

31983L0514

24.10.1983

URADNI LIST EVROPSKIH SKUPNOSTI

L 291/9

TRETJA DIREKTIVA KOMISIJE**z dne 27. septembra 1983****o približevanju zakonodaj držav članic v zvezi z analiznimi metodami, ki so potrebne za preverjanje sestave kozmetičnih izdelkov**

(83/514/EGS)

KOMISIJA EVROPSKIH SKUPNOSTI JE

ker so ukrepi te direktive v skladu z mnenjem odbora za prilagajanje Direktive 76/768/EGS tehničnemu napredku,

ob upoštevanju Pogodbe o ustanovitvi Evropske gospodarske skupnosti,

SPREJELA NASLEDNJO DIREKTIVO:

*Člen 1*ob upoštevanju Direktive Sveta 76/768/EGS z dne 27. julija 1976 o približevanju zakonodaje držav članic v zvezi s kozmetičnimi izdelki ⁽¹⁾, ki je bila nazadnje spremenjena z Direktivo 83/341/EGS ⁽²⁾, in zlasti člena 8(1) Direktive,

Države članice sprejmejo vse potrebne ukrepe za zagotovitev, da so med uradnim preskušanjem kozmetičnih izdelkov:

ker Direktiva 76/768/EGS predpisuje uradno preskušanje kozmetičnih izdelkov za zagotavljanje, da bi bilo zadoščeno pogojem o sestavi kozmetičnih izdelkov, predpisanih v določbah Skupnosti;

— kvantitativna določitev diklorometana in 1,1,1-trikloroetana,

— kvalitativna in kvantitativna določitev kinolin-8-ola in bis(8-hidroksikinolinijevega) sulfata,

ker je treba vse potrebne analizne metode določiti čim prej; ker sta bila prva dva koraka k doseganju tega cilja že narejena z opredelitvijo nekaterih postopkov v direktivah Komisije 80/1335/EGS ⁽³⁾ in 82/434/EGS ⁽⁴⁾, je tretji korak opredelitev postopkov za kvantitativno določitev diklorometana in 1,1,1-trikloroetana, kvalitativno in kvantitativno določitev kinolin-8-ola in bis(8-hidroksikinolinijevega) sulfata, kvantitativno določitev amonijaka, kvalitativno in kvantitativno določitev nitrometana, kvalitativno in kvantitativno določitev merkaptocetne kisline v izdelkih za kodranje las, za ravnanje las in za depilacijo, kvalitativno in kvantitativno določitev heksaklorofena (INN), kvalitativno in kvantitativno določitev natrijevega tozilkloramida (INN), kvantitativno določitev skupnega fluora v kremah za zobe, kvalitativno in kvantitativno določitev živosrebrih organskih spojin, kvantitativno določitev alkalijskih in zemljoalkalijskih sulfidov;

— kvantitativna določitev amonijaka,

— kvalitativna in kvantitativna določitev nitrometana,

— kvalitativna in kvantitativna določitev merkaptocetne kisline v izdelkih za kodranje las, za ravnanje las in za depilacijo,

— kvalitativna in kvantitativna določitev heksaklorofena (INN),

— kvantitativna določitev natrijevega tozilkloramida (INN),

— kvantitativna določitev skupnega fluora v kremah za zobe,

⁽¹⁾ UL L 262, 27.9.1976, str. 169.⁽²⁾ UL L 188, 13.7.1983, str. 15.⁽³⁾ UL L 383, 31.12.1980, str. 27.⁽⁴⁾ UL L 185, 30.6.1982, str. 1.

— kvalitativna in kvantitativna določitev živosrebrih organskih spojin,

— kvantitativna določitev alkalijskih in zemljoalkalijskih sulfidov
opravljeni v skladu z metodami, opisanimi v Prilogi.

Člen 2

Države članice sprejmejo zakone in druge predpise, potrebne za uskladitev s to direktivo, najpozneje do 31. decembra 1984.

O tem takoj obvestijo Komisijo.

Člen 3

Ta direktiva je naslovljena na države članice.

V Bruslju, 27. septembra 1983

Za Komisijo

Frans ANDRIESEN

Član Komisije

PRILOGA

KVANTITATIVNA DOLOČITEV DIKLOROMETANA IN 1,1,1-TRIKLOROETANA

1. PODROČJE UPORABE

S to metodo se kvantitativno določata diklorometan (metilen klorid) in 1,1,1-trikloroetan (metil kloroform) v vseh kozmetičnih izdelkih, za katere obstaja možnost, da vsebujejo ti spojini.

2. OPREDELITEV

Po tej metodi določena vsebnost diklorometana in 1,1,1-trikloroetana v vzorcu je izražena z masnim deležem v odstotkih.

3. PRINCIP

Pri tej metodi je uporabljena plinska kromatografija s kloroformom kot internim standardom.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Kloroform (CHCl_3).

4.2 Ogljikov tetraklorid (CCl_4).

4.3 Diklorometan (CH_2Cl_2).

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

4.5 Aceton.

4.6 Dušik.

5. APARATURA

5.1 Običajna laboratorijska oprema.

5.2 Plinski kromatograf z detektorjem toplotne prevodnosti.

5.3 Prenašalna steklenička, od 50 do 100 ml (glej metodo vzorčenja 5.3) ⁽¹⁾.

5.4 Brizga, od 25 do 50 μl (glej metodo vzorčenja 5.4.2.2) ⁽¹⁾.

6. POSTOPEK

6.1 Vzorec, ki ni pod tlakom: natančno se stehta v zaprti erlenmajerici. Doda se natančno stehtana količina kloroforma (4.1) kot internega standarda glede na predhodno oceno vsebnosti diklorometana in 1,1,1-trikloroetana v vzorcu. Temeljito se premeša.

⁽¹⁾ UL L 383, 31.12.1980, str. 27.

- 6.2 Vzorec pod tlakom: uporabi se ista metoda kakor prej, toda z naslednjimi spremembami:
- 6.2.1 Po prenosu vzorca v prenašalno stekleničko (5.3) se ocenjeni vsebnosti diklorometana in/ali 1,1,1-trikloroetana v vzorcu doda primerna količina kloroforma (4.1) kot internega standarda. Temeljito se premeša, izprazen valj pa se spere z 0,5 ml ogljikovega tetraklorida (4.2). Po sušenju se dodana masa internega standarda natančno določi s tehtanjem.
- 6.2.2 Ko se brizga napolni z vzorcem, se njeno ustje prepriha z dušikom (4.6), tako da se pred vbrizganjem v kromatograf odstranijo vsi ostanki.
- 6.2.3 Ko so vzeti vsi vzorci, se površina valja in prenašalne stekleničke večkrat spere z acetonom (4.5) (z uporabo brizge), potem pa se temeljito osuši z dušikom (4.6).
- 6.2.4 Za vsako analizo se uporabita dve različni prenašalni steklenički in za vsako se opravi pet meritev.

7. POGOJI ZA KROMATOGRAFIJO

7.1 **Predkolona**

Cevka: nerjaveče jeklo.

Dolžina: 300 mm.

Premer: 3 ali 6 mm.

Polnilo: isti material, kakor se uporablja pri analitskih kolonah.

7.2 **Kolona**

Stacionarna faza je pripravljena iz Hallcomida M 18 na kromosorbu. Ločljivost kolone „R“ mora biti 1,5 ali več:

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

pri čemer so:

r_1 in r_2 = retenzijska časa (v minutah),

W_1 in W_2 = širini vrhov na polovici višine (v milimetrih),

d' = hitrost papirja (v milimetrih na minuto).

7.3 Primeri kolon in rezultatov:

Kolona	I	II
Material:	cevka iz nerjavečega jekla	cevka iz nerjavečega jekla
Dolžina:	350 cm	400 cm
Premer:	3 mm	6 mm
Podpora:		
kromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
frita:	od 100 do 120 mesh	od 60 do 80 mesh
Stacionarna faza:	Hallcomid M 18 10 %	Hallcomid M 18 20 %

Temperaturne razmere lahko nihajo kot funkcija posameznega aparata. V primerih so bile nastavljene takole:

Kolona	I	II
Temperature:		
kolona:	65 °C	75 °C
injektor:	150 °C	125 °C
detektor:	150 °C	200 °C
Nosilni plin:		
pretok helija:	45 ml/min	60 ml/min
tlak:	2,5 bara	2 bara
Vbrizgan volumen:	15 µl	15 µl

8. MEŠANICA ZA DOLOČITEV FAKTORJEV ODZIVA

V bučki z zamaškom se pripravi natančno stehtana mešanica:

diklorometana (4.3), 30 % (m/m),
1,1,1-trikloroetana (4.4), 35 % (m/m),
kloroforma (4.1), 35 % (m/m).

9. IZRAČUN

9.1 **Računanje faktorja odziva snovi „p“ glede na snov „a“, ki je izbrana kot interni standard**

Naj bo prva snov „p“, pri čemer je:

k_p = faktor odziva snovi „p“,

m_p = masa snovi „p“ v mešanici,

A_p = površina vrha snovi „p“.

Naj bo druga snov „a“, pri čemer je:

k_a = faktor odziva snovi „a“,

M_a = masa snovi „a“ v mešanici,

A_a = površina vrha snovi „a“,

potem velja:

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

Izračunani so bili naslednji faktorji odziva (za kloroform $k = 1$):

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

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

9.2 **Izračuna se % (m/m) diklorometana in 1,1,1-trikloroetana v analitu**

Naj bo:

m_a = masa (v gramih) dodanega kloroforma,

M_s = masa (v gramih) vzorca za analizo,

A_a = površina vrha kloroforma,

A_1 = površina vrha diklorometana,

A_2 = površina vrha 1,1,1-trikloroetana,

potem je:

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

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

10. PONOVLJIVOST ⁽¹⁾

Pri 25-odstotni (m/m) vsebnosti diklorometana in/ali 1,1,1-trikloroetana naj razlika med dvema vzporednima meritvama ne bo večja od 2,5 % (m/m).

⁽¹⁾ ISO 5725.

KVALITATIVNA IN KVANTITATIVNA DOLOČITEV KINOLIN-8-OLA IN BIS(8-HIDROKSIKINOLINIJEVEGA) SULFATA

1. PODROČJE UPORABE

S to metodo se kvalitativno in kvantitativno določata kinolin-8-ol in njegov sulfat.

2. OPREDELITEV

Kinolin-8-ol in bis(8-hidroksikinolinijev) sulfat v vzorcu se izražata kot masni delež (%) kinolin-8-ola.

3. PRINCIP

3.1 **Kvalitativna določitev**

Kvalitativna določitev se opravi s tankoplastno kromatografijo.

3.2 **Kvantitativna določitev**

Kvantitativna določitev se opravi s spektrofotometrijo pri 410 nm kompleksa, dobljenega z reakcijo s Fehlingovim reagentom.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Kinolin-8-ol.

4.2 Benzen. Pri delu s to toksično snovjo upoštevajte vse varnostne ukrepe.

4.3 Kloroform.

4.4 50-odstotna (m/m) vodna raztopina natrijevega hidroksida.

