31983L0514

24.10.1983 *DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH* L 291/9

TRZECIA DYREKTYWA KOMISJI

z dnia 27 września 1983 r.

w sprawie zbliżania ustawodawstw Państw Członkowskich dotyczących metod analizy niezbędnych do kontrolowania składu produktów kosmetycznych

(83/514/EWG)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Europejską Wspólnotę Gospodarczą,

uwzględniając dyrektywę Rady 76/768/EWG z dnia 27 lipca 1976 r. w sprawie zbliżania ustawodawstw Państw Członkowskich dotyczących produktów kosmetycznych ([1]), ostatnio zmienioną dyrektywą 83/341/EWG ([2]), w szczególności jej art. 8 ust. 1,

a także mając na uwadze, co następuje:

dyrektywa 76/768/EWG przewiduje urzędowe kontrole produktów kosmetycznych w celu sprawdzenia, czy przestrzegane są przepisy wspólnotowe dotyczące składu produktów kosmetycznych;

w związku z tym muszą zostać ustalone, tak szybko jak to jest możliwe, wszelkie niezbędne metody analityczne; podjęto już dwa rodzaje działań w kierunku osiągnięcia tego celu, poprzez ustalenie pewnych metod w dyrektywach Komisji 80/1335/EWG ([3]) i 82/434/EWG ([4]); trzecim rodzajem działania jest ustalenie metod, w celu ilościowego oznaczania dichlorometanu i 1,1,1-trichloroetanu, identyfikowania i ilościowego oznaczania chinolin-8-olu i siarczanu bis(8-hydroksychinoliny), ilościowego oznaczania amoniaku, identyfikowania i ilościowego oznaczania nitrometanu, identyfikowania i ilościowego oznaczania kwasu merkaptooctowego w środkach do trwałej ondulacji i w środkach do prostowania włosów oraz środkach do depilowania, identyfikowania i ilościowego oznaczania heksachlorofenu (INN), tionu tosylochloramidu sodowego (INN), ilościowego oznaczania całkowitego fluoru w pastach do zębów, identyfikowania i ilościowego oznaczania organicznych związków rtęci i ilościowego oznaczania siarczków metali alkalicznych i ziem alkalicznych;

środki przewidziane w niniejszej dyrektywie są zgodne z opinią Komitetu w sprawie dostosowania dyrektywy 76/768/EWG do postępu technicznego,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DYREKTYWĘ:

Artykuł 1

Państwa Członkowskie podejmą wszelkie niezbędne działania, aby zapewnić, że podczas urzędowego badania produktów kosmetycznych:

— ilościowe oznaczanie dichlorometanu i 1,1,1-trichloroetanu,

— identyfikowanie i ilościowe oznaczanie chinolin-8-olu i siarczanu bis(8-hydroksychinoliny),

— ilościowe oznaczanie amoniaku,

— identyfikowanie i ilościowe oznaczanie nitrometanu,

— identyfikowanie i ilościowe oznaczanie kwasu merkaptooctowego w środkach do trwałej ondulacji i środkach do prostowania i depilowania włosów,

— identyfikowanie i ilościowe oznaczanie heksachlorofenu (INN),

— ilościowe oznaczanie tosylochloramidu sodowego (INN),

— ilościowe oznaczanie całkowitego fluoru w pastach do zębów,

— identyfikowanie i ilościowe oznaczanie organicznych związków rtęci,

([1]) Dz.U. L 262 z 27.9.1976, str. 169.
([2]) Dz.U. L 188 z 13.7.1983, str. 15.
([3]) Dz.U. L 383 z 31.12.1980, str. 27.
([4]) Dz.U. L 185 z 30.6.1982, str. 1.

— ilościowe oznaczanie siarczków metali alkalicznych i ziem alkalicznych,

zostaną przeprowadzone zgodnie z metodami opisanymi w załączniku.

