31983L0514

24.10.1983 ÚŘEDNÍ VĚSTNÍK EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ L 291/9

TŘETÍ SMĚRNICE KOMISE

ze dne 27. září 1983

o sbližování právních předpisů členských států týkajících se metod analýzy nezbytných pro kontrolu složení kosmetických prostředků

(83/514/EHS)

KOMISE EVROPSKÝCH SPOLEČENSTVÍ,

s ohledem na Smlouvu o založení Evropského hospodářského společenství,

s ohledem na směrnici Rady 76/768/EHS ze dne 27. července 1976 o sbližování právních předpisů členských států týkajících se kosmetických prostředků [1], naposledy pozměněnou směrnicí 83/341/EHS [2], a zejména na čl. 8 odst. 1 uvedené směrnice,

vzhledem k tomu, že se ve směrnici 76/768/EHS stanoví úřední zkoušení kosmetických prostředků s cílem zajistit dodržení podmínek předepsaných předpisy Společenství, které se týkají se složení kosmetických prostředků;

vzhledem k tomu, že by všechny nezbytné metody analýzy měly být stanoveny co nejdříve; že první dva kroky k dosažení tohoto cíle již byly učiněny definováním některých metod ve směrnicích Komise 80/1335/EHS [3] a 82/434/EHS [4] a třetí krok spočívá v definování metod pro stanovení dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu, důkaz a stanovení chinolin-8-olu a bis(chinolin-8-ol)sulfátu, stanovení amoniaku, důkaz a stanovení nitromethanu, důkaz a stanovení kyseliny thioglykolové (sulfanyloctové) v prostředcích pro kadeření vlasů, v prostředcích pro rovnání vlasů a v depilačních prostředcích, pro důkaz a stanovení hexachlorofenu (INN), pro stanovení tosylchloramidu sodného (INN), stanovení celkového fluoru v zubních pastách, důkaz a stanovení organických sloučenin rtuti, stanovení sulfidů alkalických kovů a kovů alkalických zemin;

vzhledem k tomu, že opatření této směrnice jsou v souladu se stanoviskem Výboru pro přizpůsobení směrnice 76/768/EHS technickému pokroku,

PŘIJALA TUTO SMĚRNICI:

Článek 1

Členské státy učiní všechny nezbytné kroky k zajištění toho, aby se při úředním zkoušení kosmetických prostředků:

— stanovení dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu,

— důkaz a stanovení chinolin-8-olu a bis(chinolin-8-ol)sulfátu,

— stanovení amoniaku,

— důkaz a stanovení nitromethanu,

— důkaz a stanovení kyseliny thioglykolové (sulfanyloctové) v prostředcích pro kadeření vlasů, v prostředcích pro rovnání vlasů a v depilačních prostředcích,

— důkaz a stanovení hexachlorofenu (INN),

— stanovení tosylchloramidu sodného (INN),

— stanovení celkového fluoru v zubních pastách,

— důkaz a stanovení organických sloučenin rtuti,

[1] Úř. věst. L 262, 27.9.1976, s. 169.
[2] Úř. věst. L 188, 13.7.1983, s. 15.
[3] Úř. věst. L 383, 31.12.1980, s. 27.
[4] Úř. věst. L 185, 30.6.1982, s. 1.

— stanovení sulfidů alkalických kovů a kovů alkalických zemin prováděly metodami popsanými v příloze.

Článek 2

Členské státy uvedou v účinnost právní a správní předpisy nezbytné pro dosažení souladu s touto směrnicí nejpozději do 31. prosince 1984.

Neprodleně o nich uvědomí Komisi.

Článek 3

Tato směrnice je určena členským státům.

V Bruselu dne 27. září 1983.

Za Komisi

Frans ANDRIESSEN

člen Komise

PŘÍLOHA

STANOVENÍ DICHLORMETHANU A 1,1,1-TRICHLORETHANU

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě je popsáno stanovení dichlormethanu (methylenchloridu) a 1,1,1-trichlorethanu (methylchloroformu) ve všech kosmetických prostředcích, které by mohly obsahovat tato rozpouštědla.

2. DEFINICE

Obsah dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech.

3. PODSTATA METODY

Tato metoda využívá plynové chromatografie s chloroformem jako vnitřním standardem.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Chloroform ($CHCl_3$).

4.2 Chlorid uhličitý (CCl_4).

4.3 Dichlormethan (CH_2Cl_2).

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

4.5 Aceton.

4.6 Dusík.

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní zařízení.

5.2 Plynový chromatograf vybavený tepelně vodivostním detektorem.

5.3 Láhev na převedení vzorku na 50 až 100 ml (viz metoda o odběru vzorků bod 5.3) ([1]).

5.4 Tlaková injekční stříkačka, na 25 nebo 50 µl (viz metoda o odběru vzorků, bod 5.4.2.2) ([1]).

6. POSTUP

6.1 Vzorek bez přetlaku: Vzorek se přesně naváží do Erlenmeyerovy baňky se zátkou. Přidá se přesně zvážené množství chloroformu (4.1) jako vnitřní standard odpovídající předpokládanému množství dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu obsaženému ve vzorku. Důkladně se promíchá.

([1]) Úř. věst. L 383, 31.12.1980, s. 27.

6.2 Vzorek pod tlakem: Použije se postup odběru vzorků popsaný v kapitole o odběru vzorků, avšak s následujícími úpravami:

6.2.1 Po převedení vzorku do lahve (5.3) se dále do lahve přidá jako vnitřní standard objem chloroformu (4.1) odpovídající předpokládanému množství dichlormethanu a/nebo 1,1,1-trichlorethanu obsaženému ve vzorku. Důkladně se promíchá. Mrtvý objem ventilu se vypláchne 0,5 ml chloridu uhličitého (4.2). Po vysušení se z rozdílu přesně stanoví přidaná hmotnost vnitřního standardu.

6.2.2 Po naplnění stříkačky vzorkem by se měla špička stříkačky vypláchnout dusíkem (4.6), aby v ní nezůstal před vstříknutím do chromatografu žádný zbytek vzorku.

6.2.3 Po odebrání každého vzorku by se měl povrch ventilu a spojky několikrát opláchnut acetonem (4.5) (v případě potřeby se použije hypodermická stříkačka) a poté důkladně vysušit dusíkem (4.6).

6.2.4 Při každé analýze se pro měření použijí dvě různé převodní lahve a pro každou láhev se provede pět měření.

7. CHROMATOGRAFICKÉ PODMÍNKY

7.1 ***Předkolona***

Materiál kolony: korozivzdorná ocel.

Délka: 300 mm.

Průměr: 3 nebo 6 mm.

Náplň: stejný materiál jako u analytické kolony.

7.2 ***Kolona***

Stacionární fáze je připravena z Hallcomidu M 18 na chromosorbu. Kolona musí zaručit rozlišení „R“ rovné nebo lepší než 1,5:

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

kde:

r_1 a r_2 = retenční časy (v minutách),

W_1 a W_2 = šířka píku v polovině výšky píku (v milimetrech),

d' = rychlost posuvu papíru (v milimetrech za minutu).

7.3 Jako příklady jsou uvedeny kolony, které poskytují hledané výsledky:

Kolona	*I*	*II*
Materiál kolony:	korozivzdorná ocel	korozivzdorná ocel
Délka:	350 cm	400 cm
Průměr:	3 mm	6 mm
Náplň:		
Chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
zrnitost:	100 až 120 mesh	60 až 80 mesh
Stacionární fáze:	Hallcomid M 18, 10 %	Hallcomid M 18, 20 %

Teplotní podmínky se mohou měnit v závislosti na přístroji. V příkladech byly nastaveny takto:

Kolona	*I*	*II*
Teploty:		
kolona:	65 °C	75 °C
nástřik:	150 °C	125 °C
detektor:	150 °C	200 °C
Nosný plyn:		
průtok helia:	45 ml/min	60 ml/min
vstupní tlak:	2,5 bar	2 bar
Nástřik:	15 µl	15 µl

8. SMĚS PRO STANOVENÍ FAKTORŮ ODEZVY

Do Erlenmeyerovy baňky se zátkou se přesně naváží následující směs:

dichlormethan (4.3), 30 % (m/m),
1,1,1-trichlorethan (4.4), 35 % (m/m),
chloroform (4.1), 35 % (m/m).

9. VÝPOČTY

9.1 ***Výpočet faktoru odezvy látky „p“ vzhledem k látce „a“ vybrané jako vnitřní standard***

První látka se označí jako „p“, přičemž

k_p = její faktor odezvy,

m_p = její hmotnost ve směsi,

A_p = její plocha píku.

Druhá látka se označí jako „a“, přičemž:

k_a = její faktor odezvy (volí se rovný jedné),

M_a = její hmotnost ve směsi,

A_a = její plocha píku,

potom

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

Byly získány například následující faktory odezvy (pro chloroform: k = 1):
dichlormethan: $k_1 = 0{,}78 \pm 0{,}03$

1,1,1-trichlorethan: $k_2 = 1{,}00 \pm 0{,}03$.

9.2 ***Výpočet % (m/m) dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu přítomného ve vzorku, který má být analyzován***

Označí-li se:

m_a = hmotnost použitého chloroformu (v g),

M_s = hmotnost vzorku k analýze (v g),

A_a = plocha píku chloroformu,

A_1 = plocha píku dichlormethanu,

A_2 = plocha píku 1,1,1-trichlorethanu,

potom

$$\%\ (m/m)\ CH_2Cl_2 = \frac{m_p \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times M_s}$$

$$\%\ (m/m)\ CH_3CCl_3 = \frac{m_p \times A_2 \times k_2\ X\ 100}{A_a \times M_s}$$

10. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu dichlormethanu a 1,1,1-trichlorethanu 25 % (m/m) by neměla absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 2,5 % (m/m).

([1]) Norma ISO 5725.

DŮKAZ A STANOVENÍ CHINOLIN8OLU A bis(CHINOLIN8OL)SULFÁTU

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě jsou popsány důkaz a stanovení chinolin-8-olu a jeho sulfátu.

2. DEFINICE

Obsah chinolin-8-olu a bis(chinolin-8-ol)sulfátu ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech chinolin-8-olu.

3. PODSTATA METODY

3.1 ***Důkaz***

Důkaz se provede se pomocí chromatografie na tenké vrstvě.

3.2 ***Stanovení***

Stanovení se provede pomocí spektrofotometrie komplexu vzniklého reakcí s Fehlingovým roztokem při 410 nm.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Chinolin-8-ol.

4.2 Benzen. Vzhledem k jeho toxicitě je třeba s benzenem pracovat opatrně.

4.3 Chloroform.

4.4 Vodný roztok hydroxidu sodného, 50 % roztok (m/m).

4.5 Síran měďnatý pentahydrát.

4.6 Vinan draselnosodný.

4.7 1 M kyselina chlorovodíková.

4.8 0,5 M kyselina sírová.

