1) (v miligramoch),

potom:

$$\% \text{ (hmotn.) amoniaku} = \frac{V_2 \times M_2 \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{4250 V_2 \times M_2}{m}$$

8. OPAKOVATELNOSŤ ⁽¹⁾

Pri obsahu amoniaku okolo 6 % by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,6 %.

DÔKAZ A STANOVENIE NITROMETÁNU

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je vhodná na dôkaz a stanovenie nitrometánu až do približne 0,3 % v kozmetických výrobkoch balených v aerosólových rozprašovačoch.

2. DEFINÍCIA

Obsah nitrometánu stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadrí v hmotnosných percentách nitrometánu v celkovom obsahu aerosólového rozprašovača.

3. PRINCÍP

Nitrometán sa dokazuje farebnou reakciou. Nitrometán sa stanoví plynovou chromatografiou po pridaní vnútorného štandardu.

4. DÔKAZ

4.1. **Činidlá**

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1.1. Hydroxid sodný, 0,5 M roztok.

4.1.2. *Folinovo činidlo*

0,1 g natrium-3,4-dihydro-3,4-dioxonaftalén-1-sulfonátu sa rozpustí vo vode a zriedi sa do 100 ml.

4.2. **Postup**

K 1 ml vzorky sa pridá 10 ml 4.1.1. a 1 ml 4.1.2. Fialové sfarbenie indikuje prítomnosť nitrometánu.

5. STANOVENIE

5.1. **Činidlá**

Všetky činidlá musia byť analyticky čisté.

⁽¹⁾ 1) Norma ISO 5725.

- 5.1.1. Chloroform (vnútorný štandard 1).
- 5.1.2. 2,4-dimetylheptán (vnútorný štandard 2).
- 5.1.3. Etanol, 95 %.
- 5.1.4. Nitrometán.
- 5.1.5. *Referenčný roztok chloroformu*

Do odváženej 25 ml odmernej banky sa pridá približne 650 mg chloroformu (5.1.1). Banka s obsahom sa znova presne odváži. Doplní sa 95 % etanolom (5.1.3) do 25 ml. Odváži sa a vypočíta sa hmotnostné percento chloroformu v tomto roztoku.

- 5.1.6. *Referenčný roztok 2,4-dimetylheptánu*

Prípraví sa podobným spôsobom ako referenčný roztok chloroformu, ale do 25 ml odmernej banky sa naváži 270 mg 2,4-dimetylheptánu (5.1.2).

5.2. **Prístroje a pomôcky**

- 5.2.1. Plynový chromatograf s plameňovo-ionizačným detektorom.
- 5.2.2. Zariadenie na prípravu vzoriek z aerosólov (prečerpávacia fľaša, mikrostriekačkové spoje, atď.), ako je opísané v II. kapitole prílohy smernice Komisie 80/1335/EHS z 22. decembra 1980 ⁽¹⁾.
- 5.2.3. Bežné laboratórne vybavenie.

5.3. **Postup**

- 5.3.1. *Príprava vzorky*

Do 100 ml odváženej fľaše na prenesenie vzorky, prefúknutej alebo evakuovanej podľa postupu opísaného v 5.4 kapitoly II vyššie uvedenej smernice, sa pridá 5 ml jedného z dvoch roztokov vnútorných štandardov (5.1.5 alebo 5.1.6). Použije sa 10 alebo 20 ml sklenená striekačka bez ihly, upravenej na pripojenie k spojke, postupujúc podľa techniky opísanej v 5. odseku II. kapitoly vyššie uvedenej smernice Komisie. Znova sa odváži, aby sa stanovilo prenesené množstvo. S použitím tej istej techniky sa do tejto fľaše preniesie asi 50 g obsahu vzorky z aerosólového rozprašovača. Opäť sa odváži, aby sa určilo množstvo prenesenej vzorky. Dôkladne sa premieša.

Nastrekuje sa okolo 10 µg s použitím špeciálnej mikrostriekačky (5.2.2). Uskutoční sa päť nástrekov.

- 5.3.2. *Príprava štandardu*

Do 50 ml odmernej banky sa presne naváži približne 500 mg nitrometánu (5.1.4) a buď 500 mg chloroformu (5.1.1) alebo 210 mg 2,4-dimetylheptánu (5.1.2). Doplní sa 95 % etanolom (5.1.3) po značku. Dôkladne sa premieša a 5 ml tohto roztoku sa umiestni do 20 ml odmernej banky. Doplní sa 95 % etanolom (5.1.3) po značku.

Nastrekuje sa okolo 10 µg s použitím špeciálnej mikrostriekačky (5.2.2). Uskutoční sa päť nástrekov.

- 5.3.3. *Podmienky pre plynovú chromatografiu*

- 5.3.3.1. Kolóna

Skladá sa z dvoch častí, prvá časť obsahuje ako náplň didecyl-ftalát na Gas Chrom-e Q, druhá obsahuje ako náplň Ucon 50 HB 280X na Gas Chrom-e Q. Pripravená kombinovaná kolóna musí poskytovať rozlíšenie „R“ rovné alebo lepšie ako 1,5, kde:

(¹) Ú. v. ES L 383, 31.12.1980, s. 27.

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

nech:

r_1 a r_2 = retenčné časy (v minútach),

W_1 a W_2 = šírka píkov v polovičnej výške píku (v milimetroch),

d' = rýchlosť zapisovača (v milimetroch za minútu).

Nasledujúce údaje sú uvedené ako príklady kolóny spĺňajúcej vyššie uvedené požiadavky:

Kolóna A:

Materiál: nehrdzavejúca oceľ.

Dĺžka: 1,5 m.

Priemer: 3 mm.

Náplň: 20 % didecyl-ftalát na Gas Chrom-e Q (100 až 120 meš).

Kolóna B:

Materiál: nehrdzavejúca oceľ.

Dĺžka: 1,5 m.

Priemer: 3 mm.

Náplň: 20 % Ucon 50 HB 280X na Gas Chrom-e Q (100 až 120 meš).

5.3.3.2. Detektor

Vhodné nastavenie citlivosti na elektrometri plameňovo-ionizačného detektora je 8×10^{-10} A.

5.3.3.3. Teplotné podmienky

Ako vhodné sa ukázali nasledujúce podmienky:

Dávkovací ventil: 150 °C.

Detektor: 150 °C.

Kolóna: 50 až 80 °C v závislosti od konkrétnych kolón a prístrojov.

5.3.3.4. Vhodné zdroje plynu

Nosný plyn: dusík.

Tlak: 2,1 bar.

Prietoková rýchlosť: 40 ml/min.

Plyn pre detektor: podľa špecifikácie výrobcu detektora.

6. VÝPOČET

6.1. **Odozvoový faktor nitrometánu, vypočítaný vo vzťahu k použitému vnútornému štandardu**

Ak „n“ označuje nitrometán:

nech:

k_n = jeho odozvoový faktor,

m'_n = jeho hmotnosť v zmesi (v gramoch),

S'_n = plocha jeho píku.

Ak „c“ označuje vnútorný štandard, chloroform alebo 2,4-dimetylheptán:

nech:

m'_c = jeho hmotnosť v zmesi (v gramoch),

S'_c = plocha jeho píku,

potom:

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

(k_n závisí od prístroja).

6.2. **Koncentrácia nitrometánu vo vzorke**

Ak „n“ označuje nitrometán:

nech:

k_n = jeho odozvoový faktor,

S_n = plocha jeho píku.

Ak „c“ označuje vnútorný štandard, chloroform alebo 2,4-dimetylheptán:

nech:

m_c = jeho hmotnosť v zmesi (v gramoch),

S_c = plocha jeho píku,

M = hmotnosť preneseného aerosólu (v gramoch)

potom % (hmotn.) nitrometánu vo vzorke je:

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

7. OPAKOVATEĽNOSŤ ⁽¹⁾

Pri obsahu nitrometánu okolo 0,3 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,03 % (hmotn.).

DÔKAZ A STANOVENIE KYSELINY MERKAPTOOCTOVEJ VO VÝROBKOCH NA ONDULÁCIU VLASOV, NA NAROVNÁVANIE VLASOV A NA DEPILÁCIU

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje dôkaz a stanovenie kyseliny sulfanyloctovej vo výrobkoch na onduláciu vlasov, na narovnávanie vlasov a na depiláciu, v ktorých môžu byť prítomné iné redukčné činidlá.

2. DEFINÍCIA

Obsah kyseliny sulfanyloctovej stanovenej vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadří v hmotnostných percentách kyseliny sulfanyloctovej.

3. PRINCÍP

Kyselina sulfanyloctová sa dokazuje bodovými testami a tenkovrstvovou chromatografiou a stanoví sa jodometricky alebo plynovou chromatografiou.