Artykuł 2

Nie później niż do dnia 31 grudnia 1984 r. Państwa Członkowskie wprowadzą w życie przepisy ustawowe, wykonawcze i administracyjne niezbędne do wykonania niniejszej dyrektywy.

Państwa Członkowskie niezwłocznie powiadomią o tym Komisję.

Artykuł 3

Niniejsza dyrektywa skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 27 września 1983 r.

W imieniu Komisji

Frans ANDRIESSEN

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK

OZNACZANIE DICHLOROMETANU i 1,1,1-TRICHLOROETANU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Przedstawiona metoda obejmuje oznaczanie dichlorometanu (chlorek metylenu) i 1,1,1-trichloroetanu (chloroform metylowy) we wszystkich produktach kosmetycznych mogących zawierać te rozpuszczalniki.

2. DEFINICJA

Zawartość dichlorometanu i l,l,l-trichloroetanu w próbce wyrobu oznaczana zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych.

3. ZASADA

W metodzie używana jest chromatografia gazowa z chloroformem jako wewnętrznym standardem.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki muszą być czystości analitycznej.

4.1. Chloroform ($CHCl_3$).

4.2. Czterochlorek węgla (CCl_4).

4.3. Dichlorometan (CH_2Cl_2).

4.4. l,1,l-trichloroetan (CH_3CCl_3).

4.5. Aceton.

4.6. Azot.

5. APARATURA

5.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2. Chromatograf gazowy wyposażony w detektor przewodnictwa cieplnego.

5.3. Butelka do przenoszenia, 50–100 ml (patrz pobieranie próbek 5.3.) ([1]).

5.4. Ciśnieniowa strzykawka gazowa, 25 lub 50 µl (patrz metoda pobierania próbek 5.4.2.2) ([1]).

6. PROCEDURA

6.1. Próbka pod normalnym ciśnieniem: odważyć dokładnie próbkę w kolbie stożkowej zamykanej korkiem. Wprowadzić dokładnie zważoną ilość chloroformu (4.l) jako standard wewnętrzny równoważny przewidywanej ilości dichlorometanu i l,l,1-trichloroetanu zawartych w próbce. Dokładnie wymieszać.

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

6.2. Próbka pod zwiększonym ciśnieniem: zastosować metodę pobierania próbek opisaną w rozdziale o pobieraniu próbek, ale z następującymi poprawkami:

6.2.1. Po przeniesieniu próbki do butelki do przenoszenia (5.3) wprowadzić do niej pewną objętość chloroformu (4.l) jako standard wewnętrzny, równoważny przewidywanej ilości dichlorometanu i/lub 1,1,1-trichloroetanu zawartych w próbce. Dokładnie wymieszać. Przemyć martwą objętość zaworu 0,5 ml czterochlorku węgla (4.2). Po wysuszeniu, oznaczyć różnicowo dokładnie dodaną masę standardu wewnętrznego.

6.2.2. Po napełnieniu strzykawki próbką, dysza strzykawki powinna być przepłukana azotem (4.6), tak aby żadna pozostałość próbki nie została wewnątrz przed wprowadzeniem do chromatografu.

6.2.3. Po każdym pobraniu próbki, powierzchnie zaworu i części przenoszącej powinny być przepłukane kilkakrotnie acetonem (4.5) (z użyciem strzykawki do iniekcji podskórnych) i wysuszone dokładnie azotem (4.6).

6.2.4. Dla każdej analizy należy wykonać pomiary z użyciem dwóch różnych butelek do przenoszenia i powtarzać pięciokrotnie pomiary dla każdej butelki.

7. WARUNKI ANALIZY CHROMATOGRAFICZNEJ

7.1. ***Kolumna wstępna***

Połączenie rurowe: stal nierdzewna.

Długość: 300 mm.

Średnica: 3 lub 6 mm.

Wypełnienie: to samo, które jest używane do wypełnienia kolumny analitycznej.