4.9 1 M roztok hydroxidu sodného.

4.10 Ethanol.

4.11 Butan-1-ol.

4.12 Ledová kyselina octová.

4.13 0,1 M kyselina chlorovodíková.

4.14 „Celit 545“ nebo ekvivalent.

4.15 ***Standardní roztoky***

4.15.1 Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 100 mg chinolin-8-olu (4.1). Rozpustí se v malém množství kyseliny sírové (4.8). Doplní se kyselinou sírovou (4.8) po rysku.

4.15.2 Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 100 mg chinolin-8-olu. Rozpustí se v ethanolu (4.10). Doplní se po rysku ethanolem (4.10) a promíchá.

4.16 ***Fehlingův roztok***

Roztok A

Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 7 g síranu měďnatého pentahydrátu (4.5). Rozpustí se v malém množství vody. Doplní se po rysku vodou a promíchá.

Roztok B

Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 35 g vinanu draselnosodného (4.6). Rozpustí se v 50 ml vody. Přidá se 20 ml hydroxidu sodného (4.4). Doplní se po rysku vodou a promíchá se. Bezprostředně před použitím se do odměrné baňky na 100 ml odpipetuje 10 ml roztoku A a 10 ml roztoku B. Doplní se po rysku a promíchá se.

4.17 ***Vyvíjecí rozpouštědla pro chromatografii na tenké vrstvě***

I: Butan-1-ol (4.11)/kyselina octová (4.12)/voda (80: 20: 20, v/v/v).

II: Chloroform (4.13)/kyselina octová (4.12) (95: 5, v/v).

4.18 2,6-Dichlor-4-(chlorimino)cyklohexa-2,5-dienon, 1 % (m/v) roztok v ethanolu (4.10).

4.19 Uhličitan sodný, 1 % (m/v) roztok ve vodě.

4.20 Ethanol (4.10), 30 % (v/v) roztok ve vodě.

4.21 Dinatriumdihydrogenethylendiamintetraacetát, 5 % (m/v) roztok ve vodě.

4.22 ***Pufrační roztok, pH 7***

Do odměrné baňky na 1 litr se naváží 27 g bezvodého dihydrogenfosforečnanu draselného a 70 g hydrogenfosforečnanu didraselného trihydrátu. Doplní se vodou po rysku.

4.23 ***Hotové desky pro chromatografii na tenké vrstvě***

Hotové desky pro chromatografii na tenké vrstvě o tloušťce 0,25 mm (např. Merck Kieselgel 60 nebo ekvivalentní). Před použitím se deska postříká 10 ml činidla (4.21) a usuší se při 80 °C.

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Baňka na 100 ml s kulatým dnem a se zábrusem.

5.2 Odměrné baňky.

5.3 Dělené pipety na 10 a 5 ml.

5.4 Nedělené pipety na 20, 15, 10 a 5 ml.

5.5 Dělicí nálevky na 100, 50 a 25 ml.

5.6 Skládaný papírový filtr, průměr 90 mm.

5.7 Rotační odpařovač.

5.8 Zpětný chladič se zábrusem.

5.9 Spektrofotometr.

5.10 Optické kyvety s optickou dráhou 10 mm.

5.11 Míchačka s elektrickým vyhříváním.

5.12 Skleněná chromatografická kolona o těchto rozměrech: 160 mm dlouhá s průměrem 8 mm, na spodním, zúženém konci se zátkou ze skelné vaty, a s nástavcem pro aplikaci tlaku na horním konci.

6. POSTUP

6.1 ***Důkaz***

6.1.1 *Kapalné vzorky*

6.1.1.1 U části testovaného vzorku se upraví pH na 7,5 a 10 µl se nanese na startovací linii předem upravené silikagelové desky pro chromatografii na tenké vrstvě (4.23).

6.1.1.2 Do dvou dalších bodů startovací linie se nanese 10 a 30 µl standardního roztoku (4.15.2), poté se chromatogram vyvíjí v jednom z vyvíjecích rozpouštědel (4.17).

6.1.1.3 Když čelo postoupí o 150 mm, deska se suší při 110 °C (15 minut). Pod UV lampou (366 nm) skvrny chinolin-8-olu žlutě fluoreskují.

6.1.1.4 Deska se postříká roztokem uhličitanu sodného (4.19). Usuší se a postříká se roztokem 2,6-dichlor-4-(chlorimino)cyklohexa-2,5-dienonu (4.18). Skvrny chinolin-8-olu jsou viditelné jako modré skvrny.

6.1.2 *Pevné vzorky nebo krémy*

6.1.2.1 1 g vzorku se rozptýlí v 5 ml pufračního roztoku (4.22). Potom se pomocí 10 ml chloroformu (4.3) převede do dělicí nálevky a protřepe se. Po oddělení vrstvy chloroformu se vodná vrstva ještě dvakrát extrahuje 10 ml chloroformu (4.3). Spojené a přefiltrované chloroformové extrakty se v baňce s kulatým dnem na 100 ml (5.1) odpaří téměř do sucha na rotačním odpařovači (5.7). Odparek se rozpustí ve 2 ml chloroformu (4.3) a 10 a 30 µl získaného roztoku se nanese na silikagelovou desku pro chromatografii na tenké vrstvě (4.23) podle postupu popsaného v bodu 6.1.1.1 a dále.

6.1.2.2 Na desku se nanese 10 a 30 µl standardního roztoku (4.15.2) a pokračuje se podle postupu popsaného v bodech 6.1.1.2 až 6.1.1.4.

6.2 ***Stanovení***

6.2.1 *Kapalné vzorky*

6.2.1.1 Do baňky s kulatým dnem se naváží 5 g vzorku. Přidá se 1 ml roztoku kyseliny sírové (4.8) a směs se odpaří téměř do sucha za sníženého tlaku při teplotě 50 °C.

6.2.1.2 Tento zbytek se rozpustí v 20 ml teplé vody. Převede se do odměrné baňky na 100 ml. Vypláchne se třikrát 20 ml vody. Doplní se na 100 ml vodou a promíchá.

6.2.1.3 5 ml tohoto roztoku se odpipetuje do dělicí nálevky na 50 ml (5.5). Přidá se 10 ml Fehlingova roztoku (4.16). Měďnatý komplex chinolin-8-olu (oxin mědi (ISO)) se třikrát extrahuje 8 ml chloroformu (4.3).

6.2.1.4 Chloroformové vrstvy se zfiltrují a shromáždí v odměrné baňce na 25 ml (5.2). Doplní se po rysku chloroformem (4.3) a protřepou se. Absorbance žlutého roztoku se měří při 410 nm proti chloroformu.

6.2.2 *Pevné vzorky nebo krémy*

6.2.2.1 Do baňky na 100 ml s kulatým dnem (4.1) se naváží 0,500 g vzorku. Přidá se 30 ml benzenu (4.2) a 20 ml kyseliny chlorovodíkové (4.7). Roztok se za míchání 30 minut vaří pod zpětným chladičem.

6.2.2.2 Obsah se převede do dělicí nálevky na 100 ml (5.5). Vypláchne se 5 ml 1 N HCl (4.7). Vodná fáze se převede do baňky s kulatým dnem (5.1) a benzenová fáze se promyje 5 ml kyseliny chlorovodíkové (4.7).

6.2.2.3 V případě emulzí, které brání dalšímu postupu, se smísí 0,500 g vzorku s 2 g Celitu 545 (4.14), čímž vznikne sypký prášek. Směs se v malých dávkách převede do skleněné chromatografické kolony (5.12).

Po každém přídavku se náplň kolony stlačí. Jakmile se celý vzorek převede do kolony, eluuje se kyselinou chlorovodíkovou (4.13) takovým způsobem, aby se získalo 10 ml eluátu asi za 10 minut (pokud je to nutné, eluce může probíhat za mírného přetlaku dusíku). Během eluce je třeba zajistit, aby nad vrstvou náplně kolony bylo stále trochu kyseliny chlorovodíkové. Prvních 10 ml eluátu se podrobí dalšímu postupu popsanému v bodu 6.2.2.4.

6.2.2.4 Spojené vodné fáze (6.2.2.2) nebo eluát z kolony (6.2.2.3) se v rotačním odpařovači za sníženého tlaku odpaří téměř do sucha.

6.2.2.5 Zbytek se rozpustí v 6 ml roztoku hydroxidu sodného (4.9). Přidá se 20 ml Fehlingova roztoku (4.16) a obsah se převede do dělicí nálevky na 50 ml (5.5). Baňka se vypláchne 8 ml chloroformu (4.3). Protřepe se a chloroformová fáze se zfiltruje do odměrné baňky na 50 ml (5.2).

6.2.2.6 Extrakce s 8 ml chloroformu (4.3) se třikrát opakuje. Chloroformové fáze se shromáždí v odměrné baňce na 50 ml. Doplní se po rysku chloroformem (4.3) a protřepou se. Měří se absorbace žlutého roztoku při 410 nm proti chloroformu (4.3).

7. KALIBRAČNÍ KŘIVKA

Do čtyř baněk na 100 ml s kulatým dnem (5.1), z nichž každá obsahuje 3 ml 30 % vodného roztoku ethanolu (4.20), se odpipetuje 5, 10, 15 a 20 ml standardního roztoku (4.15.1), což odpovídá 5, 10, 15 a 20 mg chinolin-8-olu. Pokračuje se tak, jak je popsáno v bodu 6.2.1.

8. VÝPOČET

8.1 ***Kapalné vzorky***

$$\text{Obsah chinolin-8-olu (v \% (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100$$

kde:

a = počet miligramů chinolin-8-olu odečtený z kalibrační křivky (7),

m = hmotnost (v mg) zkušebního vzorku (6.2.1.1).

8.2 ***Pevné vzorky nebo krémy***

$$\text{Obsah chinolin-8-olu } (\text{v \% } (\text{m/m})) = \frac{2\ a}{m} \times 100$$

kde:

a = počet miligramů chinolin-8-olu odečtený z kalibrační křivky (7),

m = hmotnost (v mg) zkušebního vzorku (6.2.1.1).

9. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu asi 0,3 % chinolin-8-olu by neměla absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,02 %.

STANOVENÍ AMONIAKU

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě je popsáno stanovení volného amoniaku v kosmetických prostředcích.

2. DEFINICE

Obsah amoniaku ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech amoniaku.

3. PODSTATA METODY

Ke zkušebnímu vzorku kosmetického prostředku zředěného vodným roztokem methanolu se přidá roztok chloridu barnatého. Případná sraženina se odfiltruje nebo odstředí. Tímto postupem se zabrání ztrátám amoniaku, ke kterým dochází při destilaci s vodní parou u některých amonných solí, jako je uhličitan a hydrogenuhličitan a soli mastných kyselin, s výjimkou octanu amonného.

Z filtrátu nebo supernatantu se amoniak oddestiluje s vodní parou a stanoví se potenciometrickou nebo jinou titrací.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Methanol.