4. DÔKAZ

4.1. **Dôkaz bodovými testami**

4.1.1. Činidlá

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1.1.1. Indikačný papier napustený octanom olovnatým.

4.1.1.2. Roztok kyseliny chlorovodíkovej (jeden objemový diel koncentrovanej kyseliny chlorovodíkovej plus jeden objemový diel vody).

4.1.2. Postup

4.1.2.1. Dôkaz kyseliny sulfanyloctovej prostredníctvom farebnej reakcie s octanom olovnatým

Kvapka analyzovanej vzorky sa umiestni na indikačný papier napustený octanom olovnatým (4.1.1.1). Ak sa objaví intenzívna žltá škvrna, pravdepodobne je prítomná kyselina sulfanyloctová.

Citlivosť: 0,5 %.

4.1.2.2. Dôkaz anorganických sulfidov za vzniku sulfánu po okyslení

Do skúmavky sa vnesie niekoľko kvapiek analyzovanej vzorky. Pridajú sa 2 ml destilovanej vody a 1 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.1.1.2). Uvoľní sa sulfán, rozpoznateľný podľa jeho zápachu a na indikačnom papieriku napustenom octanom olovnatým (4.1.1.1) vznikne čierna zrazenina sulfidu olovnateho.

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

Citlivosť: 50 ppm.

4.1.2.3. Dôkaz siričitanov za vzniku oxidu siričitého po okyslení

Postupuje sa, ako je opísané v 4.1.2.2. Obsah sa zahreje do varu. Oxid siričitý sa dá rozpoznať podľa jeho zápachu a podľa jeho redukčných vlastností, pri styku napríklad s iónmi manganistanu.

4.2. **Dôkaz tenkovrstvovou chromatografiou**

4.2.1. Činidlá

Všetky činidlá, ak nie je uvedené inak, majú byť analyticky čisté.

- 4.2.1.1. Kyselina sulfanyloctová (kyselina tioglykolová), minimálne 98 % čistoty testovanej jodometricky.
- 4.2.1.2. Kyselina 2,2'-disulfándiyl(di)octová), minimálnej čistoty 99 %, stanovenej jodometricky.
- 4.2.1.3. Kyselina 2-sulfanylpropánová (kyselina tiomliečna), minimálnej čistoty 95 %, stanovenej jodometricky.
- 4.2.1.4. Kyselina 3-sulfanylpropánová, minimálnej čistoty 98 % stanovenej jodometricky.
- 4.2.1.5. 3-Sulfanylpropán-1,2-diol (1-tioglycerol), minimálnej čistoty 98 % stanovenej jodometricky.
- 4.2.1.6. Hotové silikagélové platne na tenkovrstvovú chromatografiu o hrúbke 0,25 mm.
- 4.2.1.7. Hotové platne na tenkovrstvovú chromatografiu s oxidom hlinitým, Merck F 254 E alebo ekvivalentné.
- 4.2.1.8. Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.
- 4.2.1.9. Etyl-acetát (octan etylový).
- 4.2.1.10. Chloroform.
- 4.2.1.11. Diizopropyléter.
- 4.2.1.12. Chlorid uhličitý.
- 4.2.1.13. Kyselina octová, ľadová.
- 4.2.1.14. Jodid draselný, 1 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.15. Chlorid platičitý, 0,1 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.16. Elučné zmesi
- 4.2.1.16.1. Etyl-acetát (4.2.1.9), chloroform (4.2.1.10), diizopropyléter (4.2.1.11), kyselina octová (4.2.1.13) (obj. diely 20: 20: 10: 10).
- 4.2.1.16.2. Chloroform (4.2.1.10), kyselina octová (4.2.1.13) (obj. diely 90: 20).
- 4.2.1.17. Detekčné činidlá
- 4.2.1.17.1. Tesne pred použitím sa zmiešajú rovnaké objemy roztoku 4.2.1.14 a roztoku 4.2.1.15.
- 4.2.1.17.2. Roztok brómu, 5 % (hmotn./objem): 5 g brómu sa rozpustí v 100 ml chloridu uhličitého (4.2.1.12).
- 4.2.1.17.3. Roztok fluoresceínu, 0,1 % (hmotn./objem): 100 mg fluoresceínu sa rozpustí v 100 ml etanolu.
- 4.2.1.17.4. Heptamolybdénan hexaamónny, 10 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.18. Referenčné roztoky
- 4.2.1.18.1. Kyselina sulfanyloctová (4.2.1.1), 0,4 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.18.2. Kyselina 2,2'-disulfándiyl(di)octová) (4.2.1.2), 0,4 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.18.3. Kyselina 2-sulfanylpropánová (4.2.1.3), 0,4 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.18.4. Kyselina 3-sulfanylpropánová (4.2.1.4), 0,4 % (hmotn.) roztok vo vode.
- 4.2.1.18.5. 3-Sulfanylpropán-1,2-diol (4.2.1.5), 0,4 % (hmotn.) roztok vo vode.

4.2.2. *Prístroje a pomôcky*

Bežné vybavenie na tenkovrstvovú chromatografiu.

4.2.3. *Postup*4.2.3.1. *Spracovanie vzoriek*

Okyslí sa niekoľkými kvapkami kyseliny chlorovodíkovej (4.2.1.8) na pH 1 a v prípade potreby sa prefiltruje.

V niektorých prípadoch je výhodné vzorku zriediť. Vtedy sa pred zriedením okyslí kyselinou chlorovodíkovou.

4.2.3.2. *Elúcia*

Na platničku sa naniesie 1 µl roztoku vzorky (4.2.3.1) a jeden mikroliter každého z piatich referenčných roztokov (4.2.1.18). Opatrne sa vysuší pod miernym prúdom dusíka a platnička sa eluuje elučnou zmesou (4.2.1.16.1 alebo 4.2.1.16.2). Platnička sa vysuší čo najrýchlejšie, aby sa minimalizovala oxidácia tiolov.

4.2.3.3. *Detekcia*

Platnička sa postrieka jedným z troch činidiel (4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 alebo 4.2.1.17.4). Ak sa platnička postrieka činidlom 4.2.1.17.3, ďalej sa pôsobí parami brómu (napr. v uzavretej nádobe obsahujúcej malú kadičku s činidlom 4.2.1.17.2), kým sa škvrny nezviditeľnia. Detekcia postrekovacím činidlom 4.2.1.17.4 bude uspokojivá, len ak čas sušenia platničky nepresiahne 30 minút.

4.2.3.4. *Interpretácia*

Porovnávajú sa R_f hodnoty a farby škvŕn referenčných roztokov a vzorky. Nižšie uvedené R_f hodnoty slúžia len na porovnanie.. Závisia od:

- úrovne aktivácie vrstvy silikagélu v dobe chromatografie,
- teploty v chromatografickej komore.

Príklady R_f hodnôt získaných na silikagélovej vrstve

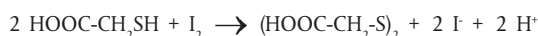
	Elučné zmesi	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Kyselina sulfanyloctová	0,25	0,80
Kyselina 2-sulfanylpropánová	0,40	0,95
Kyselina 2,2'-disulfándiylidi(octová)	0,00	0,35
Kyselina 3-sulfanylpropánová	0,45	0,95
3-Sulfanylpropán-1,2-diol	0,45	0,35

5. *STANOVENIE (pozri poznámku)*

Stanovenie má vždy začínať jodometriou.

5.1. **Jodometria**5.1.1. *Princíp*

Stanovenie je založené na oxidácii „-SH“ skupiny jódom v kyslom prostredí podľa rovnice:

5.1.2. *Činidlá*

Jód, 0,05 M štandardný roztok.

Poznámka: Aby sa predišlo oxidácii, stanovenie sulfanyloctovej kyseliny sa musí uskutočniť s nepoužitým výrobkom z čerstvo otvoreného obalu.

5.1.3. *Prístroje a pomôcky*

Bežné laboratórne vybavenie.

5.1.4. *Postup*

Do 150 ml kónickej banky zo zátkou obsahujúcej 50 ml destilovanej vody sa presne naváži 0,5 až 1 g vzorky. Pridá sa 5 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.1.1.2) (na úpravu pH roztoku okolo 0) a titruje sa roztokom jódu (5.1.2), kým sa neobjaví žlté sfarbenie. Ak je to potrebné, použije sa indikátor (napr. roztok škrobu alebo chlorid uhličitý).