7.2. ***Kolumna***

Faza stacjonarna jest przygotowana z Hallcomidu M l8 osadzonego na chromosorbie. Kolumna powinna mieć zdolność rozdzielczą „R" równą lub wyższą niż l,5, gdzie:

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

przyjęto:

r_1 i r_2 = czasy retencji (w minutach),

W_1 i W_2 = szerokości piku w połowie wysokości (w milimetrach),

d' = szybkość przesuwu papieru (w milimetrach na minutę).

7.3. Jako przykład poniższe kolumny dały oczekiwane wyniki:

Kolumna	*I*	*II*
Materiał:	Rurka ze stali nierdzewnej	Rurka ze stali nierdzewnej
Długość:	350 cm	400 cm
Średnica:	3 mm	6 mm
Nośnik:		
chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
analiza sitowa	100–l20 oczek	60–80 oczek
Faza stacjonarna:	Hallcomid M 18, 10 %	Hallcomid M 18, 20 %

Warunki temperaturowe mogą się różnić zależnie od aparatu. W przykładach ustalono je następująco:

Kolumna	*I*	*II*
Temperatury:		
kolumna:	65 °C	75 °C
dozownik:	150 °C	125 °C
detektor:	150 °C	200 °C
Gaz nośny:		
szybkość przepływu helu:	45 ml/min	60 ml/min
ciśnienie wlotowe	2,5 bara	2 bary
Dozowanie:	15 µl	15 µl

8. MIESZANINA DO USTALENIA WSPÓŁCZYNNIKÓW REAKCJI

Sporządzić następującą, dokładnie odważoną mieszaninę w kolbie stożkowej z korkiem:

Dichlorometan (4.3), 30 % (m/m).
l,1,1-trichloroetan (4.4), 35 % (m/m).
Chloroform (4.l), 35 % (m/m).

9. OBLICZENIA

9.1. ***Obliczenie współczynnika reakcji substancji „p" w stosunku do substancji „a" wybranej jako standard wewnętrzny***

Podać najpierw dane o pierwszej substancji oznaczonej „p", gdzie:

k_p = jej współczynnik reakcji,

m_p = jej masa w mieszaninie,

A_p = owierzchnia jej piku.

Następnie dane o substancji „a", przyjmując:

k_a = jej współczynnik reakcji,

M_a = jej masa w mieszaninie,

A_a = powierzchnia jej piku,

zatem:

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

Przykładowo otrzymano następujące współczynniki reakcji (przyjmując dla chloroformu k = l) dla:

Dichlorometanu: $k_1 = 0{,}78 \pm 0{,}03$

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

9.2. ***Obliczyć obecność w % (m/m) dichlorometanu i l,l,1-trichloroetanu w analizowanej próbce***

Przyjmując:

m_a = masa (w gramach) wprowadzonego chloroformu,

M_s = masa (w gramach) analizowanej próbki,

A_a = powierzchnia piku chloroformu,

A_1 = powierzchnia piku dichlorometanu,

A_2 = powierzchnia piku 1,1,1-trichloroetanu,

wtedy:

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

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

10. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości dichlorometanu i/lub 1,1,1-trichloroetanu 25 % (m/m) różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać wartości 2,5 % (m/m).

[1] Norma ISO 5725.

IDENTYFIKOWANIE I OZNACZANIE CHİNOLIN-8-OLU I SIARCZANU BIS (8-HYDROKSYCHINOLINY)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda opisuje identyfikowanie i ilościowe oznaczanie chinolin-8-olu i siarczanu bis(8-hydroksychinoliny).

2. DEFINICJA

Zawartość chinolin-8-olu i siarczanu bis(8-hydroksychinoliny) w próbce wyrobu oznaczana zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych chinolin-8-olu.

3. ZASADA

3.1. ***Identyfikowanie***

Identyfikowanie wykonuje się metodą chromatografii cienkowarstwowej.

3.2. ***Oznaczanie***

Oznaczanie przeprowadza się metodą spektrometryczną przez pomiar gęstości optycznej przy 410 nm kompleksu otrzymanego w reakcji z roztworem Fehlinga.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Chinolin-8-ol.