4.5 Bakrov sulfat pentahidrat.

4.6 Kalij-natrijev tartrat.

4.7 M klorovodikova kislina.

4.8 0,5 M žveplovega kislina.

4.9 M raztopina natrijevega hidroksida.

4.10 Etanol.

4.11 Butan-1-ol.

4.12 Led-očetna kislina.

- 4.13 0,1 M klorovodikova kislina.
- 4.14 „Celite 545“ ali ekvivalenten.
- 4.15 **Standardne raztopine**
- 4.15.1 V 100-mililitrsko standardno bučko se odtehta 100 mg kinolin-8-ola (4.1). V majhni količini se raztopi žveplova kislina (4.8). Žveplova kislina (4.8) se dolije do oznake.
- 4.15.2 100 mg kinolin-8-ola se odtehta v 100-mililitrsko standardno bučko. Raztopi se v etanolu (4.10). Etanol (4.10) se dolije do oznake in premeša.
- 4.16 **Raztopina Fehlingovega reagenta**
- Raztopina A
- 7 g bakrovega sulfata pentahidrata (4.5) se odtehta v 100-mililitrsko standardno bučko. Raztopi se v majhni količini vode. Voda se dolije do oznake in premeša.
- Raztopina B
- 35 g kalij natrijevega tartrata (4.6) se odtehta v 100-mililitrsko standardno bučko. Raztopi se v 50 ml vode. Doda se 20 ml natrijevega hidroksida (4.4). Do oznake se dolije voda in premeša. Tik pred uporabo se v 100-mililitrsko standardno bučko odkapa 10 ml raztopine A in 10 ml raztopine B. Do oznake se dolije voda in premeša.
- 4.17 **Priprava raztopin za tankoplastno kromatografijo**
- I: butan-1-ol (4.11)/ocetna kislina (4.12)/voda (80: 20: 20; v/v/v).
- II: kloroform (4.13)/ocetna kislina (4.12) (95: 5; v/v).
- 4.18 2,6-dikloro-4-(kloroimino)cikloheksa-2,5-dienon; 1-odstotna (m/v) raztopina v etanolu (4.10).
- 4.19 Natrijev karbonat; 1-odstotna (m/v) raztopina v vodi.
- 4.20 Etanol (4.10); 30-odstotna (v/v) raztopina v vodi.
- 4.21 Dinatrijev dihidrogen etilendiamintetraacetat; 5-odstotna (m/v) raztopina v vodi.
- 4.22 **Pufrska raztopina, pH 7**
- 27 g brezvodnega kalijevega dihidrogen ortofosfata in 70 g dikalijevega hidrogen ortofosfata trihidrata se odtehta v litrsko standardno bučko. Dolije se voda do oznake.
- 4.23 **Priprava plošče za tankoplastno kromatografijo**
- Uporabijo se že pripravljene plošče, debele 0,25 mm (npr.: Merck Kieselgel 60 ali ekvivalentno). Pred uporabo se popršijo z 10 ml reagenta (4.21) in osušijo pri 80 °C.
5. APARATURA
- 5.1 100-mililitrska bučka z okroglim dnom in zamaškom.
- 5.2 Standardne bučke.
- 5.3 Merilne pipete, 10 in 5 ml.

- 5.4 Polnilne pipete, 20, 15, 10 in 5 ml.
- 5.5 Liji ločniki, 100, 50 in 25 ml.
- 5.6 Naguban filtrirni papir premera 90 mm.
- 5.7 Rotavapor.
- 5.8 Hladilnik za kondenzacijo refluksa z nastavki iz brušenega stekla.
- 5.9 Spektrofotometer.
- 5.10 Kivete z dolžino svetlobne poti 10 mm.
- 5.11 Grelec z magnetnim mešalom.
- 5.12 Kolona za kromatografijo dolžine 160 mm in premera 8 mm, frita iz steklene volne in na vrhu nastavek za spreminjanje tlaka.
6. POSTOPEK
- 6.1 **Kvalitativna določitev**
- 6.1.1 *Tekoči vzorci*
- 6.1.1.1 pH dela vzorca se naravna na 7,5 in 10 μ l se kane na startno črto silikagela na plošči za tankoplastno kromatografijo (4.23).
- 6.1.1.2 10 in 30 μ l standardne raztopine (4.15.2) se kane na naslednji dve mesti na startni črti, potem pa se plošča potopi v eno od dveh mobilnih faz (4.17).
- 6.1.1.3 Ko fronta mobilne faze doseže 150 mm, se plošča odstrani in se osuši pri 110 °C (za 15 minut). Pod UV-svetilko (366 nm) kinolin-8-ol fluorescira rumeno.
- 6.1.1.4 Plošča se poprši z raztopino natrijevega karbonata (4.19). Osuši se in poprši z raztopino 2,6-dikloro-4-(kloroimino)cikloheksa-2,5-dienona (4.18). Kinolin-8-ol postane viden kot modra lisa.
- 6.1.2 *Trdni vzorci ali kreme*
- 6.1.2.1 1g vzorca se disperzira v 5 ml pufrske raztopine (4.22). Potem se skupaj z 10 ml kloroforma (4.3) prenese v lij ločnik in pretrese. Po ločitvi kloroformske faze se vodna faza še dvakrat ekstrahira z 10 ml kloroforma (4.3). Kloroformske faze se zberejo in kloroform se v 100-mililitrski bučki z okroglim dnom (5.1) v rotavaporju (5.7) odpari skoraj do suhega. Ostanek se raztopi v 2 ml kloroforma (4.3) in 10 in 30 μ l dobljene raztopine se v skladu z metodo iz 6.1.1.1 kane na silikagel na plošči za tankoplastno kromatografijo (4.23).
- 6.1.2.2 Uporabijo se 10 in 30 μ l standardne raztopine (4.15.2) na plošči in nadaljuje se, kakor je opisano v 6.1.1.2 do 6.1.1.4.
- 6.2 **Kvantitativna določitev**
- 6.2.1 *Tekoči vzorci*
- 6.2.1.1 5 g vzorca se odtehta v 100-mililitrsko bučko z okroglim dnom. Doda se 1 ml raztopine žveplove kisline (4.8) in se pod zmanjšanim tlakom pri 50 °C izpareva skoraj do suhega.

- 6.2.1.2 Preostanek se raztopi v 20 ml tople vode. Prenese se v 100-mililitrsko standardno bučko. Trikrat se spere s po 20 ml vode. Dopolni se z vodo do 100 ml in premeša.
- 6.2.1.3 5 ml te raztopine se odkapa v 50-mililitrski lij ločnik (5.5). Doda se 10 ml raztopine Fehlingovega reagenta (4.16). Dobljen kompleks bakra se estrahira s kinolin-8-olom [oksin baker (ISO)] s trikrat po 8 ml kloroforma (4.3).
- 6.2.1.4 Kloroformske faze se filtrirajo in zberejo v 25-mililitrsko standardno bučko (5.2). Do oznake se dopolni s kloroformom (4.3) in pretrese. Pri 410 nm se izmeri absorbanca rumene raztopine proti kloroformu.
- 6.2.2 *Trdni vzorci ali kreme*
- 6.2.2.1 0,500 g vzorca se odtehta v 100-mililitrsko bučko z okroglim dnom (4.1). Doda se 30 ml benzena (4.2) in 20 ml klorovodikove kisline (4.7). Vsebina pod refluksum vre 30 minut, medtem se meša.
- 6.2.2.2 Vsebina bučke se prenese v 100-mililitrski lij ločnik (5.5). Spere se s 5 ml 1 N HCl (4.7). Vodna faza se prenese v bučko z okroglim dnom (5.1) in spere z benzenovo fazo s 5 ml klorovodikove kisline (4.7).
- 6.2.2.3 Če nastanek emulzije ovira postopek, se zmeša 0,500 g vzorca z 2 g Celita 545 (4.14) v zelo droben puder. Mešanica se v manjših delih prenese v stekleno kolono za kromatografijo (5.12).
- Po vsakem dodatku se kolona pretrese, da se vzorec ne nabere samo na vrhu. Takoj ko je ves vzorec v koloni, se eluira s klorovodikovo kislino (4.13) tako, da se v približno 10 minutah pridobi 10 ml eluata (če je treba, se elucija lahko opravi pod rahlim tlakom v dušikovi atmosferi). Med elucijo mora biti vedno nekaj klorovodikove kisline nad polnilom kolone. S prvimi 10 ml eluata se ravna, kakor je opisano v 6.2.2.4.
- 6.2.2.4 Vodna faza (6.2.2.2) ali eluat (6.2.2.3) se skoraj do suhega pod zmanjšanim tlakom odpari v rotavaporju.
- 6.2.2.5 Ostanek se raztopi v 6 ml raztopine natrijevega hidroksida (4.9). Doda se 20 ml raztopine Fehlingovega reagenta (4.16) in vsebina se prenese v 50-mililitrski lij ločnik (5.5). Bučka se spere z 8 ml kloroforma (4.3). Pretrese se in kloroformska faza se prefiltrira v 50-mililitrsko standardno bučko (5.2).
- 6.2.2.6 Ekstrakcija se trikrat ponovi s po 8 ml kloroforma (4.3). Kloroformske faze se prefiltrirajo in se zberejo v 50-mililitrsko bučko. Dolije se kloroform (4.3) do oznake in pretrese. Pri 410 nm se izmeri absorbanca rumene raztopine proti kloroformu.

7. UMERITVENA KRIVULJA

V štiri 100-mililitrske bučke z okroglim dnom (5.1) se da 3 ml 30-odstotne vodne raztopine etanola (4.20). S pipeto se dodajajo 5-, 10-, 15- in 20-mililitrski odmerki standardne raztopine (4.15.1), kar ustreza 5, 10, 15 in 20 mg kinolin-8-ola. Nadaljuje se, kakor je opisano v 6.2.1.

8. IZRAČUN

8.1 *Tekoči vzorci*

$$\text{Vsebnost kinolin-8-ola (v \% (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100,$$

pri čemer je:

a = miligrami kinolin-8-ola na umeritveni krivulji (7),

m = masa (v miligramih) preskusnega vzorca (6.2.1.1).

8.2 Trdni vzorci ali kreme

$$\text{Vsebnost kinolin-8-ola (v \% (m/m))} = \frac{2a}{m} \times 100,$$

pri čemer je:

a = miligrami kinolin-8-ola na umeritveni krivulji (7.),

m = masa (v miligramih) preskusnega vzorca (6.2.2.1).

9. PONOVLJIVOST (1)

Pri približno 0,3-odstotni vsebnosti kinolin-8-ola v vzorcu naj razlika med dvema vzporednima meritvama ne presega absolutne vrednosti 0,02 %.

KVANTITATIVNA DOLOČITEV AMONIJAKA**1. PODROČJE UPORABE**

S to metodo se kvantitativno določa prosti amonijak v kozmetičnih izdelkih.

2. OPREDELITEV

Vsebnost amonijaka v vzorcu je po tej metodi izražena z masnim deležem amonijaka v odstotkih.