5.1.5. *Výpočet*

Obsah kyseliny sulfanyloctovej sa vypočíta podľa vzorca:

$$\% \text{ (hmotn.)} = \frac{90 \times n \times 100}{1000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 n}{m},$$

kde:

m = hmotnosť testovaného podielu vzorky (v gramoch),

n = objem spotrebovaného roztoku jódu (5.1.2).

5.1.6. *Poznámky*

Ak je výsledok vypočítaný na kyselinu sulfanyloctovú 0,1 % alebo ešte menej pod maximálnou povolenou koncentráciou, nemá význam uskutočňovať ďalšie stanovenia. Ak je výsledok rovnaký alebo vyšší ako maximálne povolená koncentrácia a dôkaz preukázal prítomnosť niekoľkých redukčných činidiel, je potrebné uskutočniť stanovenie plynovou chromatografiou.

5.2. ***Plynová chromatografia***5.2.1. *Princíp*

Kyselina sulfanyloctová sa oddelí od pomocných látok vyzrážaním roztokom octanu kademnatého. Po metylácii diazometánom, pripraveným buď *in situ* alebo dopredu ako roztok v dietyléteri, sa metylderivát kyseliny sulfanyloctovej stanoví plynovo/kvapalinovou chromatografiou, s použitím metyl-oktanoátu ako vnútorného štandardu.

5.2.2. *Činidlá*

Všetky činidlá musia byť analyticky čisté.

5.2.2.1. Kyselina sulfanyloctová, 98 %.

5.2.2.2. Kyselina chlorovodíková, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.

5.2.2.3. Metanol.

5.2.2.4. Dihydrát octanu kademnatého, 10 % (hmotn.) roztok vo vode.

5.2.2.5. Metyl-oktanoát, 2 % (hmotn./objem) roztok v metanole.

5.2.2.6. Octanový tlmivý roztok (pH 5):

Trihydrát octanu sodného, 77 g.

Kyselina octová (ľadová), 27,5 g.

Demineralizovaná voda do celkového objemu jeden liter.

5.2.2.7. Kyselina chlorovodíková, čerstvo pripravený 3 M roztok v metanole (5.2.2.3).

5.2.2.8. 1-Metyl-3-nitro-1-nitrózoguanidín.

5.2.2.9. Hydroxid sodný, 5 M roztok.

5.2.2.10. Jód, 0,05 M štandardný roztok.

5.2.2.11. Dietyléter.

5.2.2.12. Roztok diazometánu pripravený z N – metyl – N – nitrózotoluén – 4 – sulfónamidu (Fieser, Reagents for Organic Synthesis, Wiley, 1967)

Získaný roztok obsahuje asi 1,5 g diazometánu v 100 ml dietyléteru. Pretože diazometán je toxický a veľmi nestabilný plyn, je potrebné všetky operácie vykonávať v dobre odťahujúcom digestóriu, a je potrebné sa vyvarovať použitia sklenenej zábrusovej aparatury (na tento účel sú k dispozícii špeciálne súpravy).

5.2.3. Prístroje a pomôcky

5.2.3.1. Bežné laboratórne vybavenie.

5.2.3.2. Aparatúra na prípravu diazometánu metyláciou *in situ* (pozri Fales, H. M.; Jaouni, T. M.; Babashak, J. F. *Analyt. Chem.* 1973, 45, 2302).

5.2.3.3. Prístroj na prípravu diazometánu dopredu (Fieser).

5.2.4. Príprava vzorky

Do 50 ml centrifugačnej skúmavky sa presne naváži také množstvo vzorky, aby obsahovalo odhadom 50 až 70 mg kyseliny sulfanyloctovej. Okyslí sa niekoľkými kvapkami kyseliny chlorovodíkovej (5.2.2.2) na dosiahnutie pH okolo 3.

Pridá sa 5 ml demineralizovanej vody a 10 ml octanového tlmivého roztoku (5.2.2.6).

Pomocou pH papierika sa overí, že je pH okolo 5. Potom sa pridá 5 ml roztoku octanu kademnatého (5.2.2.4).

Počká sa 10 minút a odstreduje sa na centrifúge aspoň 15 minút pri 4 000 g. Odstráni sa kvapalnú supernatant, ktorý môže obsahovať nerozpustný tuk (v prípade krémových výrobkov). Tento tuk si nemožno zamieňať s tiolmi, ktoré sa hromadia v kompaktnéj hmote na dne skúmavky. Overí sa, či po pridaní niekoľkých kvapiek roztoku octanu kademnatého (5.2.2.4) k supernatantu nevzniká zrazenina.

Ak predchádzajúci dôkaz nepreukázal prítomnosť iných redukčných činidiel ako tiolov, jodometricky sa overí, či obsah tiolov prítomných v kvapalnom supernatante nepresahuje 6 až 8 % ich pôvodného obsahu.

Do centrifugačnej skúmavky obsahujúcej zrazeninu sa dá 40 ml metanolu (5.2.2.3) a zrazenina sa na jemno disperguje miešacou tyčinkou. Opäť sa odstreduje na centrifúge aspoň 15 minút pri 4 000 g. Supernatant sa zleje a overí sa, či neobsahuje tioly.

Zrazenina sa po druhý raz premyje tým istým postupom.

Do tej istej centrifugačnej skúmavky sa pridá:

— 2 ml roztoku metyl-oktanoátu (5.2.2.5)

— 5 ml kyseliny chlorovodíkovej v metanole (5.2.2.7)

Tioly sa úplne rozpustia (môže ostávať malé množstvo nerozpustného zvyšku pomocných látok). Toto je roztok „S“.

V alikvotnom podiele tohto roztoku sa jodometricky overí, že obsah tiolov je aspoň 90 % oproti obsahu stanovenému v 5.1.

5.2.5. Metylácia

Metylácia sa uskutoční buď pomocou prípravy *in situ* (5.2.5.1) alebo dopredu pripraveným roztokom diazometánu (5.2.5.2).

5.2.5.1. Metylácia *in situ*

Do aparatury na metyláciu (5.2.3.2) obsahujúcej 1 ml éteru (5.2.2.11) sa preniesie 50 µl roztoku „S“ a metyluje sa metódou (5.2.3.2) asi s 300 mg 1-metyl-3-nitro-1-nitrózoguanidínu (5.2.2.8). Po 15 minútach (éterový roztok má byť žltý čo indikuje nadbytok diazometánu) sa roztok vzorky preniesie do 2 ml fľaštičky s vzduchotesným uzáverom. Umiestni sa do chladničky a nechá sa tam cez noc. Súbežne sa metylujú dve vzorky.

- 5.2.5.2. Metylácia s vopred pripraveným roztokom diazometánu
Do 5 ml banky s uzáverom sa prenesie 1 ml roztoku diazometánu (5.2.2.12) a potom 50 µl roztoku „S“. Nechá sa cez noc v chladničke.
- 5.2.6. *Príprava štandardu*
Pripraví sa štandardný roztok kyseliny sulfanyloctovej (5.2.2.1) o známej koncentrácii obsahujúci v 2 ml asi 60 mg čistej kyseliny sulfanyloctovej (5.2.2.1).
Toto je roztok „E“.
Vyzráža sa, otestuje a metyluje, ako je opísané v 5.2.4 a 5.2.5.
- 5.2.7. *Podmienky pre plynovú chromatografiu*
- 5.2.7.1. Kolóna
Typ: nehrdzavejúca oceľ.
Dĺžka: 2 m.
Priemer: 3 mm.
- 5.2.7.2. Náplň
20 % didecyl-ftalát/chromosorb, WAW 80 až 100 meš.
- 5.2.7.3. Detektor
Plameňovo-ionizačný. Vhodné nastavenie citlivosti elektrometra plameňovo-ionizačného detektora je 8×10^{-10} A.
- 5.2.7.4. Zdroje plynu
Nosný plyn: dusík.
tlak: 2 bar.
prietoková rýchlosť: 35 ml/min.
Pomocný plyn: vodík.
tlak: 1,8 bar.
prietoková rýchlosť: 15 ml/min.
Plyn pre detektor: podľa špecifikácie výrobcu prístroja.
- 5.2.7.5. Teplotné podmienky
Dávkovací ventil: 200 °C.
Detektor: 200 °C.
Kolóna: 90 °C.
- 5.2.7.6. Rýchlosť posunu zapisovača
5 mm/min.
- 5.2.7.7. Nastrekované množstvo
3 µl. Uskutoční sa päť nástrekov.
- 5.2.7.8. Uvedené chromatografické podmienky sú len orientačné. Umožňujú dosiahnutie rozlíšenia „R“, rovného alebo lepšieho ako 1,5, kde:

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

nech:

r_1 a r_2 = retenčné časy (v minútach),

W_1 a W_2 = šírka píkov v polovičnej výške píku (v milimetroch),

d' = rýchlosť posunu zapisovača (v milimetroch za minútu).