4.2. Benzen. Ze względu na jego toksyczność należy przedsięwziąć środki ostrożności podczas pracy z benzenem.

4.3. Chloroform.

4.4. Wodny roztwór wodorotlenku sodu, 50 % (m/m).

4.5. Pentahydrat siarczanu miedzi.

4.6. Winian sodowo-potasowy.

4.7. M roztwór kwasu solnego.

4.8. 0,5 M roztwór kwasu siarkowego.

4.9. M roztwór wodorotlenku sodu.

4.10. Etanol.

4.11. Butan-1-ol.

4.12. Kwas octowy lodowaty.

4.13. 0,l M roztwór kwasu solnego.

4.14. „Celit 545" lub równoważny.

4.15. ***Roztwory standardowe***

4.15.1. Odważyć 100 mg chinolin-8-olu (4.1) w 100 ml kolbie miarowej. Rozpuścić w małej ilości kwasu siarkowego (4.8). Uzupełnić do kreski roztworem kwasu siarkowego (4.8).

4.15.2. Odważyć 100 mg chinolin-8-olu w 100 ml kolbie miarowej. Rozpuścić w etanolu (4.10). Uzupełnić do kreski etanolem (4.10) i wymieszać.

4.16. ***Roztwór Fehlinga***

Roztwór A

Odważyć 7 g pentahydratu siarczanu miedzi (4.5) w 100 ml kolbie miarowej. Rozpuścić w małej ilości wody. Uzupełnić do kreski wodą i wymieszać.

Roztwór B

Odważyć 35 g winianu sodowo-potasowego (4.6) w 100 ml kolbie miarowej. Rozpuścić w 50 ml wody. Dodać 20 ml wodorotlenku sodu (4.4). Uzupełnić wodą do kreski i wymieszać. Bezpośrednio przed analizą przenieść po l0 ml roztworu A i roztworu B do 100 ml kolby miarowej. Uzupełnić do kreski i wymieszać.

4.17. ***Roztwory wymywające do chromatografii cienkowarstwowej***

I: Butan-1-ol (4.11)/kwas octowy (4.12)/woda (80:20:20; v/v/v).

II: Chloroform (4.13)/kwas octowy (4.12) (95:5; v/v).

4.18. 2,6-dichloro-4-(chloroimino)cykloheksa-2,5-dienon, 1 % (m/v) roztwór etanolu (4.10).

4.19. Węglan sodu, l % (m/v) roztwór wodny.

4.20. Etanol (4.10), 30 % (v/v) roztwór wodny.

4.21. Etylenodiaminotetraoctan disodu, 5 % (m/v) roztwór wodny.

4.22. ***Roztwór buforowy o pH = 7***

Odważyć 27 g bezwodnego diwodoroortofosforanu potasu i 70 g trihydratu wodoroortofosforanu disodu w jednolitrowej kolbie miarowej. Uzupełnić wodą do kreski.

4.23. ***Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej***

Gotowe płytki do chromatografii cienkowarstwowej o grubości 0,25 mm (na przykład Merck Kieselgel 60 lub równoważne). Przed użyciem spryskać 10 ml odczynnika (4.2.1) i wysuszyć w 80 °C.

5. APARATURA

5.1. 100 ml kolba okrągłodenna ze szlifem.

5.2. Kolby miarowe.

5.3. Pipety kalibrowane, 10 i 5 ml.

5.4. Pipety ze zbiornikiem gruszkowym, 20, 15, 10 i 5ml.

5.5. Rozdzielacze, 100, 50 i 25 ml.

5.6. Karbowana bibuła filtracyjna, średnica 90 mm.

5.7. Obrotowy aparat wyparny.

5.8. Chłodnica zwrotna ze szlifem.

5.9. Spektrofotometr.

5.10. Naczynka pomiarowe o długości drogi optycznej l0 mm.

5.11. Mieszadło magnetyczne z ogrzewaniem.

5.12. Wymiary szklanej kolumny chromatograficznej: długość 160 mm, średnica 8 mm, przewężenie w dolnym końcu zawiera tampon z waty szklanej, a w górnym końcu łącznik do podłączenia dopływu zwiększonego ciśnienia.