4.2 Chlorid barnatý dihydrát, 25 % roztok (m/v).

4.3 Kyselina trihydrogenboritá, 4 % (m/v) roztok.

4.4 Kyselina sírová, 0,25 M odměrný roztok.

4.5 Kapalný odpěňovač.

4.6 Hydroxid sodný, 0,5 M odměrný roztok.

4.7 Indikátor, podle potřeby: smísí se 5 ml 0,1 % roztoku (m/v) methylové červeně v ethanolu s 2 ml 0,1 % roztoku (m/v) methylenové modři ve vodě.

([1]) Norma ISO 5725.

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní vybavení.

5.2 Odstředivka s uzavíratelnými kyvetami na 100 ml.

5.3 Přístroj na destilaci s vodní parou.

5.4 Potenciometr.

5.5 Měrná skleněná elektroda a referentní dichlorid dirtuťná (kalomelová) elektroda.

6. POSTUP

6.1 Do odměrné baňky na 100 ml se naváží vzorek o hmotnosti (m) odpovídající maximálně 150 mg amoniaku.

6.2 Přidá se 10 ml vody, 10 ml methanolu (4.1) a 10 ml roztoku chloridu barnatého (4.2). Doplní se na 100 ml methanolem (4.1).

6.3 Roztok se promíchá a nechá stát přes noc v lednici (5 °C).

6.4 Poté se chladný roztok zfiltruje nebo odstředí 10 minut v uzavřených kyvetách, aby se získal čirý filtrát nebo vrstva supernatantu.

6.5 40 ml tohoto čirého roztoku se odpipetuje do přístroje na destilaci s vodní parou (5.3) a popřípadě se přidá 0,5 ml kapalného odpěňovače (4.5).

6.6 Destiluje se a 200 ml destilátu se jímá do kádinky na 250 ml obsahující 10 ml odměrného roztoku kyseliny sírové (4.4) a 0,1 ml indikátoru (4.7).

6.7 Nadbytek kyseliny se zpětně titruje odměrným roztokem hydroxidu sodného (4.6).

6.8 *Poznámka*: Pro potenciometrické stanovení se jímá 200 ml destilátu do kádinky na 250 ml obsahující 25 ml roztoku kyseliny trihydrogenborité (4.3) a titruje se odměrným roztokem kyseliny sírové (4.4). Zaznamená se neutralizační křivka.

7. VÝPOČTY

7.1 ***Výpočet v případě zpětné titrace***

Označí-li se:

V_1 = objem použitého roztoku hydroxidu sodného (4.6) (v ml),

M_1 = jeho titr (4.6),

M_2 = titrační faktor roztoku kyseliny sírové (4.4),

m = hmotnost odebraného zkušebního vzorku (6.1) (v mg),

potom:

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

7.2 ***Výpočet v případě přímé potenciometrické titrace***

Označí-li se:

V_2 = objem použitého roztoku kyseliny sírové (4.4) (v ml),

M_2 = jeho titr (4.4),

m = hmotnost odebraného zkušebního vzorku (6.1) (v mg),

potom:

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

8. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu asi 6 % amoniaku by neměla absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,6 %.

DŮKAZ A STANOVENÍ NITROMETHANU

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

Tato metoda je vhodná pro důkaz a stanovení nitromethanu až do obsahu asi 0,3 % v kosmetických prostředcích v obalech na aerosoly.

2. DEFINICE

Obsah nitromethanu ve vzorku stanovený touto metodou se vyjadřuje v hmotnostních procentech nitromethanu, vztažených na celkový obsah obalu na aerosoly.

3. PODSTATA METODY

Nitromethan se dokazuje na základě barevné reakce. Nitromethan se stanoví plynovou chromatografií po přidání vnitřního standardu.

4. DŮKAZ

4.1 ***Reakční činidla***

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1.1 Hydroxid sodný, 0,5 M roztok.

4.1.2 *Folinovo činidlo*

Ve vodě se rozpustí 0,1 g 3,4-dihydro-3,4-dioxonaftalen-1-sulfonátu sodného a doplní se na 100 ml.

4.2 ***Postup***

K 1 ml vzorku se přidá 10 ml 4.1.1 a 1 ml 4.1.2. Fialové zbarvení indikuje přítomnost nitromethanu.

5. STANOVENÍ

5.1 ***Reakční činidla***

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

([1]) Norma ISO 5725.

5.1.1 Chloroform (vnitřní standard 1).

5.1.2 2,3-Dimethylheptan (vnitřní standard 2).

5.1.3 Ethanol, 95 %.

5.1.4 Nitromethan.

5.1.5 *Referenční roztok chloroformu*

Do vytárované odměrné baňky na 25 ml se přidá asi 650 mg chloroformu (5.1.1). Baňka a obsah se znovu přesně zváží. Doplní se na 25 ml 95 % ethanolem (5.1.3). Zváží se a vypočtou se hmotnostní procenta chloroformu v tomto roztoku.

5.1.6 *Referenční roztok 2,4-Dimethylheptanu*

Připraví se obdobně jako referenční roztok chloroformu, ale naváží se 270 mg 2,4-Dimethylheptanu (5.1.2) do odměrné baňky na 25 ml.

5.2 ***Přístroje a pomůcky***

5.2.1 Plynový chromatograf s plamenovým ionizačním detektorem.

5.2.2 Pomůcky pro odběr vzorků aerosolů (láhev pro převedení vzorku, spojky mikrostříkaček, atd.), jak jsou popsány v kapitole II přílohy směrnice Komise 80/1335/EHS ze dne 22. prosince 1980 [1].

5.2.3 Běžné laboratorní vybavení.

5.3 ***Postup***

5.3.1 *Příprava vzorku*

Do vytárované lahve pro převedení vzorku na 100 ml propláchnuté nebo evakuované podle postupu popsaného v bodu 5.4 kapitoly II výše uvedené směrnice se přidá asi 5 ml jednoho z roztoků vnitřních standardů (5.1.5 nebo 5.1.6). Použije se 10 ml nebo 20 ml skleněná stříkačka bez jehly uzpůsobená k připojení ke spojce podle postupu popsaného v bodu 5 kapitoly II výše uvedené směrnice Komise. Znovu se zváží, aby se stanovilo přidané množství. Stejným postupem se do této lahve převede asi 50 g obsahu obalu na aerosoly. Znovu se zváží, aby se stanovilo množství převedeného vzorku. Dobře se promíchá.

Nastřikuje se asi 10 µl pomocí speciální mikrostříkačky (5.2.2). Provádí se pět nástřiků.

5.3.2 *Příprava standardu*

Do odměrné baňky na 50 ml se přesně naváží asi 500 mg nitromethanu (5.1.4) a buď 500 mg chloroformu (5.1.1), nebo 210 mg 2,4Dimethylheptanu (5.1.2). Doplní se po rysku 95 % ethanolem (5.1.3). Dobře se promíchá. 5 ml tohoto roztoku se převede do odměrné baňky na 20 ml. Doplní se po rysku 95 % ethanolem (5.1.3).

Nastřikuje se asi 10 µl pomocí speciální mikrostříkačky (5.2.2). Provádí se pět nástřiků.

5.3.3 *Podmínky plynové chromatografie*

5.3.3.1 Kolona

Skládá se ze dvou částí; první obsahuje jako náplň didecylftalát na Gas Chromu Q, druhá UCON 50 HB 280X na Gas Chromu Q. Připravená kombinovaná kolona musí zaručit rozlišení „R“ rovné nebo lepší než 1,5:

[1] Úř. věst. L 383, 31.12.1980, s. 27.

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

kde

r_1 a r_2 = retenční časy (v minutách),

W_1 a W_2 = šířka píků v polovině výšky píku (v milimetrech),

d' = rychlost posuvu papíru (v milimetrech za minutu).

Jako příklady jsou uvedeny následující dvě části, které poskytují požadované rozlišení:

Kolona A:

Materiál: korozivzdorná ocel.
Délka: 1,5 m.
Průměr: 3 mm.
Náplň: 20 % didecylftalát na Gas Chromu Q (100 až 120 mesh).

Kolona B:

Materiál: korozivzdorná ocel.
Délka: 1,5 m.
Průměr: 3 mm.
Náplň: 20 % UCON 50 HB 280X na Gas Chromu Q (100 až 120 mesh).

5.3.3.2 Detektor

Vhodné nastavení citlivosti elektrometru plamenového ionizačního detektoru je 8×10^{-10}A.

5.3.3.3 Teplotní podmínky

Jako vhodné se ukázaly následující podmínky:

Nástřik: 150 °C.
Detektor: 150 °C.
Kolona: mezi 50 a 80 °C, v závislosti na použitých kolonách a přístroji.

5.3.3.4 Plyny

Nosný plyn: dusík.

Tlak: 2,1 bar.
Průtok: 40 ml/min.
Plyny pro detektor: podle specifikací výrobce detektoru.

6. VÝPOČTY

6.1 ***Faktor odezvy nitromethanu vypočtený vzhledem k použitému vnitřnímu standardu***

Označí-li se nitromethan jako „n“,

přičemž:

k_n = jeho faktor odezvy,

m_n = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

S'_n = plocha jeho píku,

a označí-li se vnitřní standard, chloroform nebo 2,4Dimethylheptan, jako „c“,

přičemž:

m'_c = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

S_c = plocha jeho píku,

potom:

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

(k_n je funkcí přístroje).

6.2 ***Koncentrace nitromethanu ve vzorku***

Označí-li se nitromethan jako „n“,

přičemž:

k_n = jeho faktor odezvy,

S'_n = plocha jeho píku,

a označí-li se vnitřní standard, chloroform nebo 2,4-Dimethylheptan, jako „c“,

přičemž:

m_c = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

S_c = plocha jeho píku,

M = hmotnost převedeného aerosolu (v gramech),

potom % (m/m) nitromethanu ve vzorku je:

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

7. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu asi 0,3 % (m/m) nitromethanu by neměla absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,03 % (m/m).

DŮKAZ A STANOVENÍ KYSELINY THIOGLYKOLOVÉ (SULFANYLOCTOVÉ) V PROSTŘEDCÍCH PRO KADEŘENÍ VLASŮ, V PROSTŘEDCÍCH PRO ROVNÁNÍ VLASŮ A V DEPILAČNÍCH PROSTŘEDCÍCH

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě je popsán důkaz a stanovení kyseliny thioglykolové v prostředcích pro kadeření vlasů, v prostředcích pro rovnání vlasů a v depilačních prostředcích.

2. DEFINICE

Obsah kyseliny thioglykolové ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří ve hmotnostních procentech kyseliny thioglykolové.

3. PODSTATA METODY

Důkaz kyseliny thioglykolové se provede buď barevnou reakcí, nebo pomocí chromatografie na tenké vrstvě a stanovení se provede jodometricky nebo plynovou chromatografií.