Doporučuje sa, aby sa na záver chromatografického merania regulovala teplota z 90 na 150 °C pri rýchlosti 10 °C za minútu, aby sa odstránili látky, u ktorých sa predpokladá, že by rušili ďalšie stanovenie.

5.2.8. Výpočty

5.2.8.1. Koeficient proporcionality pre kyselinu sulfanyloctovú

Vypočíta sa vo vzťahu k metyl-oktanoátu na základe štandardného roztoku.

Ak „t“ označuje kyselinu sulfanyloctovú:

nech:

k_t = jej odozvoový faktor,

m'_t = jej hmotnosť v zmesi (v miligramoch),

S'_t = jej plocha píku.

Ak „c“ označuje metyl-oktanoát:

nech:

m'_c = jeho hmotnosť v zmesi (v miligramoch),

S'_c = jeho plocha píku,

potom:

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

Koeficient závisí od použitého prístroja.

5.2.8.2. Koncentrácia kyseliny sulfanyloctovej prítomnej vo vzorke

Ak „t“ označuje kyselinu sulfanyloctovú:

nech:

k_t = jej odozvoový faktor,

S_t = jej plocha píku.

Ak „c“ označuje metyl-oktanoát:

nech:

m_c = jeho hmotnosť v zmesi (v miligramoch),

S_c = plocha jeho píku,

M = hmotnosť počiatočnej testovanej vzorky (v miligramoch)

potom % (hmotn.) kyseliny sulfanyloctovej vo vzorke je:

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

6. OPAKOVATELNOSŤ ⁽¹⁾

Pri obsahu kyseliny sulfanyloctovej 8 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,8 % (hmotn.).

DŮKAZ A STANOVENIE HEXACHLOROFÉNU

A. DŮKAZ

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je vhodná pre všetky kozmetické výrobky.

2. PRINCÍP

Hexachlorofén sa extrahuje zo vzorky etyl-acetátom a dokazuje sa tenkovrstvovou chromatografiou.

3. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

3.1. Kyselina sírová, 4 M roztok.

3.2. Celit AW.

3.3. Etyl-acetát (octan etylový).

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

- 3.4. Elučné rozpúšťadlo: benzén obsahujúci 1 % (obj.) ľadovej kyseliny octovej.
- 3.5. Detekčné činidlo I:
Roztok rodamínu B: 100 mg rodamínu B sa rozpustí v zmesi 150 ml dietyléteru, 70 ml absolútneho etanolu a 16 ml vody.
- 3.6. Detekčné činidlo II:
Roztok 2,6-dibróm-4-(chlórimino)cyklohexa-2,5-dienónu: 400 mg 2,6-dibróm-4-(chlórimino)cyklohexa-2,5-dienónu sa rozpustí v 100 ml metanolu (pripravuje sa denne čerstvé).
Roztok uhličitanu sodného. 10 g uhličitanu sodného sa rozpustí v 100 ml demineralizovanej vody.
- 3.7. Referenčný roztok:
Hexachlorofén, 0,05 % (hmotn./objem) roztok v etyl-acetáte.
4. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 4.1. TLC silikagelové platne 254 nm, 200 × 200 mm (alebo ich ekvivalent).
- 4.2. Bežné vybavenie na TLC.
- 4.3. Kúpeľ termostatovaný na 26 °C na kontrolu teploty v chromatografickej vyvíjacej nádobe.
5. PRÍPRAVA TESTOVANEJ VZORKY
- 5.1. 1 g homogenizovanej vzorky sa dôkladne premieša s 1 g Celitu AW (3.2) a 1 ml kyseliny sírovej (3.1).
- 5.2. Suší sa dve hodiny pri 100 °C.
- 5.3. Nechá sa ochladiť a vysušený zvyšok sa rozdrví na jemný prášok.
- 5.4. Extrahuje sa dvakrát, zakaždým 10 ml etyl-acetátu (3.3), po každej extrakcii sa odstredí na centrifúge a etyl-acetátové vrstvy sa spoja.
- 5.5. Odparia sa pri 60 °C.
- 5.6. Odparok sa rozpustí v 2 ml etyl-acetátu (3.3).
6. POSTUP
- 6.1. 2 µl roztoku testovanej vzorky (5.6) a 2 µl referenčného roztoku (3.7) sa nanesú na TLC platničku (4.1).
- 6.2. Vyvíjacia nádoba (4.3) sa nasýti elučného rozpúšťadla (3.4).
- 6.3. TLC platnička sa umiestni do vyvíjacej nádoby a eluuje sa do vzdialenosti čela 150 mm.
- 6.4. TLC platnička sa vyberie a vysuší sa v sušiarňi s nútenou cirkuláciou vzduchu pri teplote okolo 105 °C.
- 6.5. Detekcia
Škvrny hexachlorofénu na tenkovrstvovej platničke sa vizualizujú, ako je uvedené pod 6.5.1 alebo 6.5.2.

- 6.5.1. Platnička sa rovnomerne postrieka detekčným čídlom I (3.5). Po 30 minútach sa platnička pozoruje pod UV svetlom pri 254 nm.
- 6.5.2. Platnička sa rovnomerne postrieka roztokom 2,6-dibróm-4-(chlórimino)cyclohexa-2,5-dienónu detekčného čidla II (3.6). Následne sa platnička postrieka roztokom uhličitanu sodného (3.6). Po 10 minútach sušenia pri laboratórnej teplote sa platnička pozoruje pod denným svetlom.

7. INTERPRETÁCIA

7.1. Detekčné čidlo I (3.5):

Hexachlorofén sa prejaví ako modrastá škvrna na žlto-oranžovom fluoreskujúcom pozadí s R_f hodnotou približne 0,5.

7.2. Detekčné čidlo II (3.6):

Hexachlorofén sa prejaví ako nebomodro alebo tyrkysovo sfarbená škvrna na bielom pozadí s R_f hodnotou približne 0,5.

B. STANOVENIE

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je vhodná pre všetky kozmetické výrobky.

2. DEFINÍCIA

Obsah hexachlorofénu stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadří v hmotnostných percentách hexachlorofénu.

3. PRINCÍP

Hexachlorofén sa stanoví po premene na metylový derivát plynovou chromatografiou s detektorom elektrónového záchytu.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Etyl-acetát (octan etylový).

4.2. N-Metyl-N-nitrózo-p-toluénsulfónamid (diazald).

4.3. Dietyléter.

4.4. Metanol.

4.5. 2-(2-Etoxyetoxy)etanol (karbitol).

4.6. Kyselina mravčia.

4.7. Hydroxid draselný, 50 % (hmotn.) vodný roztok (pripravuje sa denne čerstvý).

- 4.8. Hexán pre spektroskopiu.
- 4.9. Brómchlórén (štandard č. 1).
- 4.10. 4,4',6,6'-Tetrachlór-2,2'-tiodifenol (štandard č. 2).
- 4.11. 2-Hydroxy-2,4,4'-trichlórdifenyléter (štandard č. 3).
- 4.12. Acetón.
- 4.13. 4 M kyselina sírová.
- 4.14. Celit AW.
- 4.15. 10 % (obj.) roztok kyseliny mravčej v etyl-acetáte.
- 4.16. Hexachlorofén.
5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. Bežné laboratórne sklo.
- 5.2. Miniaparatura na prípravu diazometánu (*Analyt. Chem.* **1973**, 45, 2302-2).
- 5.3. Plynový chromatograf vybavený detektorom elektrónového záchytu so zdrojom Ni 63.
6. POSTUP
- 6.1. **Príprava referenčného roztoku**
- Štandard sa vyberie tak, aby neinterferoval so žiadnou látkou obsiahnutou v analyzovanom výrobku ako pomocná látka. Zvyčajne je najvhodnejší štandard č. 1 (4.9).
- 6.1.1. Do 100 ml odmernej banky sa presne naváži približne 50 mg štandardu č. 1, 2 alebo 3 (4.9, 4.10 alebo 4.11) a 50 mg hexachlorofénu (4.16). Doplní sa roztokom etyl-acetátu (4.1) po značku (roztok A). 10 ml roztoku A sa zriedi roztokom etyl-acetátu (4.1) do 100 ml (roztok B).
- 6.1.2. Do 100 ml odmernej banky sa presne naváži približne 50 mg štandardu č. 1, 2 alebo 3 (4.9, 4.10 alebo 4.11). Doplní sa roztokom etyl-acetátu (4.1) po značku (roztok C).
- 6.2. **Príprava vzorky** ⁽¹⁾
- Presne navážený 1 g homogenizovanej vzorky sa dôkladne premieša s 1 ml kyseliny sírovej (4.13), 15 ml acetónu (4.12) a 8 g Celitu AW (4.14). Zmes sa vysuší na vzduchu počas 30 minút na parnom kúpeli, potom sa počas hodiny a pol v sušiarňi s ventiláciou. Nechá sa ochladiť, rozotrie sa na jemný prášok a prenesie sa do sklenenej kolóny. Eluuje sa etyl-acetátom (4.1) a zachytáva sa 100 ml. Pridajú sa 2 ml roztoku vnútorného štandardu (roztoku C) (6.1.2).