6. PROCEDURA

6.1. ***Identyfikowanie***

6.1.1. *Próbki ciekłe*

6.1.1.1. Odczyn części badanej próbki doprowadza się do pH = 7,5 i nanosi się 10 µl na linię bazową przygotowanej uprzednio płytki cienkowarstwowej z żelem krzemionkowym (4.23).

6.1.1.2. 10 i 30 µl roztworu standardowego (4.15.2) nanosi się w dwóch dodatkowych punktach linii początkowej, po czym chromatogram na płytce jest rozwijany w jednym z dwóch roztworów wymywających (4.17).

6.1.1.3. Kiedy czoło rozpuszczalnika osiągnie 150 mm, płytkę suszy się w 110 °C (w ciągu 15 minut). W świetle lampy UV (366 nm) plamy chinolin-8-olu dają żółtą fluorescencję.

6.1.1.4. Spryskać płytkę roztworem węglanu sodu (4.19). Wysuszyć i spryskać roztworem 2,6-dichloro-4-(chloroimino)-cykloheksa-2,5-dienonu (4.18). Chinolin-8-ol staje się widoczny w postaci niebieskiej plamy.

6.1.2. *Próbki stałe lub kremy*

6.1.2.1. Zawiesić l g próbki w 5 ml roztworu buforowego (4.22). Następnie przenieść z 10 ml chloroformu (4.3) do rozdzielacza i wytrząsnąć. Po oddzieleniu warstwy chloroformowej, warstwę wodną ekstrahować jeszcze dwa razy z 10 ml chloroformu (4.3). Odparować połączone i przesączone ekstrakty chloroformowe prawie do sucha w 100 ml kolbie okrągłodennej (5.1) na wyparce obrotowej (5.7). Rozpuścić pozostałość w 2 ml chloroformu (4.3) i nanieść po l0 i 30 µl otrzymanego roztworu na płytkę do chromatografii cienkowarstwowej z żelem krzemionkowym (4.23) i postępować dalej zgodnie z metodą opisaną w ppkt. 6.l.l.l.

6.1.2.2. Nanieść 10 i 30 µl roztworu standardowego (4.15.2) na płytkę i kontynuować postępowanie zgodnie z opisem w ppkt. 6.1.1.2.–6.1.1.4.

6.2. ***Oznaczanie***

6.2.1. *Próbki ciekłe*

6.2.1.1. Odważyć 5 g próbki w 100 ml kolbie okrągłodennej. Dodać l ml roztworu kwasu siarkowego (4.8) i odparować mieszaninę prawie do sucha pod zmniejszonym ciśnieniem w 50 °C.

6.2.1.2. Rozpuścić tę pozostałość w 20 ml ciepłej wody. Przenieść do 100 ml kolby miarowej. Przepłukać trzykrotnie 20 ml wody. Uzupełnić do 100 ml wodą i wymieszać.

6.2.1.3. Wprowadzić pipetą 5 ml tego roztworu do 50 ml rozdzielacza (5.5). Dodać l0 ml roztworu Fehlinga (4.16). Ekstrahować otrzymany kompleks chinolin-8-olu miedzi [w ISO: Cu-oksyna] trzykrotnie po 8 ml chloroformu (4.3).

6.2.1.4. Przesączyć i zebrać warstwy chloroformowe w 25 ml kolbie miarowej (5.2). Uzupełnić do kreski chloroformem (4.3) i wytrząsnąć. Zmierzyć gęstość optyczną żółtego roztworu w porównaniu z chloroformem przy 410 nm.