4. DŮKAZ

4.1 ***Důkaz barevnou reakcí***

4.1.1 *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1.1.1 Papírek s octanem olovnatým.

4.1.1.2 Roztok kyseliny chlorovodíkové (jeden objemový díl koncentrované kyseliny chlorovodíkové plus jeden objemový díl vody).

4.1.2 *Postup*

4.1.2.1 Důkaz kyseliny thioglykolové pomocí barevné reakce s papírkem s octanem olovnatým:

Kapka vzorku se umístí na papírek s octanem olovnatým (4.1.1.1). Pokud se objeví intenzivní žluté zbarvení, je kyselina thioglykolová pravděpodobně přítomna.

Citlivost: 0,5 %.

4.1.2.2 Důkaz anorganických sulfidů vznikem sirovodíku po okyselení:

Do zkumavky se přidá několik miligramů studovaného vzorku. Přidají se 2 ml destilované vody a 1 ml kyseliny chlorovodíkové (4.1.1.2). Uvolní se sirovodík, který lze rozpoznat podle zápachu, a na papírku s octanem olovnatým (4.1.1.1) vzniká černá sraženina sulfidu olovnatého.

([1]) Norma ISO 5725.

Citlivost: 50 ppm.

4.1.2.3 Důkaz siřičitanů vznikem oxidu siřičitého po okyselení:

Postupuje se podle bodu 4.1.2.2. Obsah se přivede k varu. Oxid siřičitý lze rozpoznat podle jeho zápachu a jeho schopností redukovat například ionty manganistanové.

4.2 ***Důkaz chromatografií na tenké vrstvě***

4.2.1 *Reakční činidla*

Není-li uvedeno jinak, všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.2.1.1 Kyselina thioglykolová (sulfanyloctová), minimální čistota 98 %, stanoveno jodometricky.

4.2.1.2 2,2'-Dithiodi(octová kyselina), minimální čistota 99 %, stanoveno jodometricky.

4.2.1.3 Kyselina 2-sulfanylpropionová (kyselina thiomléčná), minimální čistota 95 %, stanoveno jodometricky.

4.2.1.4 Kyselina 3-sulfanylpropionová, minimální čistota 98 %, stanoveno jodometricky.

4.2.1.5 3-Sulfanylpropan-1,2-diol (1-thioglycerol), minimální čistota 98 %, stanoveno jodometricky.

4.2.1.6 Hotové silikagelové desky pro chromatografii na tenké vrstvě o tloušťce 0,25 mm.

4.2.1.7 Hotové desky pro chromatografii na tenké vrstvě s oxidem hlinitým, Merck F 254 E nebo ekvivalentní.

4.2.1.8 Kyselina chlorovodíková, koncentrovaná, d_4^{20} = 1,19 g/ml.

4.2.1.9 Ethylacetát.

4.2.1.10 Chloroform.

4.2.1.11 Diisopropylether.

4.2.1.12 Chlorid uhličitý.

4.2.1.13 Ledová kyselina octová.

4.2.1.14 Jodid draselný, 1 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.15 Chlorid platičitý, 0,1 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.16 Vyvíjecí rozpouštědla:

4.2.1.16.1 Ethylacetát (4.2.1.9), chloroform (4.2.1.10), diisopropylether (4.2.1.11), kyselina octová (4.2.1.13) (20: 20: 10: 10, v/v/v/v).

4.2.1.16.2 Chloroform (4.2.1.10), kyselina octová (4.2.1.13) (90: 20, v/v/v/v).

4.2.1.17 Detekční činidla:

4.2.1.17.1 Bezprostředně před použitím se smísí stejné objemy roztoku 4.2.1.14 a roztoku 4.2.1.15.

4.2.1.17.2 Roztok bromu, 5 % (m/v). Rozpustí se 5 g bromu ve 100 ml chloridu uhličitého (4.2.1.12).

4.2.1.17.3 Roztok fluoresceinu, 0,1 % (m/v). Rozpustí se 100 mg fluoresceinu ve 100 ml ethanolu.

4.2.1.17.4 Heptamolybdenan hexaamonný, 10 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.18 Referenční roztoky:

4.2.1.18.1 Kyselina thioglykolová (4.2.1.1), 0,4 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.18.2 2,2'-Dithiodi(octová kyselina) (4.2.1.2), 0,4 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.18.3 Kyselina 2-sulfanylpropionová (4.2.1.3), 0,4 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.18.4 Kyselina 3-sulfanylpropionová (4.2.1.4), 0,4 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.1.18.5 3-Sulfanylpropan-1,2-diol (4.2.1.5), 0,4 % roztok (m/v) ve vodě.

4.2.2 *Přístroje a pomůcky*

Běžné vybavení pro chromatografii na tenké vrstvě.

4.2.3 *Postup*

4.2.3.1 Příprava vzorků

Vzorek se okyselí několika kapkami kyseliny chlorovodíkové (4.2.1.8) na pH 1 a v případě potřeby zfiltruje.

V některých případech může být účelné vzorek zředit. To se provede okyselením kyselinou chlorovodíkovou před zředěním.

4.2.3.2 Vyvíjení

Na desku se nanese 1 µl roztoku vzorku (4.2.3.1) a 1 µl každého z pěti referenčních roztoků (4.2.1.18). Pečlivě se vysuší v mírném proudu dusíku a deska se vyvíjí rozpouštědly (4.2.1.16.1 nebo 4.2.1.16.2). Deska se ususší co nejrychleji, aby nedošlo k oxidaci thiolů.

4.2.3.3 Detekce

Deska se postříká jedním ze tří činidel (4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 nebo 4.2.1.17.4). Pokud se deska postříká činidlem (4.2.1.17.3), vystaví se poté parám bromu (např. v nádobě obsahující malou kádinku činidla (4.2.1.17.2)), dokud se skvrny nezviditelní. Detekce postřikem činidlem (4.2.1.17.4) bude úspěšná jen tehdy, nepřekročí-li doba sušení desky 30 minut.

4.2.3.4 Interpretace

Hodnoty Rf a barvy referenčních roztoků se porovnají s roztoky vzorků. Průměrné hodnoty Rf uváděné dále jako hrubé vodítko slouží pouze pro srovnání. Závisí na:

— úrovni aktivace tenké vrstvy v době vyvíjení chromatogramu,

— teplotě ve vyvíjecí komoře.

Příklady hodnot R_f získaných na silikagelové vrstvě

	Vyvíjecí rozpouštědla	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Kyselina thioglykolová	0,25	0,80
Kyselina 2-sulfanylpropionová	0,40	0,95
2,2'-Dithiodi(octová kyselina)	0,00	0,35
Kyselina 3-sulfanylpropionová	0,45	0,95
3-Sulfanylpropan-1,2-diol	0,45	0,35

5. STANOVENÍ (viz poznámka)

Stanovení musí vždy začínat jodometrií.

5.1 ***Jodometrie***

5.1.1 *Podstata metody*

Stanovení se provádí oxidací skupiny „–SH" jodem v kyselém prostředí podle rovnice:

$$2\ HOOC\text{-}CH_2SH + I_2 \longrightarrow (HOOC\text{-}CH_2\text{-}S)_2 + 2\ I^- + 2\ H^+$$

5.1.2 *Reakční činidla*

Jod, 0,05 M odměrný roztok.

Poznámka: Nemá-li dojít k oxidaci, musí se stanovení kyseliny thioglykolové provádět s nepoužitým prostředkem z čerstvě otevřených obalů.

5.1.3 *Přístroje a pomůcky*

Běžné laboratorní vybavení.

5.1.4 *Postup*

Do Erlenmeyerovy baňky na 150 ml s uzávěrem obsahující 50 ml destilované vody se přesně naváží 0,5 až 1 g vzorku. Přidá se 5 ml kyseliny chlorovodíkové (4.1.1.2) (pH roztoku asi 0) a titruje se roztokem jodu (5.1.2), dokud se neobjeví žluté zabarvení. Lze použít indikátor (např. roztok škrobu nebo chlorid uhličitý).

5.1.5 *Výpočet*

Obsah kyseliny thioglykolové se vypočte podle vzorce:

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

kde:

m = hmotnost zkušebního vzorku (v gramech),

n = objem spotřebovaného roztoku jodu (5.1.2).

5.1.6 *Poznámky*

Je-li výsledek vypočtený jako kyselina thioglykolová nejméně o 0,1 % nižší než nejvyšší povolená koncentrace, není další stanovení nutné. Jestliže se výsledek rovná nebo je vyšší než povolená maximální koncentrace a důkaz odhalil přítomnost několika redukčních činidel, je nezbytné provést stanovení plynovou chromatografií.

5.2 ***Plynová chromatografie***

5.2.1 *Podstata metody*

Kyselina thioglykolová se oddělí od pomocných látek vysrážením roztokem octanu kademnatého. Po methylaci diazomethanem, který se buď připraví *in situ*, nebo předem jako roztok v diethyletheru, se methylderivát kyseliny thioglykolové stanoví chromatografií plyn/kapalina s methyl-oktanoátem jako vnitřním standardem.

5.2.2 *Reakční činidla*

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

5.2.2.1 Kyselina thioglykolová, 98 %.

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

5.2.2.3 Methanol.

5.2.2.4 Octan kademnatý dihydrát, 10 % roztok (m/v) ve vodě.

5.2.2.5 Methyl-oktanoát, 2 % roztok (m/v) v methanolu.

5.2.2.6 Acetátový pufr (pH 5):

Octan sodný trihydrát, 77 g.

Kyselina octová (ledová), 27,5 g.

Demineralizovaná voda do konečného objemu jeden litr.

5.2.2.7 Kyselina chlorovodíková, čerstvě připravený 3 M roztok v methanolu (5.2.2.3).

5.2.2.8 1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidin.

5.2.2.9 Hydroxid sodný, 5 M roztok.

5.2.2.10 Jod, 0,05 M odměrný roztok.

5.2.2.11 Diethylether.

5.2.2.12 Roztok diazomethanu připravený z NmethylNnitrosotoluen4sulfonamidu (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)

Získaný roztok obsahuje asi 1,5 g diazomethanu ve 100 ml diethyletheru. Protože diazomethan je toxický a velmi nestabilní plyn, je třeba všechny operace provádět v dobře táhnoucí digestoři, a je třeba se vyvarovat použití aparatury se zábrusem (pro tento účel jsou k dispozici speciální soupravy).

5.2.3 *Přístroje a pomůcky*

5.2.3.1 Běžné laboratorní vybavení.

5.2.3.2 Aparatura pro přípravu diazomethanu pro methylaci *in situ* (viz Fales, H. M., Jaouni, T. M., Babashak, J. F., Analyt. Chem. 1973, 45, 2302).

5.2.3.3 Přístroj pro přípravu diazomethanu předem (podle Fiesera).

5.2.4 *Příprava vzorku*

Do centrifugační kyvety na 50 ml se přesně naváží dostatek vzorku, aby obsahoval předpokládané množství 50 až 70 mg kyseliny thioglykolové. Okyselí se několika kapkami kyseliny chlorovodíkové (5.2.2.2), aby se dosáhlo pH asi 3.