(¹) Pretože hexachlorofén môže byť prítomný v širokom spektre typov výrobkov, je dôležité pred zaznamenávaním výsledkov najprv stanoviť výťažok hexachlorofénu zo vzorky podľa tohto postupu. Ak sú výťažky nízke, môžu byť so súhlasom zainteresovaných strán zavedené modifikácie, ako napríklad zmena rozpúšťadla (benzén namiesto etyl-acetátu).

6.3. Metylácia vzorky

Všetky činidlá a aparátúra sa vychladia počas dvoch hodín pri teplote medzi 0 a 4 °C. Do vonkajšej časti diazometánovej aparátúry sa preniesie 1,2 ml roztoku získaného v 6.2 a 0,1 ml metanolu (4.4). Do stredného zásobníka sa umiestni okolo 200 mg diazaldu (4.2), pridá sa 1 ml karbitolu (4.5) a 1 ml dietyléteru (4.3) a nechá sa rozpustiť. Aparatúra sa zostaví, aparatúra sa do polovice ponorí do kúpeľa pri 0 °C a do stredného zásobníka sa striekačkou pridá asi 1 ml ochladeného roztoku hydroxidu draselného (4.7). Je potrebné presvedčiť sa, že vzniknuté žlté sfarbenie v dôsledku tvorby diazometánu pretrváva. Ak žlté sfarbenie nepretrváva, metylácia sa opakuje s ďalšími 200 mg diazaldu (4.2) ⁽¹⁾.

Po 15 minútach sa aparátúra vyberie z chladiaceho kúpeľa a potom sa nechá 12 hodín uzatvorená pri laboratórnej teplote. Aparatúra sa otvorí, nadbytok diazometánu sa odstráni prídavkom niekoľkých kvapiek 10 % (obj.) roztoku kyseliny mravčej v etyl-acetáte (4.15) a organický roztok sa preniesie do 25 ml odmernej banky. Doplní sa hexánom (4.8) po značku.

1,5 µl tohto roztoku sa nastrekne do chromatografu.

6.4. Metylácia štandardu

Všetky činidlá a aparátúra sa vychladia počas dvoch hodín pri teplote medzi 0 a 4 °C. Do vonkajšieho zásobníka diazometánovej aparátúry sa pridá:

0,2 ml roztoku B (6.1.1),

1 ml etyl-acetátu (4.1),

0,1 ml metanolu (4.4).

V metylácii sa pokračuje, ako je opísané v 6.3. 1,5 µl výsledného roztoku sa nastrekne do chromatografu.

7. PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIA

Kolóna musí poskytovať rozlíšenie „R“ rovné alebo lepšie ako 1,5, kde:

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

nech:

r_1 a r_2 = retenčné časy (v minútach),

W_1 a W_2 = šírka pík v polovičnej výške píku (v milimetroch),

d' = rýchlosť posunu zapisovača (v milimetroch za minútu).

Ako vhodné sa ukázali nasledujúce podmienky pre plynovú chromatografiu:

Kolóna: nehrdzavejúca oceľ.

Dĺžka: 1,7 m.

Priemer: 3 mm.

Nosič:

chromosorb: WAW,

zrornosť: 80 až 100 meš.

Stacionárna fáza: 10 % OV 17.

Teploty:

kolóna: 280 °C,

dávkovací ventil: 280 °C,

detektor: 280 °C.

Nosný plyn: dusík zbavený kyslíka.

Tlak: 2,3 bar.

Prietoková rýchlosť: 30 ml/min.

⁽¹⁾ Zotrvávanie tohto žltého sfarbenia indikuje nadbytok diazometánu, ktorý je potrebný na zabezpečenie úplnej metylácie vzorky.

8. VÝPOČET

8.1. **Odozvoový faktor hexachlorofénu**

Tento sa vypočíta vo vzťahu k zvolenému štandardu a voči referenčnej zmesi.

Nech:

h = hexachlorofén,

k_h = jeho odozvoový faktor,

m'_h = jeho hmotnosť v zmesi (v miligramoch),

A'_h = plocha jeho píku,

s = zvolený štandard,

m'_s = jeho hmotnosť v zmesi (v miligramoch),

A'_s = plocha jeho píku,

potom:

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

8.2. **Obsah hexachlorofénu vo vzorke**

Nech:

h = hexachlorofén,

k_h = jeho odozvoový faktor,

A_h = plocha jeho píku.

s = zvolený štandard,

m_s = jeho hmotnosť v zmesi (v gramoch),

A_s = plocha jeho píku,

M = hmotnosť odobratej vzorky (v gramoch)

potom % (hmotn.) hexachlorofénu vo vzorke je:

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

9. OPAKOVATELNOSŤ ⁽¹⁾

Pri obsahu hexachlorofénu 0,1 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,005 % (hmotn.).

KVANTITATÍVNE STANOVENIE TOSYLCHLÓRAMIDU SODNÉHO (INN) (CHLÓRAMÍNU-T)

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje kvantitatívne stanovenie tosylchlóramidu sodného (chlóramínu-T) v kozmetických výrobkoch tenkovrstvovou chromatografiou.

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

2. DEFINÍCIA

Obsah chlórámínu-T stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadrí v hmotnostných percentách (hmotn.).

3. PRINCÍP

Chlórámín-T úplne zhydrolyzuje na 4-metylbenzénsulfónamid povarením s kyselinou chlorovodíkovou.

Množstvo vzniknutého 4-metylbenzénsulfónamidu sa stanoví po chromatografii na tenkej vrstve fotodenzitometricky.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Tosylchlóramid sodný (chlórámín-T).

4.2. Štandardný roztok 4-metylbenzénsulfónamidu (4-toluénsulfónamidu): 50 mg 4-metylbenzénsulfónamidu v 100 ml etanolu (4.5).

4.3. Kyselina chlorovodíková, 37 % (hmotn.), $d_4^{20} = 1,18$ g/ml.

4.4. Dietyléter.

4.5. Etanol, 96 % (obj.).

4.6. **Vyvíjacie rozpúšťadlo**

4.6.1. Bután-1-ol/etanol (4.5)/voda (40: 4: 9; obj. diely), alebo

4.6.2. Chloroform/acetón (6: 4; obj. diely).

4.7. Hotové platne na tenkovrstvovú chromatografiu, silikagél 60, bez fluorescenčného indikátora.

4.8. Manganistan draselný.

4.9. Kyselina chlorovodíková, 15 % (hmotn.).

4.10. Detekčné činidlo: 2-toluidín, 1 % (hmotn./objem) roztok v etanole (4.5).

5. PRÍSTROJE A POMÔCKY

5.1. Bežné laboratórne vybavenie.

5.2. Bežné vybavenie na tenkovrstvovú chromatografiu.

5.3. Fotodenzitometer.

6. POSTUP

6.1. **Hydrolyza**

Do 50 ml banky s guľatým dnom sa presne naváži približne 1 g vzorky m). Pridá sa 5 ml vody a 5 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.3) a varí sa jednu hodinu s použitím spätného chladiča. Horúca suspenzia sa ihneď preniesie vodou do 50 ml odmernej banky. Nechá sa ochladiť a doplní sa vodou po značku. Odstreďuje sa päť minút na centrifúge pri aspoň 3 000 ot./min. a kvapalný supernatant sa prefiltruje.

6.2. **Extrakcia**

6.2.1. Vezme sa 30 ml filtrátu a extrahuje sa trikrát s 15 ml dietyléteru (4.4). Ak je to potrebné, éterové fázy sa vysušia a zachytávajú sa do 50 ml odmernej banky. Doplní sa dietyléterom (4.4) po značku.

6.2.2. Odoberie sa 25 ml vysušeného éterového extraktu a odparí sa do sucha v prúde dusíka. Odparok sa znova rozpustí v 1 ml etanolu (4.5).

6.3. **Tenkovrstvová chromatografia**

6.3.1. 20 µl etanolového roztoku odparku (6.2) sa nanesie na tenkovrstvovú platničku (4.7).