3. PRINCIP

Preskusnemu vzorcu kozmetičnega izdelka v vodnem mediju z metanolom je dodana raztopina barijevega klorida. Kakršna koli oborina, ki izpade, se odcentrifugira. Ta postopek prepreči izgubo amonijaka med destilacijo z vodno paro iz določenih amonijevih soli, kot so karbonat, hidrogenkarbonat in soli z maščobnimi kislinami, pri čemer je izvzet amonijev acetat.

Amonijak se destilira z vodno paro iz filtrata ali supernatanta in je določen s potenciometrično ali drugo titracijo.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Metanol.**4.2 Barijev klorid dihidrat, 25-odstotna (m/v) raztopina.****4.3 Ortoborova kislina, 4-odstotna (m/v) raztopina.****4.4 Žveplove kislina, 0,25 M standardna raztopina.****4.5 Tekočina proti penjenju.****4.6 Natrijev hidroksid, 0,5 M standardna raztopina.****4.7 Indikator, če je potreben: 5 ml 0,1-odstotne (m/v) raztopine metil rdečega v etanolu se zmeša z 2 ml 0,1-odstotne (m/v) raztopine metilen modrega v vodi.**

(1) ISO 5725.

5. APARATURA
- 5.1 Običajna laboratorijska oprema.
- 5.2 Centrifuga z zaprtimi 100-mililitrskimi epruvetami.
- 5.3 Priprava za destilacijo z vodno paro.
- 5.4 Potenciometer.
- 5.5 Indikatorska steklena elektroda in diživosrebrova dikloridna (kalomelska) referenčna elektroda.
6. POSTOPEK
- 6.1 V 100-mililitrsko standardno bučko se odtehta masa (m) vzorca, ki ustreza maksimalno 150 mg amonijaka.
- 6.2 Doda se 10 ml vode, 10 ml metanola (4.1) in 10 ml raztopine barijevega klorida (4.2). Metanol (4.1) se dolije do oznake.
- 6.3 Zmeša se in čez noč pusti v hladilniku (5 °C).
- 6.4 Potem se mrzla raztopina še 10 minut filtrira ali centrifugira v zaprtih epruvetah, da se dobi bistra plast filtrata ali supernatanta.
- 6.5 40 ml te bistre raztopine se odpipetira v pripravo za destilacijo z vodno paro (5.3), in kadar je primerno, se doda 0,5 ml tekočine proti penjenju (4.5).
- 6.6 200 ml destilata se destilira in zbere v 250-mililitrsko čašo, ki vsebuje 10 ml standardne žveplove kisline (4.4) in 0,1 ml indikatorja (4.7).
- 6.7 Prebitna kislina se titrira s standardno raztopino natrijevega hidroksida (4.6).
- 6.8 *Opomba:* za potometrično določitev se 200 ml destilata zbere v 250-mililitrsko čašo, ki vsebuje 25 ml ortoborove kisline (4.3), in se ob zapisovanju nevtralizacijske krivulje titrira s standardno žvepleno kislino (4.4).

7. IZRAČUNI

7.1 *Titracija prebitka kisline*

Naj bo:

V_1 = volumen (v mililitrih) uporabljene raztopine natrijevega hidroksida (4.6),

M_1 = molarnost natrijevega hidroksida (4.6),

M_2 = molarnost žveplove kisline (4.4),

m = masa (v miligramih) dela preskusnega vzorca (6.1),

potem je:

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

7.2 **Neposredna potenciometrična titracija**

Naj bo:

V_2 = volumen (v mililitrih) raztopine žveplove kisline (4.4),

M_2 = molarost raztopine žveplove kisline (4.4),

m = masa (v miligramih) dela preskusnega vzorca (6.1),

potem je:

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

8. PONOVLJIVOST⁽¹⁾

Pri približno 6-odstotni vsebnosti amonijaka naj razlika med dvema vzporednima meritvama ne presega absolutne vrednosti 0,6 %.

KVALITATIVNA IN KVANTITATIVNA DOLOČITEV NITROMETANA

1. PODROČJE UPORABE

Ta metoda je primerna za kvalitativno in kvantitativno določitev nitrometana v kozmetičnih izdelkih, ki v potisnih plinih razpršilcev vsebujejo do 0,3 % nitrometana.

2. OPREDELITEV

Po tej metodi določena vsebnost nitrometana je izražena z masnim deležem (%) nitrometana v celotnem potisnem plinu razpršilca.

3. PRINCIP

Nitrometan se kvalitativno določi z barvno reakcijo in kvantitativno pa s plinsko kromatografijo po dodatku internega standarda.

4. KVALITATIVNA DOLOČITEV

4.1 **Reagenti**

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1.1 Natrijev hidroksid, 0,5 M raztopina.

4.1.2 *Folinov reagent.*

0,1 g natrijevega 3,4-dihidro-3,4-dioksonaftalen-1-sulfonata se raztopi v vodi in razredči do 100 ml.

4.2 **Postopek**

1 ml vzorca se doda 10 ml 4.1.1 in 1 ml 4.1.2. Vijoličasta obarvanost kaže navzočnost nitrometana.

5. KVANTITATIVNA DOLOČITEV

5.1 **Reagenti**

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 5.1.1 Kloroform (interni standard 1).
- 5.1.2 2,4-dimetilheptan (interni standard 2).
- 5.1.3 Etanol, 95 %.
- 5.1.4 Nitrometan.
- 5.1.5 *Referenčna raztopina kloroforma*

V 25-mililitrsko merilno čašo se da 650 mg kloroforma (5.1.1). Natančno se stehtata čaša in vsebina. Do oznake 25 ml se dolije 95-odstotni etanol (5.1.3). Stehta in izračuna se masni odstotek kloroforma v tej raztopini.

- 5.1.6 *Referenčna raztopina 2,4-dimetilheptana*

Uporabi se isti postopek, le da se v 25-mililitrsko bučko odtehta 270 mg 2,4-dimetilheptana (5.1.2).

5.2 **Aparatura**

- 5.2.1 Plinski kromatograf s plamensko-ionizacijskim detektorjem (FID).
- 5.2.2 Priprave za zbiranje aerosola (prenosna bučka, mikrobrizga itd.), kakor je opisano v poglavju II Priloge Direktive Komisije 80/1335/EGS z dne 22. decembra 1980⁽¹⁾.
- 5.2.3 Običajna laboratorijska oprema.

5.3 **Postopek**

- 5.3.1 *Priprava vzorca*

V stehtano 100-mililitrsko očiščeno ali evakuirano prenosno bučko se da v skladu s postopkom iz 5.4 poglavja II zgoraj navedene direktive približno 5 ml katere koli raztopine internega standarda (5.1.5 ali 5.1.6). Uporabi se 10- ali 20-mililitrska steklena brizga brez igle, prilagojena na prenosni del s tehniko iz odstavka 5 poglavja II zgoraj navedene direktive. Znova se stehta, da se določi dodana masa standardne raztopine. Z enako tehniko se doda približno 50 g vzorca vsebine aerosolnega razpršilca. Spet se stehta in določi masa. Temeljito se premeša.

Z mikrobrizgo (5.2.2) se petkrat vbrizga približno 10 µl.

- 5.3.2 *Priprava standarda*

V 50-mililitrsko merilno čašo se natančno odtehta približno 500 mg nitrometana (5.1.4) in 500 mg kloroforma (5.1.1) ali 210 mg 2,4-dimetilheptana (5.1.2). Do oznake se dolije 95-odstotni etanol (5.1.3). Temeljito se premeša. 5 ml te raztopine se prenese v 20-mililitrsko merilno čašo. Do oznake se dolije 95-odstotni etanol (5.1.3).

Z mikrobrizgo (5.2.2) se petkrat vbrizga približno 10 µl.

- 5.3.3 *Pogoji za plinsko kromatografijo*

- 5.3.3.1 Kolona

Je v dveh delih, prvi vsebuje kot polnilo didecilftalat na Gas Chrom Q, drugi pa Ucon 50 HB 280X kot polnilo na Gas Chrom Q. Ločljivost kolone „R“ mora biti 1,5 ali več:

⁽¹⁾ UL L 383, 31.12.1980, str. 27.

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

pri čemer so:

r_1 in r_2 = retenzijska časa (v minutah),

W_1 in W_2 = širini vrhov na polovici višine (v milimetrih),

d' = hitrost parirja (v milimetrih na minuto).

Primer kolone, ki ustreza zahtevi:

Kolona A:

Material: nerjaveče jeklo.

Dolžina: 1,5 m.

Premer: 3 mm.

Polnilo: 20-odstotni didecilftalat na Gas Chrom Q (od 100 do 120 mesh).

Kolona B:

Material: nerjaveče jeklo.

Dolžina: 1,5 m.

Premer: 3 mm.

Polnilo: 20-odstotni Ucon 50 HB 280X na Gas Chrom Q (od 100 do 120 mesh).

5.3.3.2 Detektor

Primerna nastavitve občutljivosti elektrometra plamensko-ionizacijskega (FID) detektorja je $8 \cdot 10^{-10}$ A.

5.3.3.3 Temperaturne razmere

Primerne so naslednje:

injektor: 150 °C,

detektor: 150 °C,

kolona: med 50 in 80 °C, odvisno od posamezne kolone in priprave.

5.3.3.4 Primerni plini

Nosilni plin: dušik.

Tlak: 2,1 bara.

Pretok: 40 ml/min.

Potrebščine za detektor: kakor je predpisano v navodilih proizvajalca.

6. IZRAČUN

6.1 **Računanje faktorja odziva nitrometana glede na interni standard**

Če „n“ pomeni nitrometan:

naj bo:

k_n = faktor njegovega odziva,

m'_n = njegova masa (v gramih) v mešanici,

S'_n = njegova površina vrha.

Če „c“ pomeni interni standard, kloroform ali 2,4-dimetilheptan:

naj bo:

m'_c = njegova masa (v gramih) v mešanici,

S'_c = njegova površina vrha,

potem je:

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

(k_n je funkcija priprave).

6.2 **Koncentracija nitrometana v vzorcu**

Če „n“ pomeni nitrometan:

naj bo:

k_n = faktor njegovega odziva,

S_n = njegova površina vrha.

Če „c“ pomeni interni standard, kloroform ali 2,4-dimetilheptan:

naj bo:

m_c = njegova masa (v gramih) v mešanici,

S_c = njegova površina vrha,

M = masa (v gramih) aerosola,

potem je % (m/m) nitrometana v vzorcu =

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

7. PONOVLJIVOST⁽¹⁾

Pri približno 0,3-odstotni (m/m) vsebnosti nitrometana naj razlika med rezultatoma dveh vzorednih meritev ne presega absolutne vrednosti 0,03 % (m/m).

KVALITATIVNA IN KVANTITATIVNA DOLOČITEV MERKAPTOETANOJSKE KISLINE V IZDELKIH ZA KODRANJE LAS, ZA RAVNANJE LAS IN ZA DEPILACIJO

1. PODROČJE UPORABE

S to metodo se kvalitativno in kvantitativno določi merkaptotetanojska kislina v izdelkih za kodranje las, za ravnanje las in za depilacijo, v katerih so lahko še drugi reducenti.