Přidá se 5 ml demineralizované vody a 10 ml acetátového pufru (5.2.2.6).

Pomocí pH papírku se ověří, zda je hodnota pH asi 5. Poté se přidá 5 ml roztoku octanu kademnatého (5.2.2.4).

Vyčká se 10 minut a poté se odstřeďuje nejméně 15 minut při 4000 g. Odstraní se supernatant, který může obsahovat nerozpustný tuk (v případě krémových prostředků). Tento tuk nelze zaměňovat s thioly, které se hromadí jako kompaktní hmota na dně nádobky. Ověří se, že se po přidání několika kapek roztoku octanu kademnatého (5.2.2.4) k supernatantu netvoří sraženina.

Jestliže předchozí důkaz neodhalil přítomnost jiných redukčních činidel než thiolů, ověří se jodometricky, že množství thiolu přítomného v supernatantu nepřekračuje 6 až 8 % původního množství.

Do centrifugační zkumavky obsahující sraženinu se přidá 10 ml methanolu (5.2.2.3) a sraženina se jemně rozptýlí tyčinkou. Znovu se odstřeďuje nejméně 15 minut při 4000 g. Supernatant se slije a ověří se, že neobsahuje thioly.

Sraženina se ještě jednou stejným postupem promyje.

Do téže centrifugační kyvety se přidá:

— 2 ml roztoku methyloktanoátu (5.2.2.5),

— 5 ml kyseliny chlorovodíkové v methanolu (5.2.2.7).

Thioly se úplně rozpustí (může zbývat malé množství nerozpustného zbytku pomocných látek).Toto je roztok „*S*“.

Na alikvotním podílu tohoto roztoku se jodometricky ověří, že obsah thiolů činí alespoň 90 % hodnoty získané v bodu 5.1.

5.2.5 *Methylace*

Methylace se provádí buď pomocí přípravy *in situ* (5.2.5.1), nebo předem připraveným roztokem diazomethanu (5.2.5.2).

5.2.5.1 Methylace *in situ*

Do methylační aparatury (5.2.3.2) obsahující 1 ml etheru (5.2.2.11) se převede 50 µl roztoku „*S*“ a methyluje se postupem (5.2.3.2) s asi 300 mg 1-methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidinu (5.2.2.8). Po 15 minutách (etherický roztok by měl být žlutý, což indikuje nadbytek diazomethanu) se roztok vzorku převede do nádobky na 2 ml opatřené vzduchotěsnou zátkou. Ponechá se v ledničce přes noc. Methylují se dva vzorky současně.

5.2.5.2 Methylace předem připraveným roztokem diazomethanu

Do nádobky na 5 ml opatřené zátkou se převede 1 ml roztoku diazomethanu (5.2.2.12) a poté 50 µl roztoku „S“. Ponechá se v ledničce přes noc.

5.2.6 *Příprava standardu*

Připraví se standardní roztok kyseliny thioglykolové (5.2.2.1) o známé koncentraci obsahující asi 60 mg čisté kyseliny thioglykolové (5.2.2.1) ve 2 ml.

Toto je roztok „E“.

Vysrážení, zkouška a methylace se provedou tak, jak je popsáno v bodech 5.2.4 a 5.2.5.

5.2.7 *Podmínky pro plynovou chromatografii*

5.2.7.1 Kolona

Typ: korozivzdorná ocel.

Délka: 2 m.

Průměr: 3 mm.

5.2.7.2 Náplň

20 % didecylftalát/Chromosorb WAW, 80 až 100 mesh.

5.2.7.3 Detektor

Plamenový ionizační. Vhodné nastavení citlivosti elektrometru plamenového ionizačního detektoru je 8×10^{-10}A.

5.2.7.4 Plyny

Nosný plyn: dusík.

tlak: 2,2 bar,

průtok: 35 ml/min.

Pomocný plyn: vodík.

tlak: 1,8 bar,

průtok: 15 ml/min.

Plyny pro detektor: podle specifikace výrobce přístroje.

5.2.7.5 Teplotní podmínky

Nástřik: 200 °C,

Detektor: 200 °C,

Kolona: 90 °C.

5.2.7.6 Rychlost posuvu papíru v zapisovači:

5 mm/min.

5.2.7.7 Nastřikované množství: 3 µl.

Provede se pět nástřiků.

5.2.7.8 Chromatografické podmínky jsou uvedeny pouze jako vodítko. Umožní dosáhnout rozlišení „R“ rovné nebo lepší než 1,5:

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

kde

r_1 a r_2 = retenční časy (v minutách),

W_1 a W_2 = šířky píků v polovině výšky píků (v milimetrech),

d' = rychlost posuvu papíru (v milimetrech za minutu).

Doporučuje se zvyšovat na závěr chromatografického měření teplotu z 90 °C na 150 °C rychlostí 10 °C za minutu, aby se vyloučily látky, které by mohly rušit následující měření.

5.2.8 *Výpočty*

5.2.8.1 Koeficient úměrnosti pro kyselinu thioglykolovou

Počítá se vzhledem k methyloktanoátu na základě standardní směsi.

Označí-li se kyselina thioglykolová jako „t“,

přičemž:

k_t = její faktor odezvy,

m'_t = její hmotnost ve směsi (v miligramech),

S'_t = plocha jejího píku,

a označí-li se methyloktanoát jako „c“,

přičemž:

m'_c = jeho hmotnost ve směsi (v miligramech),

S'_c = plocha jeho píku,

potom

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

Tento koeficient se liší podle použitého přístroje.

5.2.8.2 Koncentrace kyseliny thioglykolové přítomné ve vzorku

Označí-li se kyselina thioglykolová jako „t“,

přičemž:

k_t = její faktor odezvy,

S_t = plocha jejího píku,

a označí-li se methyloktanoát jako „c“,

přičemž:

m_c = jeho hmotnost ve směsi (v miligramech),

S_c = plocha jeho píku,

M = hmotnost původního zkušebního vzorku (v miligramech),

potom % (m/m) kyseliny thioglykolové přítomné ve vzorku je:

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

6. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu kyseliny thioglykolové 8 % (m/m) by neměla absolutní hodnota rozdílu výsledků dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,8 % (m/m).

DŮKAZ A STANOVENÍ HEXACHLOROFENU (INN)

A. DŮKAZ

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

Tato metoda je vhodná pro všechny kosmetické prostředky.

2. PODSTATA METODY

Hexachlorofen ve vzorku se extrahuje ethylacetátem a dokazuje se chromatografií na tenké vrstvě.

3. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

3.1 Kyselina sírová, 4 M roztok.

3.2 Celit AW.

3.3 Ethylacetát.

([1]) Norma ISO 5725.

3.4 Vyvíjecí rozpouštědlo: Benzen obsahující 1 % (v/v) ledové kyseliny octové.

3.5 Detekční činidlo I:

Roztok rhodaminu B: rozpustí se 100 mg rhodaminu B ve směsi 150 ml diethyletheru, 70 ml absolutního ethanolu a 16 ml vody.

3.6 Detekční činidlo II:

Roztok 2,6-dibrom-4-(chlorimino)cyklohexa-2,5-dienonu: 400 mg 2,6dibrom-4-(chlorimino)cyklohexa-2,5-dienonu se rozpustí ve 100 ml methanolu (připravuje se čerstvý každý den).

Roztok uhličitanu sodného: 10 g uhličitanu sodného se rozpustí ve 100 ml demineralizované vody.

3.7 Referenční roztok:

Hexachlorofen, 0,05 % roztok (m/V) v ethylacetátu.

4. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

4.1 Desky pro chromatografii na tenké vrstvě Kieselgel 254, 200 × 200 mm (nebo ekvivalentní).

4.2 Běžné vybavení pro chromatografii na tenké vrstvě.

4.3 Lázeň pro temperaci chromatografické komory udržovaná na teplotě 26 °C.

5. PŘÍPRAVA ZKUŠEBNÍHO VZORKU

5.1 1 g homogenizovaného vzorku se důkladně promíchá s 1 g Celitu AW (3.2) a 1 ml kyseliny sírové (3.1).

5.2 Suší se dvě hodiny při 100 °C.

5.3 Nechá se vychladnout a vysušený zbytek se rozdrtí na jemný prášek.

5.4 Dvakrát se extrahuje vždy 10 ml ethylacetátu (3.3), po každé extrakci se odstředí a ethylacetátové vrstvy se sloučí.

5.5 Odpaří se při 60 °C.

5.6 Odparek se rozpustí ve 2 ml ethylacetátu (3.3).

6. POSTUP

6.1 2 µl roztoku zkušebního vzorku (5.6) a 2 µl referenčního roztoku (3.7) se nanesou na desku pro chromatografii na tenké vrstvě (4.1).

6.2 Komora (4.3) se nasytí vyvíjecím rozpouštědlem (3.4).

6.3 Deska pro chromatografii na tenké vrstvě se vloží do komory a vyvíjí se do vzdálenosti čela 150 mm.

6.4 Deska pro chromatografii na tenké vrstvě se vyjme z komory a suší se v sušárně s nuceným oběhem vzduchu při teplotě asi 105 °C.

6.5 ***Detekce***

Skvrny hexachlorofenu na chromatografické desce se detekují způsobem popsaným v bodu 6.5.1 nebo 6.5.2.

6.5.1 Deska se rovnoměrně postříká detekčním činidlem I (3.5). Po 30 minutách se deska pozoruje v UV světle při 254 nm.

6.5.2 Deska se rovnoměrně postříká roztokem 2,6dibrom4(chlorimino)cyklohexa-2,5-dienonu detekčního činidla II (3.6). Následně se deska postříká roztokem uhličitanu sodného (3.6). Deska se po 10 minutách sušení při pokojové teplotě pozoruje v denním světle.

7. INTERPRETACE

7.1 Detekční činidlo I (3.5):

Hexachlorofen se projevuje jako namodralá skvrna na žluto-oranžovém fluoreskujícím pozadí a má Rf přibližně 0,5.

7.2 Detekční činidlo II (3.6):

Hexachlorofen se projevuje jako blankytně modrá až tyrkysově zbarvená skvrna na bílém pozadí a má Rf přibližně 0,5.

B. STANOVENÍ

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

Tato metoda se hodí pro všechny kosmetické prostředky.

2. DEFINICE

Obsah hexachlorofenu ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech hexachlorofenu.

3. PODSTATA METODY

Hexachlorofen se stanovuje po přeměně na methylderivát plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Ethylacetát.

4.2 N-methyl-N-nitroso-p-toluensulfonamid (diazald).

4.3 Diethylether.

4.4 Methanol.

4.5 2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol (karbitol).