Súčasne sa rovnakým spôsobom nanesie 8, 12, 16 a 20 µl štandardného roztoku 4-metylbenzénsulfónamidu (4.2).

6.3.2. Nechá sa vyvíjať vo vyvíjacom rozpúšťadle (4.6.1 alebo 4.6.2) do výšky približne 150 mm.

6.3.3. Po úplnom odparení vyvíjacieho rozpúšťadla sa platnička umiestni na dve až tri minúty do atmosféry pár chlóru, ktorá je vytvorená naliatím asi 100 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.9) na asi 2 g manganistanu draselného (4.8) v uzatvorenej nádobe. Nadbytok chlóru sa odstráni zahrievaním platničky päť minút na 100 °C. Potom sa platnička postrieka detekčným činidlom (4.10).

6.4. **Meranie**

Približne po jednej hodine sa intenzita fialových škvŕn zmeria pomocou fotodenzitometra pri 525 nm.

6.5. **Zostrojenie kalibračnej krivky**

Zistené maximálne hodnoty výšky píkov stanovených pre štyri škvŕny 4-metylbenzénsulfónamidu sa vynesú oproti príslušným množstvám 4-metylbenzénsulfónamidu (t. j. 4, 6, 8 a 10 µg 4-metylbenzénsulfónamidu na škvŕnu).

7. POZNÁMKA

Metóda sa môže overiť s použitím 0,1 alebo 0,2 % (hmotn./objem) roztoku chlórámínu-T (4.1) spracovaného rovnakým spôsobom ako vzorka (6).

8. VÝPOČET

Obsah chlórámínu-T vo vzorke vyjadrený v hmotnostných percentách sa vypočíta takto:

$$\% \text{ (hmotn.) tosylchlórámidu sodného} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m},$$

kde:

1,33 = koeficient konverzie chloramínu-T na 4-metylbenzénsulfónamid,

a = množstvo 4-metylbenzénsulfónamidu vo vzorke (v μg) odčítané z kalibračnej krivky,

m = hmotnosť odobratej analyzovanej vzorky (v gramoch).

9. OPAKOVATELNOSŤ ⁽¹⁾

Pri obsahu chlórámínu-T okolo 0,2 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,03 % (hmotn.).

STANOVENIE CELKOVÉHO OBSAHU FLUÓRU V ZUBNÝCH PASTÁCH

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda je určená na stanovenie celkového obsahu fluóru v zubných pastách. Je vhodná pre obsah fluóru neprevyšujúci 0,25 %.

2. DEFINÍCIA

Obsah fluóru stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadrí v hmotnostných percentách.

3. PRINCÍP

Stanovenie fluóru sa uskutoční plynovou chromatografiou. Fluór obsiahnutý v zlúčeninách fluóru sa prevedie na trietylfluórsilán (TEFS) priamou reakciou s trietylchlórsilánom (TECS) v kyslom prostredí a súčasne sa extrahuje xylénom obsahujúcim cyklohexán ako vnútorný štandard.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

4.1. Fluorid sodný, vysušený pri 120 °C do konštantnej hmotnosti.

4.2. Voda, dvakrát destilovaná alebo podobnej kvality.

4.3. Kyselina chlorovodíková, $d_4^{20} = 1,19 \text{ g/ml}$.

4.4. Cyklohexán (CH).

4.5. Xylén bez ďalších pík v chromatograme pred píkom rozpúšťadla pri chromatografii za rovnakých podmienok ako sú uvedené pre vzorku (6.1). Ak je to potrebné, prečistí sa destiláciou (5.8).

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

- 4.6. Trietylchlórsilán (TECS Merck alebo ekvivalentný).
- 4.7. **Štandardné roztoky fluóru**
- 4.7.1. Zásobný roztok, 0,250 mg F/ml. Presne sa naváži 138,1 mg fluoridu sodného (4.1) a rozpustí sa vo vode (4.2). Roztok sa kvantitatívne prenesie do 250 ml odmernej banky (5.5). Zriedi sa vodou (4.2) po značku a premieša sa.
- 4.7.2. Zriedený zásobný roztok, 0,050 mg F/ml. Do 100 ml odmernej banky (5.5) sa pipetou prenesie 20 ml zásobného roztoku (4.7.1). Zriedi sa vodou po značku a premieša sa.
- 4.8. **Roztok vnútorného štandardu**
- Zmieša sa 1 ml cyklohexánu (4.4) a 5 ml xylénu (4.5).
- 4.9. **Roztok trietylchlórsilánu/vnútorný štandard**
- Do 10 ml odmernej banky s pipetou (5.7) prenesie 0,6 ml TECS (4.6) a 0,12 ml roztoku vnútorného štandardu (4.8). Zriedi sa xylénom (4.5) po značku a premieša sa. Pripravuje sa denne čerstvý.
- 4.10. Kyselina chloristá, 70 % (hmotn.).
- 4.11. Kyselina chloristá, 20 % (hmotn.) roztok vo vode (4.2).
5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. Bežné laboratórne vybavenie.
- 5.2. Plynový chromatograf vybavený plameňovo-ionizačným detektorom.
- 5.3. Miešadlo Vortex alebo ekvivalentné.
- 5.4. Trepačka Bühler, typ SMB1 alebo ekvivalentná.
- 5.5. Odmerné banky, 100 a 250 ml, vyrobené z polypropylénu.
- 5.6. Centrifugačné kyvety (sklené), 20 ml so závitovým uzáverom potiahnutým teflónom, typu Sovirel 611-56 alebo ekvivalentné. Kyvety a uzávěry sa prečistia lúhovaním niekoľko hodín v kyseline chloristej (4.11), nasledovanej piatimi po sebe idúcimi opláchnutiami vodou (4.2) a nakoniec sa vysušia pri 100 °C.
- 5.7. Pipety, nastaviteľné na prenášanie objemov od 50 do 200 µl, s jednorázovými plastovými špičkami.
- 5.8. Destilačná aparátúra, vybavená s trojdielnou Schneiderovou kolónou alebo ekvivalentnou Vigreuxovou kolónou.

6. POSTUP

6.1. **Analýza vzorky**

- 6.1.1. Vyberie sa ešte neotvorená tuba zubnej pasty, tuba sa rozreže a vyberie sa celý obsah. Prenesie sa do plastovej nádoby, dôkladne sa premieša a uchováva sa za podmienok, ktoré zabraňujú jej znehodnoteniu.
- 6.1.2. Do centrifugačnej kyvety (5.6) sa presne naváži 150 mg m) vzorky, pridá sa 5 ml vody (4.2) a zhomogenizuje sa (5.3).
- 6.1.3. Pridá sa 1 ml xylénu (4.5).
- 6.1.4. Po kvapkách sa pridá 5 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.3) a zhomogenizuje sa (5.3).
- 6.1.5. Do centrifugačnej kyvety (5.6) sa pridá 0,5 ml roztoku trietylchlórsilánu/vnútorného štandardu (4.9).
- 6.1.6. Kyveta sa uzavrie závitovým uzáverom (5.6) a nechá sa 45 minút dôkladne premiešať na trepačke (5.4) nastavenej na 150 kmitov za minútu.
- 6.1.7. Odsteduje sa 10 minút na centrifúge pri rýchlosti, aby sa fázy dobre oddelili, kyveta sa odzátkuje, vyberie sa organická fáza a 3 μ l organickej fázy sa nastreknú do plynového chromatografu (5.2).

Poznámka:

Elúcia všetkých zložiek trvá približne 20 minút.

- 6.1.8. Nástrek sa opakuje, vypočíta sa priemerná hodnota pomeru plôch píkov ($A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$) a zodpovedajúci obsah fluóru (m_1 , v miligramoch) sa odčíta z kalibračnej krivky (6.3).
- 6.1.9. Vypočíta sa celkový obsah fluóru vo vzorke (v hmotnostných percentách fluóru), podľa spôsobu uvedenom v odseku 7.

6.2. **Podmienky pre chromatografiu**

- 6.2.1. Kolón: nehrdzavejúca oceľ.

Dĺžka: 1,8 m.

Priemer: 3 mm.

Nosič: Gaschrom Q, 80 až 100 meš.

Stacionárna fáza: silikónový olej DC 200 alebo ekvivalentný, 20 %. Kolóna sa kondicionuje (pripraví na meranie) cez noc pri 100 °C (prietoková rýchlosť nosného plynu: 25 ml dusíka za minútu) a opakuje sa každú noc. Po každých štyroch alebo piatich nástrekoch sa kolóna znova pripraví na meranie zahrievaním 30 minút na 100 °C.

Teploty:

kolóna: 70 °C,

dávkovací ventil: 150 °C,

detektor: 250 °C.