2. OPREDELITEV

Vsebnost merkaptotetanojske kisline v vzorcu je po tej metodi izražena z masnim deležem v odstotkih.

3. PRINCIP

Merkaptotetanojska kislina je kvalitativno določena s testom barvne reakcije in tankoplastno kromatografijo, kvantitativno pa z jodometrijo ali plinsko kromatografijo.

4. KVALITATIVNA DOLOČITEV

4.1 **Kvalitativna določitev s testom barvne reakcije**

4.1.1 *Reagenti*

Vsi reagenti naj bodo analitsko čisti.

4.1.1.1 Svinčev diacetatni papir.

4.1.1.2 Raztopina klorovodikove kisline (en volumski del koncentrirane klorovodikove kisline in en volumski del vode).

4.1.2 *Postopek*

4.1.2.1 Kvalitativna določitev merkaptotetanojske kisline v barvni reakciji s svinčevim diacetatom

Kapljica vzorca se kane na svinčev diacetatni papir (4.1.1.1). Če se pojavi intenzivna rumena barva, je najverjetneje navzoča merkaptotetanojska kislina.

Občutljivost: 0,5 %.

4.1.2.2 Karakterizacija anorganskih sulfidov z nastajanjem vodikovega sulfida v reakciji

V epruveto se da nekaj miligramov vzorca. Dodaja se 2 ml destilirane vode in 1 ml klorovodikove kisline (4.1.1.2). Razvijata se vodikov sulfid, prepoznaven po vonju, in črna oborina svinčevega sulfida na svinčevem diacetatnem papirju (4.1.1.1).

⁽¹⁾ ISO 5725.

Občutljivost: 50 ppm.

4.1.2.3 Karakterizacija sulfidov z nastajanjem žveplovega dioksida v reakciji

Ponovi se, kakor je opisano v 4.1.2.2. Raztopina se zavre. Žveplov dioksid je prepoznaven po vonju in reduktivnih lastnostih, na npr. permanganat.

4.2 **Kvalitativna določitev s tankoplastno kromatografijo**

4.2.1 Reagenti

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti, razen kadar je določeno drugače.

4.2.1.1 Merkaptoetanojska kislina (tioglikolska kislina), vsaj 98-odstotne čistote, določene z jodometrijo.

4.2.1.2 2,2'-ditiodietanojska kislina, vsaj 99-odstotne čistote, določene z jodometrijo.

4.2.1.3 2-merkaptopropionska kislina (tiolaktanska kislina); 95-odstotne čistote, določene z jodometrijo.

4.2.1.4 3-merkaptopropionska kislina, vsaj 98-odstotne čistote, določene z jodometrijo.

4.2.1.5 3-merkaptopropan-1,2-diol (1-tioglicerol), vsaj 98-odstotne čistote, določene z jodometrijo.

4.2.1.6 Tankoplastne plošče, silikagel, že pripravljene, debeline 0,25 mm.

4.2.1.7 Tankoplastne plošče, aluminijev oksid, Merck F 254 E ali ekvivalentne.

4.2.1.8 Klorovodikova kislina, koncentrirana $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.

4.2.1.9 Etil acetat.

4.2.1.10 Kloroform.

4.2.1.11 Diizopropil eter.

4.2.1.12 Ogljikov tetraklorid.

4.2.1.13 Led-ocetna kislina.

4.2.1.14 Kalijev jodid, 1-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.15 Platinov tetraklorid, 0,1-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.16 Topila za elucijo.

4.2.1.16.1 Etil acetat (4.2.1.9), kloroform (4.2.1.10), diizopropil eter (4.2.1.11), očetna kislina (4.2.1.13) (20: 20: 10: 10, v/v/v/v).

4.2.1.16.2 Kloroform (4.2.1.10), očetna kislina (4.2.1.13) (90: 20, v/v).

4.2.1.17 Reagenti za detekcijo

4.2.1.17.1 Tik pred uporabo se zmešata enaki prostornini raztopine (4.2.1.14) in raztopine (4.2.1.15).

4.2.1.17.2 Bromovica, 5 % (m/v): 5 g broma se raztopi v 100 ml ogljikovega tetraklorida (4.2.1.12).

4.2.1.17.3 Raztopina fluoresceina, 0,1 % (m/v): 100 mg fluoresceina se raztopi v 100 ml etanola.

4.2.1.17.4 Heksamonijev heptamolibdat, 10-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.18 Referenčne raztopine

4.2.1.18.1 Merkaptoetanojska kislina (4.2.1.1), 0,4-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.18.2 2,2'-ditiodietanojska kislina (4.2.1.2), 0,4-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.18.3 2-merkaptopropionska kislina (4.2.1.3), 0,4-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.18.4 3-merkaptopropionska kislina (4.2.1.4), 0,4-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.1.18.5 3-merkaptopropan-1,2-diol (4.2.1.5); 0,4-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

4.2.2 Aparatura

Običajna aparatura za tankoplastno kromatografijo.

4.2.3 Postopek

4.2.3.1 Obdelava vzorcev

Do pH 1 se nakisajo z nekaj kapljicami klorovodikove kisline (4.2.1.8) in po potrebi filtrirajo.

V nekaterih primerih je vzorec bolje razredčiti. Takrat se nakisa pred razredčenjem.

4.2.3.2 Elucija

Na ploščo se kane 1 µl raztopine vzorca (4.2.3.1) in en liter vsake od petih referenčnih raztopin (4.2.1.18). Previdno se osuši v rahlem toku dušika in eluira plošča s topili (4.2.1.16.1 ali 4.2.1.16.2). Plošča se čim prej posuši, da se prepreči oksidacija tiolov.

4.2.3.3 Detekcija

Plošča se poprši z enim od treh reagentov (4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 ali 4.2.1.17.4). Če je popršena z reagentom (4.2.1.17.3), se nadalje obdeluje s parami broma (npr. nad čašo, ki vsebuje reagent (4.2.1.17.2)), dokler se ne pojavijo lise. Detekcija s pršenjem reagenta (4.2.1.17.4) bo uspešna le, če sušenje tanke plasti ne traja več kakor 30 minut.

4.2.3.4 Razlaga

Rf-vrednosti in barve referenčnih raztopin se primerjajo s standardom. Srednja vrednost R_f, prikazana spodaj, naj bo le vodnik in za primerjavo. Sicer pa so R_f odvisni od:

- stanja aktivacije tanke plasti med kromatografijo,
- temperature posode za kromatografijo.

Primeri R_f-vrednosti, dobljenih na silikagelu

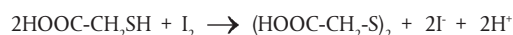
	Topila za elucijo	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Merkaptoetanojska kislina	0,25	0,80
2-merkaptopropionska kislina	0,40	0,95
2,2'-ditioldietanojska kislina	0,00	0,35
3-merkaptopropionska kislina	0,45	0,95
3-merkaptopropan-1,2-diol	0,45	0,35

5. KVANTITATIVNA DOLOČITEV (glej opombo)

Kvantitativna določitev naj se vedno začne s postopkom jodometrije.

5.1 **Jodometrija**5.1.1 *Princip*

Podlaga določanja je oksidacija skupine -SH z jodom v kislem mediju po naslednji enačbi:

5.1.2 *Reagenti*

Jodovica, 0,05 M standardna raztopina.

Opomba: Kvantitativna določitev merkaptanojske kisline mora vedno potekati na neuporabljenem vzorcu in s sveže odprtimi reagenti, da se prepreči oksidacija.

5.1.3 *Aparatura*

Običajna laboratorijska oprema.

5.1.4 *Postopek*

Med 0,5 in 1 g vzorca se natančno odtehta v 50 ml destilirane vode v 150-mililitrski bučki z zamaškom. Doda se 5 ml klorovodikove kisline (4.1.1.2) (pH raztopine približno 0) in titrira z jodovico (5.1.2), dokler se ne pojavi rumena obarvanost. Če je zaželeno, se uporabi indikator (škrobovica v ogljikovemu tetrakloridu).

5.1.5 *Izračun*

Vsebnost merkaptotetanojske kisline se izračuna po naslednji formuli:

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

pri čemer je:

m = masa (v gramih) preskusnega vzorca,

n = volumen porabljene raztopine jodovice (5.1.2).

5.1.6 *Opombe*

Če je rezultat 0,1 % ali več pod največjo dovoljeno vsebnostjo merkaptotetanojske kisline, je nadaljnje kvantitativno določanje nepotrebno. Če pa je rezultat enak največji dovoljeni koncentraciji ali večji od nje in kvalitativna določitev pokaže navzočnost še drugih reducentov, je treba nadaljevati plinsko kromatografijo.

5.2 **Plinska kromatografija**5.2.1 *Princip*

Merkaptotetanojska kislina se loči z obarjanjem z raztopino kadmijevega diacetata. Po metilaciji z diazometanom, pripravljenim in situ ali prej v raztopini dietil etra, se metilni derivat merkaptotetanojske kisline kvantitativno določi s plinsko kromatografijo z metil oktanoatom kot internim standardom.

5.2.2 *Reagenti*

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

5.2.2.1 Merkaptotetanojska kislina, 98 %.

5.2.2.2 Klorovodikova kislina $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.

5.2.2.3 Metanol.

5.2.2.4 Kadmijev diacetat dihidrat, 10-odstotna (m/v) raztopina v vodi.

5.2.2.5 Metil oktanoat, 2-odstotna (m/v) raztopina v metanolu.

5.2.2.6 Acetatni pufer (pH 5):

Natrijev acetat trihidrat, 77g.

Led-ocetna kislina), 27,5 g.

Demineralizirana voda do končne prostornine enega litra.

5.2.2.7 Klorovodikova kislina, 3 M raztopina v metanolu (5.2.2.3), sveže pripravljena.

5.2.2.8 1-metil-3-nitro-1-nitrozogvanidin.

5.2.2.9 Natrijev hidroksid, 5 M raztopina.

5.2.2.10 Jodovica, 0,05 M standardna raztopina.

5.2.2.11 Dietil eter.

5.2.2.12 Raztopina diazometana, pripravljena iz N-metil-N-nitrozotoluen-4-sulfonamida (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)

Pripravljena raztopina vsebuje približno 1,5 g diazometana v 100 ml dietil etra. Ker je diazometan toksičen in zelo nestabilen plin, se morajo opraviti vsi eksperimenti v digestoriju in brez steklovine z brušenimi vratovi in nastavki (za to obstaja posebna oprema).

5.2.3 Aparatura

5.2.3.1 Običajna laboratorijska oprema.

5.2.3.2 Aparatura za pripravo diazometana za metiliranje in situ (glej Fales, H. M., Jaouni, T. M. in Babashak, J. F., *Analyt. Chem.*, 1973, 45, 2302).