4.6 Kyselina mravenčí.

4.7 Hydroxid draselný, 50 % vodný roztok (m/m) (připravuje se čerstvý každý den).

4.8 Hexan pro spektroskopii.

4.9 Bromchlorofen (standard č. 1).

4.10 4,4‘,6,6‘-Tetrachlor-2,2‘-thiodifenol (standard č. 2).

4.11 2,4,4‘-Trichlor-2-hydroxydifenylether (standard č. 3).

4.12 Aceton.

4.13 4 M kyselina sírová.

4.14 Celit AW.

4.15 Kyselina mravenčí/ethylacetát, 10 % roztok (v/v).

4.16 Hexachlorofen.

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní sklo.

5.2 Miniaparatura pro přípravu diazomethanu (Analyt. Chem. 1973, 45, 2302-2).

5.3 Plynový chromatograf vybavený detektorem elektronového záchytu se zdrojem 63 Ni.

6. POSTUP

6.1 ***Příprava standardního roztoku***

Standard se zvolí tak, aby neinterferoval se žádnou látkou obsaženou v analyzovaném prostředku jako pomocná látka. Obvykle je nejvhodnější standard č. 1 (4.9).

6.1.1 Do odměrné baňky na 100 ml se přesně naváží asi 50 mg standardu č. 1, 2 nebo 3 (4.9, 4.10 nebo 4.11) a 50 mg hexachlorofenu (4.16). Doplní se po rysku ethylacetátem (4.1) (roztok A). 10 ml roztoku A se zředí ethylacetátem (4.1) na 100 ml (roztok B).

6.1.2 Do odměrné baňky na 100 ml se přesně naváží asi 50 mg standardu č. 1, 2 nebo 3 (4.9, 4.10 nebo 4.11). Doplní se po rysku ethylacetátem (4.1) (roztok C).

6.2 ***Příprava vzorku*** ([1])

Přesně se naváží 1 g homogenizovaného vzorku a důkladně se promíchá s 1 ml kyseliny sírové (4.13), 15 ml acetonu (4.12) a 8 g Celitu AW (4.14). Směs se 30 minut suší na vzduchu v parní lázni, poté se jeden a půl hodiny suší v sušárně s nuceným oběhem vzduchu. Nechá se vychladnout, zbytek se rozdrtí na jemný prášek a převede do skleněné kolony. Eluuje se ethylacetátem (4.1) a jímá se 100 ml. Přidají se 2 ml roztoku vnitřního standardu (roztok C) (6.1.2).

([1]) Vzhledem k tomu, že hexachlorofen je obsažen v celé řadě typů výrobků, je důležité před definitivním zaznamenáním výsledků stanovit výtěžek hexachlorofenu při stanovení v dotyčném vzorku tímto postupem. Jsou-li výtěžky nízké, mohou být se souhlasem zúčastněných stran provedeny změny, například změna rozpouštědla (benzen místo ethylacetátu) apod.

6.3 ***Methylace vzorku***

Všechna reakční činidla a aparatura se dvě hodiny chladí na teplotu 0 až 4 °C. Do vnějšího zásobníku diazomethanové aparatury se převede 1,2 ml roztoku připraveného podle bodu 6.2 a 0,1 ml methanolu (4.4). Do středního zásobníku se převede asi 200 mg diazaldu (4.2), přidá se 1 ml karbitolu (4.5) a 1 ml diethyletheru (4.3) a nechá se rozpustit. Aparatura se sestaví, z poloviny se ponoří do lázně o teplotě 0 °C a do středního zásobníku se injekční stříkačkou zavede asi 1 ml vychlazeného roztoku hydroxidu draselného (4.7). Je třeba se přesvědčit, že žluté zbarvení způsobené vzniklým diazomethanem přetrvává. Pokud žluté zbarvení nepřetrvává, methylace se opakuje s dalšími 200 mg diazaldu (4.2) ([1]).

Aparatura se po 15 minutách vyjme z lázně a ponechá se uzavřená při pokojové teplotě 12 hodin. Aparatura se otevře, přebytek diazomethanu se odstraní přídavkem několika kapek 10 % (V/V) roztoku kyseliny mravenčí v ethylacetátu (4.15), organický roztok se převede do odměrné baňky na 25 ml. Doplní se po rysku hexanem (4.8).

1,5 µl tohoto roztoku se nastříkne do chromatografu.

6.4 ***Methylace standardu***

Všechna reakční činidla a aparatura se dvě hodiny chladí na teplotu 0 až 4 °C. Do vnějšího zásobníku diazomethanové aparatury se umístí:

0,2 ml roztoku B (6.1.1),
1 ml ethylacetátu (4.1),
0,1 ml methanolu (4.4).

V methylaci se pokračuje tak, jak je popsáno v bodu 6.3. 1,5 µl výsledného roztoku se nastříkne do chromatografu.

7. PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE

Kolona musí zaručit rozlišení „R“ rovné nebo lepší než 1,5:

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

kde

r_1 a r_2 = retenční časy (v minutách),

W_1 a W_2 = šířky píků v polovině výšky píků (v milimetrech),

d' = rychlost posuvu papíru (v milimetrech za minutu).

Jako vhodné se ukázaly následující chromatografické podmínky:

Kolona: korozivzdorná ocel.

Délka: 1,7 m.

Průměr: 3 mm.

Nosič:
Chromosorb WAW
zrnitost: 80 až 100 mesh.

Stacionární fáze: 10 % OV 17.

Teploty:
kolona: 280 °C,
nástřik: 280 °C,
detektor: 280 °C.

Nosný plyn: dusík zbavený kyslíku.

Tlak: 2,3 bar.

Průtok: 30 ml/min.

([1]) Přetrvávání tohoto žlutého zbarvení je známkou přebytku diazomethanu, který je nezbytný pro zajištění úplné methylace vzorku.

8. VÝPOČET

8.1 ***Koeficient úměrnosti hexachlorofenu***

Bude odpovídat zvolenému standardu a jeho poměru ve standardní směsi.

Nechť

h = hexachlorofen,

k_h = jeho koeficient úměrnosti,

m'_h = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

A'_h = plocha jeho píku,

s = vybraný standard,

m'_s = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

A'_s = plocha jeho píku,

potom:

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

8.2 ***Množství hexachlorofenu ve vzorku***

Nechť

h = hexachlorofen,

k_h = jeho koeficient úměrnosti,

A_h = plocha jeho píku,

s = vybraný standard,

m_s = jeho hmotnost ve směsi (v gramech),

A_s = plocha jeho píku,

M = hmotnost odebraného vzorku (v gramech),

potom % (m/m) hexachlorofenu ve vzorku je

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

9. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu 0,1 % (m/m) hexachlorofenu by neměla absolutní hodnota rozdílu dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,005 % (m/m).

KVANTITATIVNÍ STANOVENÍ TOSYLCHLORAMIDU SODNÉHO (INN) (chloraminu-T)

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě je popsáno stanovení sodné soli tosylchloramidu (chloraminu-T) v kosmetických prostředcích chromatografií na tenké vrstvě.

([1]) Norma ISO 5725.

2. DEFINICE

Obsah chloraminu-T ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech (m/m).

3. PODSTATA METODY

Chloramin-T se kvantitativně hydrolyzuje na 4-toluensulfonamid varem s kyselinou chlorovodíkovou.

Množství vzniklého 4-toluensulfonamidu se po chromatografii na tenké vrstvě stanoví fotodensitometricky.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Tosylchloramid, sodná sůl (chloramin-T).

4.2 Standardní roztok 4-toluensulfonamidu: 50 mg 4-toluensulfonamidu ve 100 ml ethanolu (4.5).

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

4.4 Diethylether.

4.5 Ethanol, 96 % (V/V).

4.6 ***Vyvíjecí rozpouštědlo***

4.6.1 Butan-1-ol/ethanol (4.5)/voda (40: 4: 9, V/V/V), nebo

4.6.2 Chloroform/aceton (6: 4, V/V).

4.7 Hotové desky pro chromatografii na tenké vrstvě, silikagel 60, bez fluorescenčního indikátoru.

4.8 Manganistan draselný.

4.9 Kyselina chlorovodíková, 15 % (m/m).

4.10 Detekční činidlo: 2-toluidin, 1 % roztok (m/V) v ethanolu (4.5).

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní vybavení.

5.2 Běžné vybavení pro chromatografii na tenké vrstvě.

5.3 Fotodensitometr.

6. POSTUP

6.1 ***Hydrolýza***

Do baňky na 50 ml s kulatým dnem se přesně naváží asi 1 g vzorku (m). Přidá se 5 ml vody a 5 ml kyseliny chlorovodíkové (4.3) a vaří se jednu hodinu pod zpětným chladičem. Horká suspenze se okamžitě převede vodou do odměrné baňky na 50 ml. Nechá se vychladnout a doplní po rysku vodou. Odstřeďuje se pět minut alespoň při 3000 ot./min a supernatant se zfiltruje.

6.2 ***Extrakce***

6.2.1 Odebere se 30 ml filtrátu a extrahuje se třikrát 15 ml diethyletheru (4.4). V případě potřeby se etherové fáze vysuší a shromáždí v odměrné baňce na 50 ml. Doplní se po rysku diethyletherem (4.4).

6.2.2 Odebere se 25 ml vysušeného etherického extraktu a odpaří se do sucha v proudu dusíku. Odparek se rozpustí v 1 ml ethanolu (4.5).

6.3 ***Chromatografie na tenké vrstvě***

6.3.1 20 µl ethanolického roztoku odparku (6.2.2) se nanese na desku pro chromatografii na tenké vrstvě (4.7).

Současně a stejným způsobem se nanese 8, 12, 16 a 20 µl standardních roztoků 4-toluensulfonamidu (4.2).

6.3.2 Nechá se vyvíjet ve vyvíjecím rozpouštědle (4.6.1 nebo 4.6.2), až čelo dosáhne vzdálenosti asi 150 mm.

6.3.3 Po úplném odpaření vyvíjecího rozpouštědla se deska umístí na dvě až tři minuty do atmosféry par chloru vzniklých nalitím asi 100 ml kyseliny chlorovodíkové (4.9) na asi 2 g manganistanu draselného (4.8) v uzavřené nádobě. Přebytek chloru se odstraní zahřátím desky na 100 °C po dobu pěti minut. Poté se deska postříká detekčním činidlem (4.10).

6.4 ***Měření***

Přibližně po jedné hodině se fialové skvrny proměří fotodensitometrem při 525 nm.

6.5 ***Vynesení kalibračních křivek***

Hodnoty maximálních výšek píků stanovených pro čtyři skvrny 4-toluensulfonamidu se vynesou proti odpovídajícím množstvím 4-toluensulfonamidu (tj. 4, 6, 8 a 10 µg 4-toluensulfonamidu na skvrnu).

7. POZNÁMKA

Metodu je možno ověřit pomocí 0,1 nebo 0,2 % roztoku (m/V) chloraminu-T (4.1), který se podrobí stejnému postupu jako vzorek (6).