Prietoková rýchlosť nosného plynu: 35 ml dusíka za minútu.

6.3. **Kalibračná krivka**

- 6.3.1. Do série šiestich centrifugačných kyviet (5.6) sa pipetou preniesie 0, 1, 2, 3, 4 a 5 ml zriedeného štandardného roztoku fluóru (4.7.2). V každej kyvete sa vodou (4.2) doplní objem do 5 ml.

- 6.3.2. Postupuje sa, ako je opísané pod 6.1.3 až 6.1.6, vrátane.
- 6.3.3. 3 µl organickej fázy sa nastrekujú do plynového chromatografu (5.2).
- 6.3.4. Nástrek sa zopakuje a vypočíta sa priemerná hodnota pomeru plochy píkov ($A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$).
- 6.3.5. Zostrojí sa kalibračná krivka závislosti hmotnosti fluóru (v miligramoch) v štandardných roztokoch (6.3.1.) a pomeru plôch píkov ($A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$) nameraného pod 6.3.4. Cez body na grafe sa preloží optimalizovaná priamka vypočítaná regresnou analýzou.

7. VÝPOČET

Celkový obsah fluóru vo vzorke (v percentách hmotnosti fluóru) (% (hmotn.) F) je daný:

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

kde:

m = testovaný podiel vzorky (v miligramoch) (6.1.2),

m_1 = množstvo F (v miligramoch) odčítané z kalibračnej krivky (6.1.8).

8. OPAKOVATELNOSŤ (*)

Pri obsahu fluóru okolo 0,15 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,012 % (hmotn.).

DŮKAZ A STANOVENIE ORGANOORTUTNATÝCH ZLÚČENÍN

ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Nižšie opísaná metóda môže byť použitá na dôkaz a stanovenie organoortutnatých derivátov použitých ako konzervačné látky v kozmetických výrobkoch na oči. Táto metóda je použiteľná na tiomersál (INN) (nátrium-2-(etylhydrargýriosulfanyl)benzoát) a fenyhydrargýrium a jeho soli.

A. DŮKAZ

1. PRINCÍP

Organoortutnaté zlúčeniny sa prevedú na komplex s 1,5-difenyl-3-tiokarbazonom. Po extrakcii ditizonátu s chloridom uhličítym sa uskutoční tenkovrstvová chromatografia na silikagéli. Škvrny ditizonátu sa prejavajú na chromatograme oranžovým sfarbením.

2. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

2.1. Kyselina sírová, 25 % (obj.).

(*) Norma ISO 5725.

- 2.2. 1,5-Difenyl-3-tiokarbazon (ditizón): 0,8 mg v 100 ml chloridu uhličitého (2.4).
- 2.3. Dusík.
- 2.4. Chlorid uhličitý.
- 2.5. Vyvíjacie rozpúšťadlo: hexán/acetón, 90: 10 (obj. diely).
- 2.6. Roztoky štandardov, 0,001 % vo vode:
nátrium-(2-etylhydrargýriosulfanyl)benzoátu,
etylhydrargýrium-chloridu alebo metylhydrargýrium-chloridu,
fenyhydrargýrium-nitrátu alebo fenyhydrargýrium-acetátu,
chloridu ortuťnatý alebo octanu ortuťnatý.
- 2.7. Hotové silikagelové platničky (napr. Merck 5721 alebo ekvivalentné).
- 2.8. Chlorid sodný.
3. PRÍSTROJE A POMÔCKY
 - 3.1. Bežné laboratórne vybavenie.
 - 3.2. Bežná vybavenie na TLC.
 - 3.3. Filter na separáciu fáz.
4. POSTUP
 - 4.1. **Extrakcia**
 - 4.1.1. 1 g vzorky sa zriedi v centrifugačnej kyvete titráciou s 20 ml destilovanej vody. Získa sa čo najlepšia disperzia a zohreje sa na 60 °C na vodnom kúpeli. Pridajú sa 4 g chloridu sodného (2.8). Pretrepe sa. Nechá sa vychladíť.
 - 4.1.2. Odstreďuje sa na centrifúge aspoň 20 minút pri rýchlosti 4 500 ot./min., aby sa väčšia časť tuhej fázy oddelila od kvapaliny. Prefiltruje sa do oddeľovacieho lievika a pridá 0,25 ml roztoku kyseliny sírovej (2.1).
 - 4.1.3. Extrahuje sa niekoľkokrát s 2 až 3 ml roztoku ditizónu (2.2), až kým posledná organická fáza nezostane zelená.
 - 4.1.4. Každá organická fáza sa jedna po druhej prefiltrujú cez filter na separáciu fáz (3.3).
 - 4.1.5. Odparí sa dosucha v prúde dusíka (2.3).
 - 4.1.6. Rozpustí sa v 0,5 ml chloridu uhličitého (2.4). Tento roztok sa okamžite použije, ako je uvedené v 4.2.1.

4.2. **Separácia a dôkaz**

- 4.2.1. 50 µl roztoku v chloride uhličitom, získaného v 4.1.6, sa ihneď nanesie na silikagelovú platničku (2.7). Súčasne sa ako v 4.1 spracuje 10 ml štandardného roztoku (2.6) a na tú istú platničku sa nanesie 50 µl roztoku získaného v 4.1.6.
- 4.2.2. Platnička sa umiestni do rozpúšťadla (2.5) a rozpúšťadlo sa nechá vystúpiť do 150 mm. Organoortutnaté zlúčeniny sa prejavajú ako sfarbené škvrny; ich farba je stabilná za predpokladu, že sa platnička zakryje sklenenou platňou ihneď po odparení rozpúšťadla.

Ako príklad boli zistené nasledovné R_f hodnoty:

	R_f	Sfarbenie
tiomersál	0,33	oranžové
etylhydrargýrium-chloridu	0,29	oranžové
metylhydrargýrium-chloridu	0,29	oranžové
fenylortutnaté soli	0,21	oranžové
ortutnaté soli	0,10	oranžové
octan ortutnatý	0,10	oranžové
1,5-difenyl-3-tiokarbazón	0,09	ružové

B. STANOVENIE

1. DEFINÍCIA

Obsah organoortutnatých zlúčenín stanovený touto metódou sa vyjadří ako hmotnostné percento ortuti vo vzorke.

2. PRINCÍP

Táto metóda spočíva v stanovení celkového množstva prítomnej ortuti. Je preto potrebné sa najprv uistiť, že nie je prítomná ortuť vo forme anorganických solí a identifikovať organoortutnaté deriváty prítomné vo vzorke. Po mineralizácii sa uvoľnená ortuť stanoví bezplameňovou atómovou absorpčnou spektroskopiou.

3. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analytické čisté.

- 3.1. Koncentrovaná kyselina dusičná, $d_4^{20} = 1,41$ g/ml.
- 3.2. Koncentrovaná kyselina sírová, $d_4^{20} = 1,84$ g/ml.
- 3.3. Redestilovaná voda.
- 3.4. Manganistan draselný, 7 % (hmotn.) roztok.
- 3.5. Hydroxylamónium-chlorid (hydrochlorid hydroxylamínu), 1,5 % (hmotn.) roztok.
- 3.6. Peroxodisíran didraselný, 5 % (hmotn.) roztok.

- 3.7. Chlorid cínatý, 10 % (hmotn.) roztok.
- 3.8. Koncentrovaná kyselina chlorovodíková, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml.
- 3.9. Sklená vata impregnovaná chloridom paládnatým, 1 % (hmotn.).
4. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 4.1. Bežné laboratórne vybavenie.
- 4.2. Prístroj na stanovenie ortuti bezplameňovou atómovou absorpčnou spektroskopiou (technika generovania studenej pary), vrátane potrebného laboratórneho skla.. Optická dráha kvety má byť aspoň 100 mm.

5. POSTUP

Vykonajú sa všetky bežné opatrenia pre stopovú analýzu ortuti.

5.1. **Rozklad**

- 5.1.1. Presne sa naváži 150 mg vzorky m). Pridá sa 10 ml kyseliny dusičnej (3.1) a nechá sa pôsobiť tri hodiny vo vzduchotesne uzavretej banke na vodnom kúpeli pri 55 °C za pravidelného občasného pretrepávania. Súčasne sa s činidlami uskutoční slepý pokus.
- 5.1.2. Po ochladení sa pridá 10 ml kyseliny sírovej (3.2) a vráti sa na 30 minút do vodného kúpeľa temperovaného na 55 °C.
- 5.1.3. Banka sa umiestni do ľadového kúpeľa a opatrne sa pridá 20 ml vody (3.3).
- 5.1.4. V 2 ml dávkach sa pridáva 7 % roztok manganistanu draselného (3.4), kým roztok neostane sfarbený. Na ďalší 15 minút sa vráti do vodného kúpeľa temperovaného na 55 °C.
- 5.1.5. Pridajú sa 4 ml roztoku peroxidisíranu didraselného (3.6). Pokračuje sa v zohrievaní na vodnom kúpeli pri 55 °C počas 30 minút.
- 5.1.6. Nechá sa ochladiť a obsah banky sa preniesie do 100 ml odmernej banky. Banka sa opláchne 5 ml roztoku hydroxylamónium-chloridu (3.5) a potom sa opláchne štyrikrát 10 ml vody (3.3). Roztok by mal byť úplne bezfarebný. Doplň sa vodou (3.3) po značku.