6.2.2. *Próbki stałe lub kremy*

6.2.2.1. Odważyć 0,500 g próbki w 100 ml kolbie okrągłodennej (4.1). Dodać 30 ml benzenu (4.2) i 20 ml kwasu solnego (4.7). Ogrzewać zawartość kolby do wrzenia pod chłodnicą zwrotną, z mieszaniem w ciągu 30 minut.

6.2.2.2. Przenieść zawartość kolby do 100 ml rozdzielacza (5.5). Popłukać 5 ml l *N* kwasu solnego (4.7). Przenieść fazę wodną do kolby okrągłodennej (5.1) i przemyć warstwę benzenową 5 ml kwasu solnego (4.7).

6.2.2.3. W przypadku emulsji, które utrudniają dalsze działania, zmieszać 0,500 g próbki z 2 g Celitu 545 (4.14) do utworzenia sypkiego proszku. Przenieść mieszaninę w małych porcjach na szklaną kolumnę chromatograficzną (5.12).

Po każdym dodaniu mieszaniny ubijać wypełnienie kolumny do dołu. Natychmiast po przeniesieniu całej mieszaniny do kolumny, należy wymywać ją kwasem solnym (4.13) w taki sposób, aby otrzymać 10 ml eluatu średnio w ciągu 10 minut (jeśli to konieczne, elucję można wykonać pod niewielkim ciśnieniem azotu). Podczas eluowania należy się upewnić, że pewna warstwa kwasu solnego zawsze znajduje się powyżej wypełnienia kolumny. Pierwsze l0 ml eluatu jest następnie poddane postępowaniu opisanemu w ppkt. 6.2.2.4.

6.2.2.4. Odparować zebrane warstwy wodne (6.2.2.2) lub eluaty (6.2.2.3) prawie do sucha w wyparce rotacyjnej pod zmniejszonym ciśnieniem.

6.2.2.5. Rozpuścić pozostałość w 6 ml roztworu wodorotlenku sodu (4.9). Dodać 20 ml roztworu Fehlinga (4.16) i przenieść zawartość kolby do 50 ml rozdzielacza (5.5). Popłukać kolbę 8 ml chloroformu (4.3). Wytrząsnąć i przesączyć warstwę chloroformową do 50 ml kolby miarowej (5.2).

6.2.2.6. Powtórzyć trzykrotnie ekstrakcję chloroformem (4.3). Przesączyć warstwy chloroformowe i zebrać w 50 ml kolbie miarowej. Uzupełnić do kreski chloroformem (4.3) i wytrząsnąć. Zmierzyć gęstość optyczną żółtego roztworu w porównaniu z chloroformem (4.3) przy 410 mn.

7. KRZYWA STANDARDOWA

Do czterech 100 ml kolb okrągłodennych (5.l), każdej zawierającej 3 ml 30 % wodnego roztworu etanolu (4.20) dodać pipetą porcje po 5, 10, 15 i 20 ml roztworu standardowego (4.15.l) odpowiadające 5, 10, 15 i 20 mg chinolin-8-olu. Postępować zgodnie z opisem w ppkt. 6.2.l.

8. OBLICZENIE

8.1. ***Próbki ciekłe***

$$\text{Zawartość chinolin-8-olu (w \% m/m)} = \frac{a}{m} \times 100,$$

gdzie:

a = ilość miligramów chinolin-8-olu odczytana z krzywej standardowej (7),

m = ilość (w miligramach) próbki analitycznej (6.2.1.1).

8.2. ***Próbki stałe lub kremy***

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

gdzie:

a = ilość miligramów chinolin-8-olu odczytana z krzywej standardowej (7),

m = ilość (w miligramach) próbki analitycznej (6.2.2.l).

9. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości około 0,3 % chinolin-8-olu, różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,02 %.

OZNACZANIE AMONIAKU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Celem metody jest oznaczanie wolnego amoniaku w produktach kosmetycznych.

2. DEFINICJA

Zawartość amoniaku w próbce wyrobu jest wyrażona w procentach masowych amoniaku.