8. VÝPOČET

Obsah chloraminu-T ve vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech se vypočte takto:

$$\% \text{ (m/m) sodné soli tosylchloramidu} = \frac{1{,}33 \times a}{60 \times m}$$

kde

1,33 = přepočítávací faktor 4-toluensulfonamid/chloramin-T,

a = množství 4-toluensulfonamidu ve vzorku, odečtené z kalibračních křivek (v μg),

m = hmotnost odebraného vzorku (v gramech).

9. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu asi 0,2 % (m/m) chloraminu-T by neměla absolutní hodnota rozdílu dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,03 % (m/m).

STANOVENÍ CELKOVÉHO FLUORU V ZUBNÍCH PASTÁCH

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

Tato metoda je určena ke stanovení celkového fluoru v zubních pastách. Je vhodná pro obsah nepřesahující 0,25 %.

2. DEFINICE

Obsah fluoru ve vzorku stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech.

3. PODSTATA METODY

Stanovení se provádí plynovou chromatografií. Fluor se ze sloučenin obsahujících fluor převede na triethylfluorsilan (TEFS) přímou reakcí s chlortriethylsilanem (TECS) v kyselém prostředí a současně se extrahuje xylenem obsahujícím cyklohexan jako vnitřní standard.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

4.1 Fluorid sodný, sušený při 120 °C do konstantní hmotnosti.

4.2 Voda, dvakrát destilovaná nebo ekvivalentní kvality.

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

4.4 Cyklohexan (CH).

4.5 Xylen nevykazující na chromatogramu při chromatografii za stejných podmínek jako vzorek (6.1) žádné píky před píkem rozpouštědla. V případě potřeby se čistí destilací (5.8).

([1]) Norma ISO 5725.

4.6 Chlortriethylsilan (TECS Merck nebo ekvivalentní).

4.7 ***Standardní roztoky fluoru***

4.7.1 Zásobní roztok, 0,250 mg *F* -/ml. Naváží se přesně 138,1 mg fluoridu sodného (4.1) a rozpustí se ve vodě (4.2). Roztok se kvantitativně převede do odměrné baňky na 250 ml (5.5). Zředí se po rysku vodou (4.2) a promíchá.

4.7.2 Zředěný zásobní roztok, 0,050 mg *F* -/ml. Do odměrné baňky na 100 ml (5.5) se pipetou převede 20 ml zásobního roztoku (4.7.1). Zředí se po rysku vodou a promíchá.

4.8 ***Roztok vnitřního standardu***

Smíchá se 1 ml cyklohexanu (4.4) a 5 ml xylenu (4.5).

4.9 ***Roztok chlortriethylsilan/vnitřní standard***

Do odměrné baňky na 10 ml se pipetou (5.7) převede 0,6 ml TECS (4.6) a 0,12 ml roztoku vnitřního standardu (4.8). Zředí se xylenem po rysku a promíchá. Připravuje se čerstvý každý den.

4.10 Kyselina chloristá, 70 % (m/V).

4.11 Kyselina chloristá, 20 % (m/V) ve vodě (4.2).

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní vybavení.

5.2 Plynový chromatograf vybavený plamenovým ionizačním detektorem.

5.3 Míchačka Vortex nebo ekvivalentní.

5.4 Třepačka Bühler, typ SMB_1 nebo ekvivalentní.

5.5 Odměrné baňky na 100 a 250 ml z polypropylenu.

5.6 Centrifugační kyvety (skleněné) na 20 ml se šroubovacími uzávěry potaženými teflonem, Sovirel typ 611-56 nebo ekvivalentní. Kyvety a uzávěry se čistí louhováním v kyselině chloristé (4.11) několik hodin, poté se pětkrát vypláchnou vodou (4.2) a nakonec se suší při 100 °C.

5.7 Pipety s nastavitelným objemem na 50 až 200 µl, se špičkami z plastu na jedno použití.

5.8 Destilační přístroj s třídílnou Schneiderovou kolonou nebo ekvivalentní kolonou Vigreux.

6. POSTUP

6.1 ***Analýza vzorku***

6.1.1 Vybere se dosud neotevřená tuba se zubní pastou, rozřízne se a veškerý obsah se vyjme. Převede se do nádoby z plastu, důkladně se promíchá a uchovává se za podmínek, při nichž nedojde ke znehodnocení vzorku.

6.1.2 Do centrifugační zkumavky (5.6) se naváží přesně 150 mg vzorku (m), přidá se 5 ml vody (4.2) a zhomogenizuje se (5.3).

6.1.3 Přidá se 1 ml xylenu (4.5).

6.1.4 Po kapkách se přidá 5 ml kyseliny chlorovodíkové (4.3) a zhomogenizuje se (5.3).

6.1.5 Do centrifugační kyvety (5.6) se pipetou přidá 0,5 ml roztoku chlortriethylsilan/vnitřní standard (4.9).

6.1.6 Kyveta se uzavře šroubovacím uzávěrem (5.6) a důkladně se třepe 45 minut na třepačce (5.4) nastavené na 150 kmitů za minutu.

6.1.7 Odstřeďuje se 10 minut při takové rychlosti, aby došlo ke zřetelné separaci fází, kyveta se otevře, organická vrstva se odebere a 3 µl organické fáze se nastříknou do kolony plynového chromatografu (5.2).

Poznámka:
Eluce všech složek trvá asi 20 minut.

6.1.8 Nástřik se opakuje, vypočte se průměrný poměr ploch píků (A_{TEFS}/A_{CH}), a odpovídající obsah fluoru (v miligramech (m_1)) se odečte z kalibrační křivky (6.3).

6.1.9 Celkový obsah fluoru ve vzorku (v hmotnostních procentech fluoru) se vypočte způsobem popsaným v bodu 7.

6.2 ***Chromatografické podmínky***

6.2.1 Kolona: korozivzdorná ocel.

Délka: 1,8 m.

Průměr: 3 mm.

Nosič: Gaschrom Q, 80 až 100 mesh.

Stacionární fáze: silikonový olej DC 200 nebo ekvivalentní, 20 %. Kolona se kondicionuje přes noc při 100 °C (při průtoku nosného plynu 25 ml dusíku za minutu), což se opakuje každou noc. Po každém čtvrtém nebo pátém nástřiku se kolona znovu kondicionuje zahřátím na 100 °C na dobu 30 minut.

Teplotní režim:
kolona: 70 °C,
nástřik: 150 °C,
detektor: 250 °C.

Průtok nosného plynu: 35 ml dusíku za minutu.

6.3 ***Kalibrační křivka***

6.3.1 Do řady šesti centrifugačních kyvet (5.6) se pipetou odměří 0, 1, 2, 3, 4 a 5 ml zředěného standardního roztoku fluoridu (4.7.2). Každá zkumavka se doplní vodou (4.2) na objem 5 ml.

6.3.2 Pokračuje se tak, jak je popsáno v bodech 6.1.3 až 6.1.6 včetně.

6.3.3 Do kolony plynového chromatografu (5.2) se nastříknou 3 µl organické fáze.

6.3.4 Nástřik se opakuje a vypočítá se průměrný poměr ploch píků (A_{TEPS}/A_{CH}).

6.3.5 Vynese se kalibrační křivka závislosti hmotnosti fluoru (v miligramech) ve standardních roztocích (6.3.1) a poměr ploch píku (A_{TEFS}/A_{CH}) změřených v bodu 6.3.4. Pomocí regresní analýzy se provede nejlepší proložení bodů křivky přímkou.

7. VÝPOČET

Koncentrace celkového fluoru ve vzorku (v hmotnostních procentech fluoru) (% (m/m) F) je dána vztahem:

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

kde

m = zkušební vzorek (6.1.2) (v miligramech),

m_1 = množství F (v miligramech) odečtené z kalibrační křivky (6.1.8).

8. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu asi 0,15 % (m/m) fluoru by neměla absolutní hodnota rozdílu dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,012 % (m/m).

DŮKAZ A STANOVENÍ ORGANICKÝCH SLOUČENIN RTUTI

ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

Dále popsanou metodu lze použít pro důkaz a stanovení organických derivátů rtuti používaných jako konzervační prostředky v kosmetických prostředcích k líčení a odličování očí. Metodu lze použít pro thiomersal (INN) (merthiolát) a fenylrtuťnaté soli.

A. DŮKAZ

1. PODSTATA METODY

Organické sloučeniny rtuti se převedou na komplex s 1,5-difenyl-3-thiokarbazonem. Po extrakci dithizonátu chloridem uhličitým se provede chromatografie na tenké vrstvě na silikagelu. Skvrny dithizonátů se objeví jako oranžově zbarvené skvrny.

2. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

2.1 Kyselina sírová, 25 % (v/v).

([1]) Norma ISO 5725.

2.2 l,5-Difenyl-3-thiokarbazon (dithizon): 0,8 mg ve 100 ml chloridu uhličitého (2.4).

2.3 Dusík.

2.4 Chlorid uhličitý.

2.5 Vyvíjecí rozpouštědlo: hexan/aceton, 90: 10 (v/v).

2.6 Standardní roztok, 0,001 % ve vodě:

ethylhydrargyrium(2-karboxylatobenzethiolátu), sodné soli,

chloridu ethylrtuti nebo chloridu methylrtuti,

dusičnanu fenylrtuti nebo octanu fenylrtuti,

chloridu rtuťnatého nebo octanu rtuťnatého.

2.7 Hotové silikagelové desky (např. Merck 5721 nebo ekvivalentní).

2.8 Chlorid sodný.

3. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

3.1 Běžné laboratorní vybavení.

3.2 Běžné vybavení pro chromatografii na tenké vrstvě.

3.3 Filtr pro separaci fází.

4. POSTUP

4.1 ***Extrakce***

4.1.1 l g vzorku se zředí v centrifugační kyvetě 20 ml destilované vody. Co nejvíce se rozptýlí a zahřeje na vodní lázni na 60 °C. Přidají se 4 g chloridu sodného (2.8). Protřepe se. Nechá se vychladnout.

4.1.2 Odstřeďuje se alespoň 20 minut při 4500 ot./min, aby se oddělila větší část pevné fáze od kapaliny. Přefiltruje se do dělicí nálevky a přidá se 0,25 ml roztoku kyseliny sírové (2.1).

4.1.3 Několikrát se extrahuje 2 až 3 ml roztoku dithizonu (2.2), dokud nezůstane poslední organická fáze zelená.

4.1.4 Všechny organické fáze se postupně přefiltrují přes filtr pro separaci fází (3.3).

4.1.5 Odpaří se do sucha v proudu dusíku (2.3).

4.1.6 Rozpustí se v 0,5 ml chloridu uhličitého (2.4). Roztok se okamžitě použije způsobem popsaným v bodu 4.2.1.

4.2 ***Separace a důkaz***

4.2.1 Na silikagelovou desku (2.7) se ihned nanese 50 µl roztoku v chloridu uhličitém připraveného podle bodu 4.1.6. Současně se 10 ml standardního roztoku (2.6) podrobí postupu popsanému v bodu 4.1 a 50 µl roztoku získaného podle bodu 4.1.6 se nanese na tutéž desku.