5.2.3.3 Aparatura za nadaljnjo pripravo diazometana (Fieser).

5.2.4 Priprava vzorca

V 50-mililitrsko centrifugirno epruveto se natančno odtehta toliko vzorca, da vsebuje približno od 50 do 70 mg merkaptotetanojske kisline. Nakisa se z nekaj kapljicami klorovodikove kisline (5.2.2.2) do pH približno 3.

Doda se 5 ml demineralizirane vode in 10 ml acetatnega pufra (5.2.2.6).

Z indikatorskim papirjem se preveri, ali je pH-vrednost približno 5. Nato se doda 5 ml kadmijevega diacetata (5.2.2.4).

Počaka se 10 minut in potem vsaj 15 minut centrifugira pri 4 000 g. Odstrani se supernatant, ki lahko vsebuje netopne maščobe (če je vzorec krema). Te maščobe se ne morejo mešati s tioli, ki se naberejo na dnu epruvete. Po dodatku nekaj kapljic kadmijevega diacetata (5.2.2.4) supernatantu se preveri, ali nastaja kakšna oborina.

Kadar je prejšnja kvalitativna določitev dokazala, da razen tiolov ni nobenega drugega reducenta, se z jodometrijo preveri, ali prisotni tiol v supernatantu ne presega od 6 do 8 % začetne količine.

V centrifugirno epruveto z oborino se doda 10 ml metanola (5.2.2.3) in dobro premeša s stekleno palčko. Še enkrat se vsaj 15 minut centrifugira pri 4 000 g. Supernatant se odlije in preveri se navzočnost tiolov.

Oborina se še enkrat po istem postopku spere.

V centrifugirno epruveto z oborino se doda:

— 2 ml metil oktanata (5.2.2.5),

— 5 ml klorovodikove kisline v metanolu (5.2.2.7).

Tioli se popolnoma raztopijo (nekaj netopnih ostankov lahko ostane). To je raztopina „S“.

Z alikvotom te raztopine se jodometrično preveri, ali je vsebnost tiola vsaj 90 % vsebnosti, dobljene po 5.1.

5.2.5 Metiliranje

Metiliranje se opravi in situ (5.2.5.1) ali s prej pripravljeno raztopino diazometana (5.2.5.2).

5.2.5.1 Metiliranje in situ

V pripravo za metiliranje (5.2.3.2) se da 1 ml etra (5.2.2.11). Doda se 50 µl raztopine „S“ in metilira po metodi (5.2.3.2) s približno 300 mg 1-metil-3-nitrozogvanidina (5.2.2.8). Po 15 minutah (etna raztopina mora biti rumeno obarvana, kar dokazuje prebitek diazometana) se raztopina prenese v 2-mililitrsko stekleničko, ki se lahko neprepustno zapre. V hladilniku se pusti čez noč. Metilira se po dva vzorca hkrati.

- 5.2.5.2 Metiliranje s prej pripravljeno raztopino diazometana
V 5-mililitrsko stekleničko z zamaškom se da 1 ml diazometana (5.2.2.12) in dolije 50 µl raztopine „S“. V hladilniku se pusti čez noč.
- 5.2.6 Priprava standarda
Pripravi se standardna raztopina merkaptotetanojske kisline (5.2.2.1) poznane koncentracije, ki v 2 ml vsebuje približno 60 mg čiste merkaptotetanojske kisline (5.2.2.1).
To je raztopina „E“.
Obari se, določi se čistota in se metilira, kakor je opisano v 5.2.4 in 5.2.5.
- 5.2.7 Pogoji za plinsko kromatografijo
- 5.2.7.1 Kolona
Cevka: nerjaveče jeklo.
Dolžina: 2 m.
Premer: 3 mm.
- 5.2.7.2 Polnilo
20-odstotni didecil ftalat na kromosorbu, WAW od 80 do 100 mesh.
- 5.2.7.3 Detektor
Plamenska ionizacija. Primerna nastavev občutljivosti elektrometra detektorja s plamensko ionizacijo je $8,10^{-10}$ A.
- 5.2.7.4 Dovodni plini
Nosilni plin: dušik.
tlak: 2,2 bara,
pretok: 35 ml/min.
Pomožni plin: vodik.
tlak: 1,8 bara,
pretok: 15 ml/min.
Potrebščine za detektor: kakor je določeno v navodilih proizvajalca.
- 5.2.7.5 Temperaturne razmere
Injektor: 200 °C.
Detektor: 200 °C.
Kolona: 90 °C.
- 5.2.7.6 Hitrost zapisovanja na trak
5 mm/min.
- 5.2.7.7 Vbrizgan volumen
3 µl (pet vbrizganj).
- 5.2.7.8 Pogoji kromatografije so dani kot vodilo. Ločljivost kolone „R“ mora biti 1,5 ali več, kadar:

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

pri čemer so:

r_1 in r_2 = retenzijska časa (v minutah),

W_1 in W_2 = širini vrhov na polovici višine (v milimetrih),

d' = hitrost papirja (v milimetrih na minuto).

Kromatografijo je priporočljivo končati s postopno nastavitvijo temperature z 90 °C na 150 °C po 10 °C/min, da se odstranijo moteče snovi.

5.2.8 Izračun

5.2.8.1 Proporcijski koeficient merkaptotetanojske kisline

Ta se izračuna glede na metil oktanoat na podlagi standardne mešanice.

Če „t“ pomeni merkaptotetanojsko kislino:

naj bo:

k_t = njen faktor odziva,

m'_t = njena masa (v miligramih) v mešanici,

S'_t = njena površina vrha.

Če „c“ pomeni metil oktanoat:

naj bo:

m'_c = njegova masa (v miligramih) v mešanici,

S'_c = njegova površina vrha,

potem je:

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

Ta koeficient se spreminja glede na uporabljeno pripravo.

5.2.8.2 Koncentracija merkaptotetanojske kisline v vzorcu

Če „t“ pomeni merkaptotetanojsko kislino:

naj bo:

k_t = njen faktor odziva,

S_t = njena površina vrha.

Če „c“ pomeni metil oktanoat:

naj bo:

m_c = njegova masa (v miligramih) v mešanici,

S_c = njegova površina vrha,

M = masa (v miligramih) začetnega preskusnega vzorca,

potem je % (m/m) merkaptotetanojske kisline v vzorcu:

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

6. PONOVLJIVOST⁽¹⁾

Pri 8-odstotni (m/m) vsebnosti merkaptotetanojske kisline v vzorcu naj razlika med dvema vzorednima meritvama istega vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,8 % (m/m).

KVALITATIVNA IN KVANTITATIVNA DOLOČITEV HEKSAKLOROFENA

A. KVALITATIVNA DOLOČITEV

1. PODROČJE UPORABE

Ta metoda je primerna za vse kozmetične izdelke.

2. PRINCIP

Heksaklorofen v vzorcu se ekstrahira z etil acetatom in kvalitativno določi s tankoplastno kromatografijo.

3. REAGENTI

Vsi reagenti naj bodo analitsko čisti.

3.1 Žveplova kislina, 4 M raztopina.

3.2 Celite AW.

3.3 Etil acetat.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 3.4 Elucijsko topilo (topilo za elucijo): benzen, ki vsebuje 1 % (v/v) očetne kisline.
- 3.5 Barvilo I:
raztopina rodamina B: 100 mg rodamina B se raztopi v mešanico 150 ml dietil etra, 70 ml absolutnega etanola in 16 ml vode.
- 3.6 Barvilo II:
2,6-dibromo-4-(kloroimino)cikloheksa-2,5-dienon: 400 mg 2,6-dibromo-4-(kloroimino)cikloheksa-2,5-dienona se raztopi v 100 ml metanola (pripravi se še isti dan).
Raztopina natrijevega karbonata: 10 g natrijevega karbonata se raztopi v 100 ml demineralizirane vode.
- 3.7 Referenčna raztopina
Heksaklorofen, 0,05-odstotna (m/v) raztopina v etil acetatu.
4. APARATURA
- 4.1 Plošče za tankoplastno kromatografijo Kiesel gel 254, 200 x 200 mm (ali ekvivalentne).
- 4.2 Običajna oprema za tankoplastno kromatografijo.
- 4.3 Kopel, vzdrževana pri stalni temperaturi 26 °C, v katero je potopljena posoda za razvijanje kromatograma.
5. PRIPRAVA PRESKUSNEGA VZORCA
- 5.1 1 g homogeniziranega vzorca se temeljito zmeša z 1g Celita AW (3.2) in 1 ml žveplove kisline (3.1).
- 5.2 Pri 100 °C se suši dve uri.
- 5.3 Posušen ostanek se ohladi in upraši.
- 5.4 Dvakrat se ekstrahira z 10 ml etil acetata (3.3), po vsaki ekstrakciji se acetatne faze centrifugirajo in združijo.
- 5.5 Izpari se pri 60 °C.
- 5.6 Ostanek se raztopi v 2 ml etil acetata (3.3).
6. POSTOPEK
- 6.1 2 µl preskusne raztopine (5.6) in 2 µl referenčne raztopine (3.7) se kane na ploščo za tankoplastno kromatografijo (4.1).
- 6.2 Kad (4.3) se nasiti s topilom za elucijo (3.4).
- 6.3 Plošča za tankoplastno kromatografijo se potopi v kad in eluira do 150 mm.
- 6.4 Plošča za tankoplastno kromatografijo se odstrani in se posuši v peči z napo pri 105 °C.
- 6.5 **Obarvanje**
Lise heksaklorofena se na tankoslojni plošči obarvajo, kakor je opredeljeno v 6.5.1 ali 6.5.2.

6.5.1 Barvilo I (3.5.) se enakomerno poprši po plošči. Po 30 minutah se plošča pri 254 nm pregleda pod UV-svetilko.

6.5.2 2,6-dibromo-4-(kloroimino)cikloheksa-2,5-dienon barvila II (3.6) se enakomerno poprši po plošči. Potem se poprši z raztopino natrijevega karbonata (3.6). Po 10 minutah sušenja pri sobni temperaturi se plošča pregleda pri dnevni svetlobi.

7. RAZLAGA

7.1 Barvilo I (3.5):

Heksaklorofen je viden kot modrikasta lisa na rumenooranžno fluorescirajočem ozadju in ima R_f približno 0,5.

7.2 Barvilo II (3.6):

Heksaklorofen je viden kot nebesno modra do turkizna lisa na belem ozadju in ima R_f približno 0,5.

B. KVANTITATIVNA DOLOČITEV

1. PODROČJE UPORABE

Ta metoda se uporablja za vse kozmetične izdelke.

2. OPREDELITEV

Vsebnost heksaklorofena v vzorcu, določena po tej metodi, je izražena v masnem deležu v odstotkih.

3. PRINCIP

Heksaklorofen se po pretvorbi v metil derivat kvantitativno določa s plinsko kromatografijo in detektorjem na zajetje elektronov (ECD).

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Etil acetat.

4.2 *N*-metil-*N*-nitrozo-*p*-toluensulfonamid (diazald).