5.2. **Stanovenie**

- 5.2.1. 10 ml testovaného roztoku (5.1.6) sa umiestni do sklenej nádoby na stanovenie ortuti technikou generovania studených pár (4.2). Zriedi sa 100 ml vody (3.3) a následne sa pridá 5 ml kyseliny sírovej (3.2) a 5 ml roztoku chloridu cínateho (3.7). Po každom prídavku sa premieša. Počká sa 30 sekúnd, kým sa všetka ortuť vo forme iónov zredukuje na kovovú ortuť a zmeria sa výsledná hodnota n).
- 5.2.2. Určité množstvo sklenej vaty impregnovanej chloridom paládnatým (3.9) sa vloží medzi nádobu na redukciu ortuti a prietokovú kvetu prístroja (4.2). Postup podľa 5.2.1 sa opakuje a odčíta sa výsledná hodnota. Ak odčítaná hodnota nie je nulová, mineralizácia nebola úplná a analýza sa musí zopakovať.

6. VÝPOČET

Nech:

m = hmotnosť testovanej vzorky (v miligramoch),

n = množstvo ortuti (v μg) odčítané na prístroji.

Obsah ortuti, vyjadrený v hmotnostných percentách ortuti sa vypočíta podľa vzorca:

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

7. POZNÁMKY

7.1. Na zlepšenie mineralizácie môže byť potrebné na začiatku vzorku zriediť.

7.2. Ak je podozrenie na absorpciu ortuti substrátom, kvantitatívne stanovenie môže byť vykonané metódou štandardných prídavkov.

8. OPAKOVATELNOSŤ⁽¹⁾

V prípade obsahu ortuti 0,007 % by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,00035 %.

STANOVENIE SULFIDOV ALKALICKÝCH KOVOV A KOVOV ALKALICKÝCH ZEMÍN

1. ROZSAH A OBLASŤ POUŽITIA

Táto metóda opisuje stanovenie sulfidov prítomných v kozmetických výrobkoch. Prítomnosť tiolov alebo iných redukčných činidiel (vrátane siričitanov) neruší stanovenie.

2. DEFINÍCIA

Obsah sulfidov stanovený vo vzorke podľa tejto metódy sa vyjadrí v hmotnostných percentách síry.

3. PRINCÍP

Po okyslení média sa sulfán (sírovodík) strháva prúdom dusíka a potom sa vyzráža vo forme sulfidu kademnatého. Ten sa odfiltruje a premyje a potom sa stanoví jodometricky.

4. ČINIDLÁ

Všetky činidlá majú byť analyticky čisté.

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.

- 4.1. Koncentrovaná kyselina chlorovodíková, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.
- 4.2. Tiosíran sodný, 0,1 M štandardný roztok.
- 4.3. Jód, 0,05 M štandardný roztok.
- 4.4. Sulfid sodný.
- 4.5. Octan kademnatý.
- 4.6. Koncentrovaný amoniak, $d_4^{20} = 0,90$ g/ml.
- 4.7. Amoniakálny roztok octanu kademnatého: 10 g octanu kademnatého (4.5) sa rozpustí približne v 50 ml vody. Pridáva sa amoniak (4.6), kým sa vzniknutá zrazenina znova nerozpustí (t. j. približne 20 ml). Doplní sa vodou po 100 ml značku.
- 4.8. Dusík.
- 4.9. 1 M roztok amoniaku.
5. PRÍSTROJE A POMÔCKY
- 5.1. Bežné laboratórne vybavenie.
- 5.2. 100 ml banka s guľatým dnom a troma zábrusovými sklenenými hrdlami.
- 5.3. Dve 150 ml kónické banky so zábrusovými sklenenými hrdlami, s rúrkou na prívod a odvod plynu.
- 5.4. Jeden lievik s dlhou stopkou.
6. POSTUP
- 6.1. **Uvoľnenie sulfidov**
 - 6.1.1. Vezme sa balenie, ktoré ešte nebolo otvorené. Do banky s guľatým dnom (5.2) sa presne naváži množstvo m) (vyjadrené v gramoch) výrobku, ktoré odpovedá nie viac ako 30 mg sulfidových iónov. Pridá sa 60 ml vody a dve kvapky kvapaliny obmedzujúcej penenie.
 - 6.1.2. 50 ml roztoku 4.7 sa preniesie do každej z dvoch kónických baniek (5.3).
 - 6.1.3. Na banku s guľatým okrúhlym dnom (5.2) sa pripojí prikvapávací lievik, rúrky na prívod a odvod plynu. Rúrka na odvod plynu sa pripojí ku kónickým bankám (5.3) zapojeným do série prostredníctvom PVC hadíc.

Poznámka: Aparatúra na uvoľnenie sulfidov musí prejsť nasledujúcim testom tesnosti: za rovnakých skúšobných podmienok sa vzorka, ktorá sa má skúšať, sa nahradí 10 ml roztoku sulfidu sodného (prípraveného podľa 4.4) obsahujúceho „X mg“ sulfidu (stanoveného jodometricky). Nech „Y“ je počet miligramov sulfidu stanoveného v závere tejto operácie. Rozdiel medzi množstvom „X“ a množstvom „Y“ nesmie prekročiť 3 %.

- 6.1.4. Aby sa vytesnil vzduch obsiahnutý v banke s guľatým dnom (5.2), prepúšťa sa cez ňu 15 minút dusík (4.8) rýchlosťou dve bublinky za sekundu.
- 6.1.5. Banka s guľatým dnom sa zahreje na 85 ± 5 °C.
- 6.1.6. Prúd dusíka (4.8) sa zastaví a po kvapkách sa pridá 40 ml roztoku kyseliny chlorovodíkovej (4.1).
- 6.1.7. Prúd dusíka (4.8) sa znova spustí, keď sa pridá už takmer všetko množstvo kyseliny chlorovodíkovej, a ponechá sa minimálne množstvo kvapaliny na utesnenie, aby sa predišlo unikaniu sulfánu.
- 6.1.8. Po 30 minútach sa zastaví zahrievanie. Banka (5.2) sa nechá ochladiť a pokračuje sa v prepúšťaní prúdu dusíka (4.8) ešte aspoň hodinu a pol.
- 6.2. **Titrácia**
- 6.2.1. Sulfid kademnatý sa prefiltruje cez lievik s dlhou stopkou (5.4).
- 6.2.2. Kónické banky (5.3) sa opláchnu roztokom amoniaku (4.9) a ich obsah sa vyleje na filter. Potom sa opláchnu destilovanou vodou a voda sa použije na premytie zrazeniny zachytenej na filtri.
- 6.2.3. Premývanie zrazeniny sa ukončí 100 ml vody.
- 6.2.4. Filtračný papier so zrazeninou sa preniesie do prvej kónickej banky, ktorá obsahovala zrazeninu. Pridá sa 25 ml (n_1) roztoku jódu (4.3), približne 20 ml kyseliny chlorovodíkovej (4.1) a 50 ml destilovanej vody.
- 6.2.5. Nadbytok jódu sa stanoví titráciou s roztokom tiosíranu sodného (n_2) (4.2).

7. VÝPOČET

Obsah sulfidov vo vzorke, vyjadrený v hmotnostných percentách síry sa vypočíta podľa nasledovného vzorca:

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

kde:

- n_1 = objem použitého štandardného roztoku jódu (v mililitroch),
 x_1 = molarita tohto roztoku,
 n_2 = objem spotrebovaného štandardného roztoku tiosíranu sodného (4.2) (v mililitroch),
 x_2 = molarita tohto roztoku,
 m = hmotnosť testovanej vzorky (v gramoch).

8. OPAKOVATEĽNOSŤ⁽¹⁾

Pre obsah sulfidov okolo 2 % (hmotn.) by rozdiel medzi výsledkami dvoch paralelne uskutočnených stanovení na tej istej vzorke nemal presiahnuť absolútnu hodnotu 0,2 % (hmotn.).

⁽¹⁾ Norma ISO 5725.