4.2.2 Deska se umístí do rozpouštědla (2.5) a rozpouštědlo se nechá vystoupit do výšky 150 mm. Organické sloučeniny rtuti se objeví jako oranžové skvrny, jejichž barva je stálá, jestliže se okamžitě po odpaření rozpouštědla přikryjí skleněnou deskou.

Lze získat například následující hodnoty Rf:

	R_f	Barva
Thiomersal	0,33	Oranžová
Chlorid ethylrtuti	0,29	Oranžová
Chlorid methylrtuti	0,29	Oranžová
Soli fenylrtuti	0,21	Oranžová
Rtuťnaté soli	0,10	Oranžová
Octan rtuťnatý	0,10	Oranžová
l,5-Difenyl-3-thiokarbazon	0,09	Růžová

B. STANOVENÍ

1. DEFINICE

Obsah organických sloučenin rtuti stanovený touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech (m/m) rtuti ve vzorku.

2. PODSTATA METODY

Metoda je založena na měření celkového obsahu přítomné rtuti. Je proto nezbytné se nejprve ujistit, že není přítomna anorganická rtuť, a identifikovat organické sloučeniny rtuti přítomné ve vzorku. Po mineralizaci se uvolněná rtuť stanoví bezplamenovou atomovou absorpcí.

3. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

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 % roztok (m/v).

3.5 Hydroxylamonium-chlorid, 1,5 % roztok (m/v).

3.6 Peroxodisíran draselný, 5 % roztok (m/v).

3.7 Chlorid cínatý, 10 % roztok (m/v).

3.8 Koncentrovaná kyselina chlorovodíková, d_4^{20} = 1,18 g/ml.

3.9 Skelná vata impregnovaná chloridem paladnatým, 1 % (m/m).

4. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

4.1 Běžné laboratorní vybavení.

4.2 Přístroj pro stanovení rtuti bezplamenovou atomovou absorpční spektrometrií (technika generování studených par) včetně potřebného skleněného nádobí. Optická dráha kyvety alespoň 100 mm.

5. POSTUP

Zachovávají se všechna bezpečnostní opatření obvyklá pro stopovou analýzu rtuti.

5.1 ***Rozklad***

5.1.1 Přesně se naváží 150 mg vzorku (m). Přidá se 10 ml kyseliny dusičné (3.1), ponechá se působit tři hodiny ve vzduchotěsné nádobce ve vodní lázni při 55 °C a v pravidelných intervalech se protřepává. Současně se provede slepý pokus s reakčními činidly.

5.1.2 Po vychladnutí se přidá 10 ml kyseliny sírové (3.2) a vrátí se na 30 minut do vodní lázně vyhřáté na 55 °C.

5.1.3 Nádoba se vloží do ledové lázně a opatrně se přidá 20 ml vody (3.3).

5.1.4 Po dávkách se přidají 2 ml 7 % roztoku manganistanu draselného (3.4), dokud roztok nezůstane zbarvený. Vrátí se na dalších 15 minut do vodní lázně vyhřáté na 55 °C.

5.1.5 Přidají se 4 ml roztoku peroxodisíranu draselného (3.6). V zahřívání na vodní lázni při 55 °C se pokračuje po dobu 30 minut.

5.1.6 Nechá se vychladnout a obsah se převede do odměrné baňky na 100 ml. Nádobka se vypláchne 5 ml roztoku hydroxylamonium-chloridu (3.5) a poté čtyřikrát 10 ml vody (3.3). Roztok by se měl úplně odbarvit. Doplní se po rysku vodou (3.3).

5.2 ***Stanovení***

5.2.1 10 ml zkušebního roztoku (5.1.6) se převede do skleněné nádobky pro stanovení rtuti technikou generování studených par (4.2). Zředí se 100 ml vody (3.3) a následně se přidá 5 ml kyseliny sírové (3.2) a 5 ml roztoku chloridu cínatého (3.7). Po každém přídavku se promíchá. Vyčká se 30 sekund, aby se veškeré ionty rtuti zredukovaly na kovovou rtuť, a odečte se výsledná hodnota (n).

5.2.2 Skelná vata impregnovaná chloridem paladnatým (3.9) se vloží mezi redukční nádobku a průtočnou kyvetu přístroje (4.2). Postup podle bodu 5.2.1 se opakuje a odečte se výsledná hodnota. Pokud hodnota není nulová, mineralizace byla neúplná a analýza se musí opakovat.

6. VÝPOČET

Nechť

m = hmotnost zkušebního vzorku (v miligramech),

n = množství rtuti odečtené na přístroji (v μg).

Množství rtuti vyjádřené v hmotnostních procentech rtuti se vypočte ze vzorce:

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

7. POZNÁMKY

7.1 Ke zlepšení mineralizace může být nezbytné začít zředěním vzorku.

7.2 Je-li podezření, že se rtuť absorbuje na substrát, mělo by se provést kvantitativní stanovení metodou standardních přídavků.

8. OPAKOVATELNOST ([1])

Při koncentraci rtuti 0,007 % by neměla absolutní hodnota rozdílu dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,00035 %.

STANOVENÍ SULFIDŮ ALKALICKÝCH KOVŮ A KOVŮ ALKALICKÝCH ZEMIN

1. ROZSAH A OBLAST POUŽITÍ

V této metodě je popsáno stanovení sulfidů přítomných v kosmetických prostředcích. Přítomnost thiolů nebo jiných redukčních činidel (včetně siřičitanů) neruší.

2. DEFINICE

Koncentrace sulfidů stanovená touto metodou se vyjádří v hmotnostních procentech síry.

3. PODSTATA METODY

Po okyselení prostředí se sirovodík odvede proudem dusíku a poté se vyváže ve formě sulfidu kademnatého. Ten se odfiltruje, propláchne a stanoví jodometricky.

4. REAKČNÍ ČINIDLA

Všechna reakční činidla musí být čistoty p.a.

([1]) Norma ISO 5725.

4.1 Koncentrovaná kyselina chlorovodíková, d_4^{20} = 1,19 g/ml.

4.2 Thiosíran sodný, 0,1 M odměrný roztok.

4.3 Jod, 0,05 M odměrný roztok.

4.4 Sulfid sodný.

4.5 Octan kademnatý.

4.6 Koncentrovaný amoniak, d_4^{20} = 0,90 g/ml.

4.7 Amoniakální roztok octanu kademnatého: 10 g octanu kademnatého (4.5) se rozpustí v přibližně 50 ml vody. Přidává se amoniak (4.6), dokud se sraženina nerozpustí (tj. přibližně 20 ml). Doplní se vodou po rysku do 100 ml.

4.8 Dusík.

4.9 Roztok amoniaku, M.

5. PŘÍSTROJE A POMŮCKY

5.1 Běžné laboratorní vybavení.

5.2 Tříhrdlá baňka se zábrusem na 100 ml s kulatým dnem.

5.3 Dvě Erlenmeyrovy baňky na 150 ml se zábrusem a s trubicí pro přívod a odvod plynu.

5.4 Jedna nálevka s dlouhým stonkem.

6. POSTUP

6.1 ***Uvolnění sulfidů***

6.1.1 Použije se dosud neotevřené balení výrobku. Do baňky s kulatým dnem (5.2) se přesně naváží množství prostředku (m) (vyjádřeno v gramech), které odpovídá nejvýše 30 mg sulfidových iontů. Přidá se 60 ml vody a dvě kapky odpěňovače.

6.1.2 Do obou Erlenmeyerových baněk (5.3) se převede po 50 ml roztoku (4.7).

6.1.3 Na tříhrdlou baňku (5.2) se připojí dělicí nálevka a trubice pro přívod a odvod plynu. Trubice pro odvod plynu se připojí pomocí hadiček z PVC na Erlenmeyerovy baňky (5.3) řazené za sebou.

Poznámka: Aparatura na uvolnění sulfidů musí projít následující zkouškou těsnosti: za stejných zkušebních podmínek se prostředek, který má být zkoumán, nahradí 10 ml roztoku sulfidu (připraveného ze 4.4), obsahujícího „X mg“ sulfidu (stanoví se jodometricky). Nechť „Y“ je počet miligramů sulfidu zjištěný na konci této operace. Rozdíl mezi množstvím „X“ a „Y“ nesmí překročit 3 %.

6.1.4 Pro odstranění vzduchu se nechá baňkou s kulatým dnem (5.2) 15 minut procházet dusík (4.8) rychlostí dvě bublinky za sekundu.

6.1.5 Baňka s kulatým dnem se ohřeje na 85 ± 5 °C.

6.1.6 Proud dusíku (4.8) se zastaví a po kapkách se přidá 40 ml kyseliny chlorovodíkové (4.1).

6.1.7 Proud dusíku (4.8) se obnoví po přidání téměř veškeré kyseliny. Ponechá se minimální zátka kapaliny, aby se zamezilo úniku sirovodíku.

6.1.8 Po 30 minutách se ohřev přeruší. Baňka (5.2) se nechá nejméně hodinu a půl chladnout za stálého proudu dusíku (4.8).

6.2 ***Titrace***

6.2.1 Sraženina sulfidu kademnatého se odfiltruje přes nálevku s dlouhým stonkem (5.4).

6.2.2 Erlenmeyerovy baňky (5.3) se nejprve propláchnou roztokem amoniaku (4.9) a kapalina se nalije na filtr. Poté se vypláchnou destilovanou vodou a voda se použije k promytí sraženiny zadržované na filtru.

6.2.3 Promývání sraženiny se dokončí promytím dalšími 100 ml vody.

6.2.4 Papírový filtr se vloží do první Erlenmeyerovy baňky, která obsahovala sraženinu. Přidá se 25 ml (n_1) roztoku jodu (4.3), přibližně 20 ml kyseliny chlorovodíkové (4.1) a 50 ml destilované vody.

6.2.5 Nadbytek jodu se stanoví roztokem thiosíranu sodného (n_2) (4.2).

7. VÝPOČET

Obsah sulfidů ve vzorku vyjádřený v hmotnostních procentech síry se vypočte podle následujícího vzorce:

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

kde:

n_1 = použité množství odměrného roztoku jodu (4.3) (v mililitrech),

x_1 = molarita tohoto roztoku,

n_2 = použité množství odměrného roztoku thiosíranu sodného (4.2) (v mililitrech),

x_2 = molarita tohoto roztoku,

m = hmotnost zkušebního vzorku (v gramech).

8. OPAKOVATELNOST ([1])

Při obsahu sulfidů asi 2 % (m/m) by neměla absolutní hodnota rozdílu dvou stanovení provedených současně se stejným vzorkem překročit 0,2 % (m/m).

([1]) Norma ISO 5725.