4.3 Dietil eter.

4.4 Metanol.

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

4.6 Metanojska kislina.

4.7 Kalijev hidroksid; 50-odstotna (m/m) vodna raztopina (vsak dan sveže pripravljena).

- 4.8 Heksan za spektroskopijo.
- 4.9 Bromoklorofen (standard št. 1).
- 4.10 4,4',6,6'-tetrakloro-2,2'-diodifenol (standard št. 2).
- 4.11 2,4,4'-trikloro-2-hidroksi-difenil eter (standard št. 3).
- 4.12 Aceton.
- 4.13 4 M žveplova kislina.
- 4.14 Celite AW.
- 4.15 Metanojska kislina/etil acetat, 10-odstotna (v/v) raztopina.
- 4.16 Heksaklorofen.
5. APARATURA
- 5.1 Običajna laboratorijska steklovina.
- 5.2 Miniaparat za pripravo diazometana (Analyt. Chem., 1973, 45, 2302-2).
- 5.3 Plinski kromatograf, opremljen s ⁶³Ni izvorom elektronov za detektor na zajetje elektron (ECD).
6. POSTOPEK
- 6.1 **Priprava standardne raztopine**
- Standard je izbran tako, da ne interferira z nobeno snovjo v vzorcu za analizo. Navadno je najustreznejši standard št. 1 (4.9).
- 6.1.1 V 100-mililitrsko merilno bučko se natančno odtehta približno 50 mg standarda št. 1, 2 ali 3 (4.9, 4.10 ali 4.11) in 50 mg heksaklorofena (4.16). Do oznake se dolije etil acetat (4.1) (raztopina A). 10 ml raztopine A se na 100 ml razredči z etil acetatom (4.1) (raztopina B).
- 6.1.2 V 100-mililitrsko merilno bučko se natančno odtehta približno 50 mg standarda št. 1, 2 ali 3 (4.9, 4.10 ali 4.11). Do oznake se dolije etil acetat (4.1) (raztopina C).
- 6.2 **Priprava vzorca** ⁽¹⁾
- Natančno se stehta 1g homogeniziranega vzorca in se temeljito zmeša z 1 ml žveplove kisline (4.13), 15 ml acetona (4.12) in 8 g celita AW (4.14). 30 minut se suši v parni kopeli na zraku in potem še uro in pol v peči z napo. Ostanek se ohladi in upraši ter prenese v stekleno kolono. Eluira se z etil acetatom (4.1) in zbere 100 ml. Doda se 2 ml internega standarda (raztopine C) (6.2.1).

⁽¹⁾ Ker obstaja vrsta izdelkov, v katerih je lahko heksaklorofen, je pomembno, da se najprej, preden se zapišejo rezultati, preveri rekuperacija heksaklorofena iz vzorca po tem postopku. Če so rekuperacije nizke, se lahko s soglasjem zainteresiranih strani uvedejo spremembe, kot je zamenjava topila (benzol namesto etilacetata) itd.

6.3 Metiliranje vzorca

Za dve uri se vsi reagenti in priprave ohladijo na 0–4 °C. V zunanji del aparature za pripravo diazometana (5.2) se da 1,2 ml raztopine, dobljene po 6.2, in 0,1 ml metanola (4.4). V centralni rezervoar se da 200 mg diazalda (4.2), doda se 1 ml karbitola (4.5) in 1 ml dietil etra (4.3) ter raztopi. Priprava se sestavi, na pol se jo potopi v kopel pri 0 °C in z brizgo se v centralni rezervoar doda približno 1 ml ohlajene raztopine kalijevega hidroksida (4.7). Rumena barva tvorbe diazometana naj se ohrani. Če se ne, se metiliranje ponovi z naslednjimi 200 mg diazalda (4.2) (1).

Po 15 minutah se priprava odstrani iz kopeli in se približno 12 ur pusti zaprta pri sobni temperaturi. Priprava se odpre, prebitek diazometana se zreagira z dodatkom nekaj kapljic 10-odstotne (v/v) raztopine metanojske kisline v etil acetatu (4.15) in raztopina se prenese v 25-mililitrsko merilno bučko. Do oznake se dolije heksan (4.8).

V kromatograf se vbrizga 1,5 µl dobljene raztopine.

6.4 Metiliranje standarda

Za dve uri se vsi reagenti in priprave ohladijo na približno 0–4 °C. V zunanji del aparature za pripravo diazometana (5.2) se da:

0,2 ml raztopine B (6.1.1),

1 ml etil acetata (4.1),

0,1 ml metanola (4.4).

Metiliranje se nadaljuje, kakor je opisano v 6.3. V kromatograf se vbrizga 1,5 µl dobljene raztopine.

7. PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Ločljivost kolone „R“ mora biti 1,5 ali več, kadar:

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

pri čemer so:

r_1 in r_2 = retenzijska časa (v minutah),

W_1 in W_2 = širini vrhov na polovici višine (v milimetrih),

d' = hitrost papirja (v milimetrih na minuto)

Naslednji pogoji za kromatografijo so se izkazali za primerne:

Kolona: nerjaveče jeklo.

Dolžina: 1,7 m.

Premer: 3 mm.

Podpora:

kromosorb: WAW

frita: od 80 do 100 mesh.

Stacionarna faza: 10 % OV 17.

Temperature:

kolona: 280 °C,

injektor: 280 °C,

detektor: 280 °C.

Nosilni plin: dušik brez kisika.

Tlak: 2,3 bara.

Pretok: 30 ml/min.

(1) Rumena barva kaže prebitek diazometana, potreben za popolno metiliranje vzorca.

8. IZRAČUN

8.1 **Proporcijski koeficient heksaklorofena**

Ta se izračuna glede na izbrani standard v zvezi s standardno mešanico.

Naj bo:

h = heksaklorofen,

k_h = njegov proporcijski koeficient,

m'_h = njegova masa (v gramih) v mešanici,

A'_h = njegova površina vrha,

s = izbrani standard,

m'_s = njegova masa (v gramih) v mešanici,

A'_s = njegova površina vrha,

potem je:

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

8.2 **Vsebnost heksaklorofena v vzorcu**

Naj bo:

h = heksaklorofen,

k_h = njegov proporcijski koeficient,

A_h = njegova površina vrha,

s = izbrani standard,

m_s = njegova masa (v gramih) v mešanici,

A_s = njegova površina vrha,

M = masa (v gramih) vzorca, odvzetega za analizo,

potem je % (m/m) heksaklorofena v vzorcu

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

9. PONOVLJIVOST ⁽¹⁾

Pri 0,1-odstotni (m/m) vsebnosti heksaklorofena naj razlika med dvema vzporednima meritvama vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,005 % (m/m).

KVANTITATIVNA DOLOČITEV NATRIJEVEGA P-TOLUENSULFONKLORAMIDA (KLORAMINA-T) (TOZILKLORAMID NATRIJA)

1. PODROČJE UPORABE

Ta metoda se nanaša na kvantitativno določitev natrijevega tozilkloramida (kloramina-T) v kozmetičnih izdelkih s tankoplastno kromatografijo.

⁽¹⁾ ISO 5725.

2. OPREDELITEV

Vsebnost kloramina-T v vzorcu, določena po tej metodi, je izražena v masnem deležu v odstotkih (m/m).

3. PRINCIP

Kloramin-T se popolnoma hidrolizira v 4-toluensulfonamid z vrenjem v klorovodikovi kislini.

Količina nastalega 4-toluensulfonamida je določena s fotodenzitometrijo po tankoplastni kromatografiji.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Natrijev tozilkloramid (kloramin-T).

4.2 Standardna raztopina 4-toluensulfonamida: 50 mg 4-toluensulfonamida v 100 ml etanola (4.5).

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

4.4 Dietil eter.

4.5 Etanol, 96 % (v/v).

4.6 **Topilo za razvijanje**

4.6.1 1-butanol, etanol (4.5), voda (40: 4: 9; v/v/v) ali

4.6.2 kloroform, aceton (6: 4; v/v).

4.7 Že pripravljena plošča za tankoplastno kromatografijo, silikagel 60, brez fluorescenčnega indikatorja.

4.8 Kalijev permanganat.

4.9 Klorovodikova kislina, 15 % (m/m).

4.10 Pršilni reagent: 2-toluidin, 1-odstotna (m/v) raztopina v etanolu (4.5).

5. APARATURA

5.1 Običajna laboratorijska oprema.

5.2 Običajna oprema za tankoplastno kromatografijo.

5.3 Fotodenzitometer.

6. POSTOPEK

6.1 **Hidroliza**

V 50-mililitrsko bučko z okroglim dnom se natančno odtehta približno 1 g vzorca (m). Doda se 5 ml vode in 5 ml klorovodikove kisline (4.3), ki naj eno uro vreta pod reflukso. Vroča suspenzija z vodo se takoj prenese v 50-mililitrsko merilno bučko. Ohladi se in do oznake se dolije voda. Pet minut se centrifugira pri vsaj 3 000 obratih na minuto in supernatant se prefiltrira.

6.2 **Ekstrakcija**

6.2.1 30 ml filtrata se trikrat ekstrahira s 15 ml dietil etera (4.4). Če je treba, se etrne faze osušijo in zberejo v 50-mililitrsko merilno bučko. Do oznake se dolije dietil eter (4.4).

6.2.2 25 ml osušenega etrnega ekstrakta se v toku dušika izpareva do suhega. Ostanek se spet raztopi v 1 ml etanola (4.5).

6.3 **Tankoplastna kromatografija**

6.3.1 20 µl etanolovega ostanka (6.2) se kane na ploščo za tankoplastno kromatografijo (4.7).

Sočasno se kane 8, 12, 16 in 20 µl standardne raztopine 4-toluensulfonamida (4.2).

6.3.2 Nato se pusti, da topilo za razvijanje (4.6.1 ali 4.6.2) potuje približno 150 mm.

6.3.3 Po popolni izparitvi topila za razvijanje se plošča za dve ali tri minute postavi v atmosfero klorovih par, ki se pripravi tako, da se 100 ml klorovodikove kisline (4.9) prelije čez 2 g kalijevega permanganata (4.8) v zaprti posodi. Prebiten klor se odstrani s 5-minutnim segrevanjem pri 100 °C. Potem se plošča poprši z reagentom (4.10).

6.4 **Meritev**

Po približno eni uri se s fotodenzitometrom pri 525 nm izmerijo vijolične lise.

6.5 **Izris umeritvene krivulje**

Označijo se najvišje vrednosti vrhov, dobljene pri štirih 4-toluensulfonamidnih lisah proti korespondenčnim količinam 4-toluensulfonamida (npr. 4, 6, 8, 10 µg 4-toluensulfonamida na liso).

7. OPOMBA

Ta metoda se lahko kontrolira z 0,1 ali 0,2-odstotno (m/v) raztopino kloramina-T, uporabljenega tako kot vzorec (6.).

8. IZRAČUN

Vsebnost kloramina-T v vzorcu, izražena kot masni delež v odstotkih, se izračuna takole:

$$\% \text{ (m/m) tozilkloramid natrija} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m}$$

pri čemer je:

$1,33$ = konverzijski faktor 4-toluensulfonamid-kloramina-T,

a = vsebnost (v μg) 4-toluensulfonamida v vzorcu, kot je odčitana z umeritvene krivulje,

m = masa vzorca (v gramih).