3. ZASADA

Roztwór chlorku baru dodaje się do próbki analitycznej produktu kosmetycznego rozcieńczonej w środowisku wodno-metanolowym. Osad, który powstaje zostaje odsączony lub odwirowany. Ten sposób postępowania pozwala uniknąć strat amoniaku podczas destylacji z parą wodną, z pewnych soli amonowych, takich jak węglan lub kwaśny węglan i sole kwasów tłuszczowych, z wyjątkiem octanu amonu.

Amoniak jest oddestylowany z przesączu lub z warstwy znad osadu z wirówki z parą wodną i oznaczany miareczkowaniem potencjometrycznym lub innym.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Metanol.

4.2. Dihydrat chloru baru, roztwór 25 % (m/v).

4.3. Kwas ortoborowy, roztwór 4 % (m/v).

4.4. Kwas siarkowy, standardowy 0,25 M roztwór.

4.5. Ciecz przeciwdziałająca pienieniu.

4.6. Wodorotlenek sodu, standardowy 0,5 M roztwór.

4.7. Wskaźnik, jeśli potrzeba: zmieszać 5 ml 0,l % (m/v) etanolowego roztworu czerwieni metylowej z 2 ml 0,l % (m/v) wodnego roztworu błękitu metylenowego.

[1] Norma ISO 5725.

5. APARATURA

5.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2. Wirówka z zamykanymi 100 ml probówkami.

5.3. Aparatura do destylacji z parą wodną.

5.4. Potencjometr.

5.5. Pomiarowa elektroda szklana i elektroda odniesienia z chlorkiem rtęci (kalomelowa).

6. PROCEDURA

6.1. Odważyć do 100 ml kolby miarowej masę (m) próbki odpowiadającej najwyżej 150 mg amoniaku.

6.2. Dodać l0 ml wody, 10 ml metanolu (4.l) i 10 ml roztworu chlorku baru (4.2). Uzupełnić metanolem (4.1) do l00 ml.

6.3. Wymieszać i pozostawić na noc w lodówce (5 °C).

6.4. Następnie przesączyć lub odwirować jeszcze zimny roztwór w zamkniętych probówkach na 10 minut tak, aby otrzymać przezroczysty przesącz lub sklarowaną warstwę nad osadem.

6.5. Wprowadzić pipetą 40 ml tego przezroczystego roztworu do aparatury do destylacji z parą wodną (5.3) i następnie dodać, jeśli potrzeba, 0,5 ml cieczy przeciwdziałającej pienieniu (4.5).

6.6. Destylować i zebrać 200 ml destylatu w 250 ml zlewce zawierającej l0 ml standardowego kwasu siarkowego (4.4) i 0,1 ml wskaźnika (4.7).

6.7. Odmiareczkować nadmiar kwasu standardowym roztworem wodorotlenku sodu (4.6).

6.8. *Notabene*: W przypadku oznaczenia potencjometrycznego, zebrać 200 ml destylatu w 250 ml zlewce zawierającej 25 ml roztworu kwasu ortoborowego (4.3) i miareczkować standardowym kwasem siarkowym (4.4), zapisując krzywą neutralizacji.

7. OBLICZENIA

7.1. ***Obliczanie w przypadku odmiareczkowywania nadmiaru***

Przyjęto:

V_1 = objętość (w mililitrach) użytego roztworu wodorotlenku sodu (4.6),

M_1 = jego rzeczywiste stężenie molowe (4.6),

M_2 = oznaczone stężenie molowe roztworu kwasu siarkowego (4.4),

m = masa (w miligramach) pobranej próbki analitycznej (6.1),

zatem:

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

7.2. ***Obliczanie w przypadku bezpośredniego miareczkowania potencjometrycznego***

Przyjęto:

V_2 = objętość (w mililitrach) użytego roztworu kwasu siarkowego (4.4),

M_2 = jego rzeczywiste stężenie molowe (4.4),

m = masa (w miligramach) pobranej próbki analitycznej (6.1),

Zatem:

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

8. POWTARZALNOŚĆ ([1])

Dla zawartości amoniaku około 6 %, różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać absolutnej wartości 0,6 %.