9. PONOVLJIVOST ⁽¹⁾

Pri približno 0,2-odstotni (m/m) vsebnosti kloramina-T naj razlika med dvema vzorednima meritvama istega vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,03 % (m/m).

KVANTITATIVNA DOLOČITEV SKUPNEGA FLUORA V KREMAH ZA ZOBE

1. PODROČJE UPORABE

Ta metoda je uporabna za določanje količine skupnega fluora v kremah za zobe. Primerna je za stopnje, ki ne presegajo 0,25 %.

2. OPREDELITEV

Vsebnost fluora v vzorcu, določena po tej metodi, je izražena v masnem deležu v odstotkih.

3. PRINCIP

Kvantitativna določitev poteka s plinsko kromatografijo. Fluor iz zmesi, ki ga vsebujejo, se pretvori v trietilfluorosilan (TEFS) z neposredno reakcijo s klorotrietilsilanom (TECS) v kisli raztopini in simultano ekstrahira s ksilenom, ki vsebuje cikloheksan kot interni standard.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

4.1 Natrijev fluorid, sušen pri 120 °C do konstantne mase.

4.2 Voda, dvakrat destilirana ali enake kakovosti.

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

4.4 Cikloheksan (CH).

4.5 Ksilen brez vrhov na kromatogramu zaradi vrha topila, ko se kromatografira po enakih pogojih kakor vzorec (6.1). Če je treba, se očisti z destilacijo (5.8).

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 4.6 Klorotrietilsilan (TECS Merck ali ekvivalenten).
- 4.7 **Standardne raztopine fluora**
- 4.7.1 Raztopina, 0,25 mg F/ml. Natančno se stehta 138,1 mg natrijevega fluorida (4.1) in se raztopi v vodi (4.2). Raztopino se kvantitativno prenese v 250-mililitrsko merilno bučko (5.5). Do oznake se razredči z vodo (4.2) in premeša.
- 4.7.2 Razredčena raztopina, 0,05 mg F/ml. S pipeto se 20 ml raztopine (4.7.1) prenese v 100-mililitrsko volumetrično bučko (5.5). Do oznake se razredči z vodo in premeša.
- 4.8 **Raztopina internega standarda**
- 1 ml cikloheksana (4.4) se zmeša z 5 ml ksilena (4.5).
- 4.9 **Klorotrietilsilan/raztopina internega standarda**
- S pipeto (5.7) se 0,6 ml TECS (4.6) in 0,12 ml raztopine internega standarda (4.8) prenese v 10-mililitrsko merilno bučko (4.5). Do oznake se razredči s ksilenom in premeša. Vsak dan se sveže pripravi.
- 4.10 Perklorova kislina, 70 % (m/v).
- 4.11 Perklorova kislina, 20 % (m/v) v vodi (4.2).
5. APARATURA
- 5.1 Standardna laboratorijska oprema.
- 5.2 Plinski kromatograf z detektorjem s plamensko ionizacijo.
- 5.3 Mešalo Vortex ali ekvivalentno.
- 5.4 Mešalnik Buehler, tip SMB₁, ali ekvivalenten.
- 5.5 Merilne bučke, 100- in 250-mililitrske, narejene iz polipropilena.
- 5.6 Steklene epruvete za centrifugiranje; 20-mililitrske s teflonskimi zamaški na navoj, tip Sovirel 611-56 ali ekvivalenten. Epruvete in zamaški se očistijo z večurnim namakanjem v perklorovi kislini (4.11), s petimi spiranji z vodo (4.2) in sušenjem pri 100 °C.
- 5.7 Pipete za 50 do 200 µl z odstranljivimi plastičnimi vrhovi.
- 5.8 Priprava za destilacijo, opremljena s Schneiderjevo trikroglično kolono ali ekvivalentno Vigreuxovo kolono.

6. POSTOPEK
- 6.1 **Analiza vzorca**
- 6.1.1 Neuporabljena tuba kreme za zobe se odpre in vsa vsebina se iztisne v plastično posodo. Temeljito se premeša in shrani tako, da se ne pokvari.
- 6.1.2 150 mg (m) vzorca se natančno odtehta v epruveto za centrifugiranje (5.6), doda se 5 ml vode (4.2) in homogenizira (5.3).
- 6.1.3 Doda se 1 ml ksilena (4.5).
- 6.1.4 5 ml klorovodikove kisline (4.3) se nakapa in homogenizira (5.3).
- 6.1.5 S pipeto se v centrifugirno epruveto (5.6) doda 0,5 ml klorotrietilsilana/raztopine internega standarda (4.9).
- 6.1.6 Epruveta (5.6) se zapre z zamaškom na navoj in meša 45 minut v mešalniku (5.4), nastavljenem na 150 udarcev na minuto.
- 6.1.7 10 minut se centrifugira pri taki hitrosti, da se dobi čista separacija faz, epruveta se odpre, odstrani se organska faza in vbrizga 3 μ l organske faze v kolono za plinsko kromatografijo (5.2).

Opomba:

ponavadi traja 20 minut, da se eluirajo vse sestavine.

- 6.1.8 Postopek vbrizgavanja se ponovi, izračuna se povprečna površina vrha (A_{TEFS}/A_{CH}) in z umeritvene krivulje (6.3) se odčita količina fluora (v miligramih (m_1)).
- 6.1.9 Izračuna se skupna vsebnost fluora v vzorcu (v masnih odstotkih), kakor je prikazano v odstavku 7.

6.2 **Pogoji za kromatografijo**

- 6.2.1 Kolona: nerjaveče jeklo.

Dolžina: 1,8 m.

Premer: 3 mm.

Podpora: Gaschrom Q, 80 do 100 mesh.

Stacionarna faza: silikonsko olje DC 200 ali ekvivalentno, 20-odstotno. Kolona se čez noč kondicionira pri 100 °C (nosilni plin: dušik pri 25ml/min), kar se ponovi vsako noč. Po vsakem četrtem ali petem vbrizganju se kolona rekondicionira s 30-minutnim segrevanjem pri 100 °C.

Temperature:

kolona: 70 °C,

injektor: 150 °C,

detektor: 250 °C.

Nosilni plin: dušik pri 35 ml/min.

6.3 **Umeritvena krivulja**

- 6.3.1 S pipeto se da v serijo šestih centrifugirnih epruvet (5.6) 0, 1, 2, 3, 4 in 5 ml razredčene standardne raztopine fluorida (4.7.2). V vsako se dolije do 5 ml vode (4.2).

- 6.3.2 Nadaljuje se, kakor je opisano v 6.1.3 do 6.1.6.
- 6.3.3 3 µl organske faze se vbrizga v kolono plinskega kromatografa (5.2).
- 6.3.4 Vbrizganje se ponovi in izračuna se povprečna površina vrha ($A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$).
- 6.3.5 Izriše se umeritvena krivulja odvisnosti mase fluora (v miligramih) v standardni raztopini (6.3.1) in površine vrha ($A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$), izmerjenega po 6.3.4. Točke na grafu se povežejo z najbolje prilegajočo se krivuljo, izračunano z regresivno analizo.

7. IZRAČUN

Koncentracija skupnega fluora v vzorcu je izražena z (masnim deležem fluora v odstotkih) (% (m/m) F):

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

pri čemer je:

m = masa preskusnega vzorca (v miligramih) (6.1.2),

m_1 = masa fluora (v miligramih), odčitana z umeritvene krivulje (6.1.8).

8. PONOVLJIVOST (1)

Pri približno 0,15-odstotni (m/m) vsebnosti fluora naj razlika med dvema vzporednima meritvama istega vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,012 % (m/m).

KVALITATIVNA IN KVANTITATIVNA DOLOČITEV ŽIVOSREBROVIH ORGANSKIH SPOJIN

PODROČJE UPORABE

Metoda, ki je opisana spodaj, je lahko uporabna za kvantitativno in kvalitativno določitev živosrebrovih organskih spojin, uporabljenih kot konzervansi v kozmetičnih izdelkih za oči. Uporabna je za tiomersal (INN) (natrijev 2-(etilmerkuriotio)benzoat), fenilživosrebro in njegove soli.

A. KVALITATIVNA DOLOČITEV

1. PRINCIP

Iz živosrebrovih organskih spojin nastane kompleks z 1,5-difenil-3-tiokarbazonom. Po ekstrakciji ditiozonata z ogljikovim tetrakloridom se opravi tankoplastna kromatografija na silikagelu. Lise ditiozonata so oranžno obarvane.

2. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

2.1 Žveplove kisline, 25 % (v/v).

(1) ISO 5725.

- 2.2 1,5-difenil-3-tiokarbazon (ditizon): 0,8 mg v 100 ml ogljikovega tetraklorida.
- 2.3 Dušik.
- 2.4 Ogljikov tetraklorid.
- 2.5 Topilo za razvijanje: heksan, aceton, 90:10 (v/v).
- 2.6 0,001-odstotna standardna raztopina v vodi iz:
- natrijevega 2-(etilživosrebrovegatio)benzoata,
- etil- ali metilživosrebrovega klorida,
- fenilživosrebrovega nitrata ali acetata,
- živosrebrovega diklorida ali živosrebrovega di(acetata).
- 2.7 Že pripravljene plošče s silikagelom (npr. Merck 5721 ali enakovredne).
- 2.8 Natrijev klorid.
3. APARATURA
- 3.1 Običajna laboratorijska oprema.
- 3.2 Običajna TLC-oprema.
- 3.3 Filter za ločevanje faz.
4. POSTOPEK
- 4.1 **Ekstrakcija**
- 4.1.1 1g vzorca se v centrifugirni epruveti razredči s titracijo z 20 ml destilirane vode. Ohrani se največja možna disperznost in se v vodni kopeli segreje na 60 °C. Doda se 4 g natrijevega klorida (2.8). Preprese se in ohladi.
- 4.1.2 Centrifugira se najmanj 20 minut pri 4 500 obr./min, da se od raztopine loči čim več trdnih delcev. Prefiltrira se v lij ločnik in doda 0,25 ml raztopine žveplove kisline (2.1).
- 4.1.3 Večkrat se ekstrahira z 2 ali 3 ml raztopine ditizona (2.2), dokler je organska faza zelena.
- 4.1.4 Vsaka organska faza se prefiltrira skozi filter za ločevanje faz (3.3).
- 4.1.5 Do suhega se izpareva v toku dušika (2.3).
- 4.1.6 Raztopi se v 0,5 ml ogljikovega tetraklorida (2.4). Ta raztopina se uporabi takoj, kakor je opisano v 4.2.1.

4.2 *Separacija in kvalitativna določitev*

- 4.2.1 Takoj se uporabi 50 μ l raztopine ogljikovega tetraklorida, dobljene v 4.1.6, na plošči s silikagelom (2.7). Hkrati se uporabi 10 ml standardne raztopine (2.6) kakor v 4.1 in 50 μ l raztopine, dobljene v 4.1.6, se kane na isto ploščo.
- 4.2.2 Plošča se namesti v topilo (2.5) in pusti, da fronta doseže 150 mm. Živosrebrove organske spojine se pojavijo kot obarvane lise, katerih barva se obdrži, če se plošča pokrije s stekleno ploščo takoj, ko topilo izhlapi.

Za primer so navedene naslednje Rf-vrednosti:

	Rf	Barva
Tiomersal	0,33	oranžna
Etilživosrebrov klorid	0,29	oranžna
Metilživosrebrov klorid	0,29	oranžna
Fenilživosrebrove soli	0,21	oranžna
Živosrebrove (II) soli	0,10	oranžna
Živosrebrov di(acetat)	0,10	oranžna
1,5-difenil-3-tiokarbazon	0,09	rožnata

B. KVANTITATIVNA DOLOČITEV

1. OPREDELITEV

Vsebnost živosrebrovih organskih spojin, določena po tej metodi, je izražena kot masni delež živega srebra v vzorcu (m/m) v odstotkih.

2. PRINCIP

Metoda temelji na merjenju skupne količine živega srebra. Zato se je treba najprej prepričati o popolni odsotnosti živega srebra v anorganskem stanju in kvalitativno določiti derivat živosrebrove organske spojine v vzorcu. Po mineralizaciji se živo srebro meri z brezplamensko atomsko absorpcijo.

3. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

- 3.1 Koncentrirana dušikova kislina, $d_4^{20} = 1,41$ g/ml.
- 3.2 Koncentrirana žveplova kislina, $d_4^{20} = 1,84$ g/ml.
- 3.3 Redestilirana voda.
- 3.4 Kalijev permanganat, 7-odstotna (m/v) raztopina.
- 3.5 Hidroksilamonijev klorid, 1,5-odstotna (m/v) raztopina.
- 3.6 Dikalijev peroksodisulfat, 5-odstotna (m/v) raztopina.

- 3.7 Kositrov diklorid, 10-odstotna (m/v) raztopina.
- 3.8 Koncentrirana klorovodikova kislina, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml.
- 3.9 S paladijevim dikloridom impregnirana steklena volna, 1 % (m/m).
4. APARATURA
- 4.1 Običajna laboratorijska oprema.
- 4.2 Priprava za brezplamensko atomsko absorpcijo za kvantitativno določitev živega srebra (tehnika s hladno paro) skupaj s potrebno steklovino. Pot do celice vsaj 100 mm.
5. POSTOPEK
- Upoštevajte vsa varnostna navodila o delu s sledmi živega srebra.
- 5.1 **Razgrajevanje**
- 5.1.1 Natančno se stehta 150 mg vzorca (m). Doda se 10 ml dušikove kisline (3.1) in pusti, da se v treh urah z občasnim stresanjem razgradi v neprepustno zaprti bučki v vodni kopeli pri 55 °C. Sočasno se opravijo slepi preskusi na reagentih.
- 5.1.2 Po ohlajanju se doda 10 ml žveplove kisline (3.2) in se spet za 30 minut postavi v vodno kopel pri 55 °C.
- 5.1.3 Bučka se postavi v ledeno kopel in previdno se doda 20 ml vode (3.3).
- 5.1.4 Dodaja se 2 ml alikvotne 7-odstotne raztopine kalijevega permanganata (3.4), dokler raztopina ne ostane obarvana. Še za 15 minut se postavi v vodno kopel pri 55 °C.
- 5.1.5 Doda se 4 ml raztopine kalijevega peroksodisulfata (3.6). Segrevanje se nadaljnjih 30 minut nadaljuje v vodni kopeli pri 55 °C.
- 5.1.6 Pusti se, da se ohladi, in vsebina se prenese v 100-mililitrsko standardno bučko. Bučko, v kateri je bila pripravljena raztopina s 5 ml hidroksilamonijevega klorida (3.5), se spere in nato se to stori še štirikrat z 10 ml vode (3.3). Raztopina mora biti popolnoma brezbarvna. Do oznake se dolije voda (3.3).
- 5.2 **Kvantitativna določitev**
- 5.2.1 10 ml preskusne raztopine (5.1.6) se da v stekleno posodo za hladno določanje živosrebrih par (4.2). Razredči se s 100 ml vode (3.3) ter naknadno doda 5 ml žveplove kisline (3.2) in 5 ml raztopine kositrovega diklorida (3.7). Po vsakem dodajanju se premeša. Počaka se 30 sekund, da vse ionizirano živo srebro reducira v elementarno (kovinsko) stanje, in meritev se opravi (n).
- 5.2.2 Med stekleno posodo z živosrebrih ioni in kiveto inštrumenta (4.2) se postavi nekaj steklene volne, impregnirane s paladijevim dikloridom (3.9). 5.2.1 se ponovi in opravi se meritev. Če rezultat ni 0, mineralizacija ni stekla do konca in je treba analizo ponoviti.

6. IZRAČUN

Naj bo:

m = masa (v miligramih) preskusnega vzorca.

n = količina živega srebra (v mikrogramih), odčitana z merilnega inštrumenta.

Vsebnost živega srebra, ki je izražena kot masni delež živega srebra v vzorcu (m/m) v odstotkih, se izračuna po naslednji formuli:

$$\% \text{ živega srebra} = \frac{n}{m}$$

7. OPOMBE

7.1 Za izboljšanje mineralizacije je treba najprej redčiti vzorec.

7.2 Če je absorpcija živega srebra (by the substrate) pričakovana, je potrebna kvantitativna analiza po metodi standardnih dodatkov.

8. PONOVLJIVOST ⁽¹⁾

Če je koncentracija živega srebra 0,007-odstotna, naj razlika med dvema vzporednima meritvama vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,00035 %.

KVANTITATIVNA DOLOČITEV ALKALIJ IN BAZIČNIH ZEMELJSKIH SULFIDOV

1. PODROČJE UPORABE

S to metodo se določa količina sulfidov v kozmetičnih izdelkih. Navzočnost tiolov in drugih reducentov (vključno s sulfiti) ne moti.

2. OPREDELITEV

Koncentracija sulfidov, določena po tej metodi, je izražena kot masni delež žvepla v vzorcu v odstotkih.

3. PRINCIP

Po nakisanju medija se vodikov sulfid vodi v dušiku in fiksira v obliki kadmijevega sulfida. Slednji se filtrira in s pere ter določi z jodometrijo.

4. REAGENTI

Vsi reagenti morajo biti analitsko čisti.

⁽¹⁾ ISO 5725.

- 4.1 Koncentrirana klorovodikova kislina, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.
- 4.2 Natrijev tiosulfat, 0,1 M standardna raztopina.
- 4.3 Jodovica, 0,05 M standardna raztopina.
- 4.4 Dinatrijev sulfid.
- 4.5 Kadmijev di(acetat).
- 4.6 Koncentriran amonijak, $d_4^{20} = 0,90$ g/ml.
- 4.7 Amonijakalna raztopina kadmijevega di(acetata): v približno 50 ml vode se raztopi 10 g kadmijevega di(acetata) (4.5). Dodaja se amonijak (4.6), dokler se oborina ne raztopi (približno 20 ml). Do oznake 100 ml se dolije voda.
- 4.8 Dušik.
- 4.9 Raztopina amonijaka M.
5. APARATURA
- 5.1 Običajna laboratorijska oprema.
- 5.2 100-mililitrska bučka z okroglim dnom, s tremi standardnimi brušenimi vratovi.
- 5.3 Dve 150-mililitrski erlenmajerici z brušenimi vratovi, opremljeni s potopljeno cevko in stransko izhodno cevko za izenačevanje tlaka.
- 5.4 Lij z dolgim vratom.
6. POSTOPEK
- 6.1 **Pretvorba sulfidov**
- 6.1.1 Uporabi se še neodprt vzorec. V bučko z okroglim dnom (5.2) se natančno odtehta masa (m) (izraženo v gramih) izdelka, ki ustreza največ 30 mg sulfidnih ionov. Doda se 60 ml vode in dve kapljici tekočine proti penjenju.
- 6.1.2 50 ml raztopine (4.7) se prenese v vsako izmed dveh erlenmajeric (5.3).
- 6.1.3 Kapalni lij, potopljena in izhodna cevka se namestijo v bučko z okroglim dnom (5.2). Izhodna cevka se poveže z erlenmajericami (5.3), ki so povezane s plastično cevko.

Opomba: priprava za pretvorbo mora prestati preskus tesnjenja: v simuliranih pogojih reakcije nadomesti vzorec z 10-mililitrsko raztopino sulfida (pripravljeno po 4.4), ki vsebuje „X mg“ sulfida (določeno z jodometrijo). Naj bo „Y“ miligrami sulfida, pridobljenega po koncu poskusa. Razlika med „X“ in „Y“ naj ne presega 3 %.

- 6.1.4 Skozi napravo se za 15 minut s hitrostjo dveh mehurčkov na sekundo spusti dušik (4.8), da se iz bučke odstrani ves kisik (5.2).
- 6.1.5 Bučka z okroglim dnom se segreva pri 85 ± 5 °C.
- 6.1.6 Dovod dušika (4.8) se ustavi in po kapljicah se doda 40 ml klorovodikove kisline (4.1).
- 6.1.7 Dovod dušika (4.8) se spet odpre, ko je prenesena vsa kislina, in na vratu se pusti minimalna količina tekočine, da se prepreči izhajanje plinastega vodikovega sulfida.
- 6.1.8 Po 30 minutah se segrevanje konča. Pusti se, da se bučka (5.2) ohladi, dušik (4.8) pa se dovaja še vsaj uro in pol.
- 6.2 **Titracija**
- 6.2.1 Kadmijev sulfid se prefiltrira skozi lij z dolgim vratom (5.4).
- 6.2.2 Erlenmajerice (5.3) se sperejo z raztopino amonijaka (4.9), kar se prefiltrira. Potem se spere z destilirano vodo in voda se uporabi, da se spere oborina na filtru.
- 6.2.3 Oborina se do konca spere s 100 ml vode.
- 6.2.4 Papirnat filter se postavi v prvo erlenmajerico, ki vsebuje oborino. Doda se 25 ml (n_1) jodovice (4.3), približno 20 ml klorovodikove kisline (4.1) in 50 ml destilirane vode.
- 6.2.5 Prebitek jodovice se določi z raztopino natrijevega tiosulfata (n_2) (4.2).

7. IZRAČUN

Vsebnost sulfida v vzorcu, izražena kot masni delež žvepla v odstotkih, se izračuna po naslednji formuli:

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

pri čemer je:

n_1 = volumen (v mililitrih) porabljene standardne raztopine jodovice (4.3),

x_1 = molarnost te raztopine,

n_2 = volumen (v mililitrih) standardne raztopine natrijevega tiosulfata (4.2),

x_2 = molarnost te raztopine,

m = masa (v gramih) preskusnega vzorca.

8. PONOVLJIVOST ⁽¹⁾

Pri približno 2-odstotni (m/m) vsebnosti sulfida naj razlika med dvema vzporednima meritvama istega vzorca ne presega absolutne vrednosti 0,2 % (m/m).

⁽¹⁾ ISO 5725.