IDENTYFIKOWANIE I OZNACZANIE NITROMETANU

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda jest odpowiednia do identyfikowania i oznaczania nitrometanu do zawartości około 0,3 % w produktach kosmetycznych w opakowaniach aerozolowych.

2. DEFINICJA

Zawartość nitrometanu w próbce wyrobu oznaczona zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych nitrometanu w stosunku do całkowitej zawartości opakowania aerozolowego.

3. ZASADA

Nitrometan jest identyfikowany w reakcji barwnej. Nitrometan jest oznaczany metodą chromatografii gazowej po dodaniu wewnętrznego standardu.

4. IDENTYFIKOWANIE

4.1. ***Odczynniki***

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1.1. Wodorotlenek sodu, 0,5 M roztwór.

4.1.2. *Odczynnik Folina*

Rozpuścić 0,1 g 3,4-dihydro-3,4-dioksonaftaleno-l-sulfonianu sodu w wodzie i rozcieńczyć do 100 ml.

4.2. ***Procedura***

Do l ml próbki dodać 10 ml z ppkt. 4.1.1 i l ml z ppkt. 4.1.2. Fioletowe zabarwienie wskazuje na obecność nitrometanu.

5. OZNACZANIE

5.1. ***Odczynniki***

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

([1]) Norma ISO 5725.

5.1.1. Chloroform (standard wewnętrzny 1).

5.1.2. 2,4-dimetyloheptan (standard wewnętrzny 2)

5.1.3. Etanol, 95 %.

5.1.4. Nitrometan.

5.1.5. *Chloroformowy roztwór odniesienia*

Do wytarowanej 25 ml kolby miarowej wprowadzić 650 mg chloroformu (5.1.1). Dokładnie zważyć ponownie kolbę i zawartość. Uzupełnić do 25 ml 95 % etanolem (5.l.3). Zważyć i obliczyć procent masowy chloroformu w tym roztworze.

5.1.6. *Roztwór odniesienia 2,4-dimetyloheptanu*

Sporządzić w podobny sposób do chloroformowego roztworu odniesienia, lecz zważyć 270 mg 2,4-dimetyloheptanu (5.l.2) w kolbie miarowej pojemności 25 ml.

5.2. ***Aparatura***

5.2.1. Chromatograf gazowy z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym.

5.2.2. Aparatura do pobierania próbek aerozoli (butelka do przenoszenia, łączniki do mikrostrzykawek itp.) jak opisano w rozdziale II załącznika do dyrektywy Komisji 80/1335/EWG z dnia 22 grudnia 1980 r. ([1])

5.2.3. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.3. ***Procedura***

5.3.1. *Przygotowanie próbki*

Do 100 ml wytarowanej butelki do przenoszenia, przepłukanej lub opróżnionej z gazów zgodnie ze sposobem postępowania opisanym w rozdziale II ppkt. 5.4 powyższej dyrektywy, wprowadzić około 5 ml jednego z roztworów standardowych (5.l.5 lub 5.l.6). Stosować szklaną strzykawkę pojemności l0 lub 20 ml, bez igły, dostosowaną do części łączących według sposobu opisanego w rozdziale II ust. 5 tej dyrektywy Komisji. Zważyć ponownie dla oznaczenia wprowadzanej ilości. Stosując ten sam sposób przenieść do tej butelki około 50 g zawartości próbki z opakowania aerozolowego. Ponownie zważyć dla określenia ilości przeniesionej próbki. Dobrze wymieszać.

Wprowadzić około 10 µl próbki stosując mikrostrzykawkę (5.2.2) Wykonać pięć wstrzyknięć próbki.

5.3.2. *Przygotowanie standardowej próby*

W 50 ml kolbie miarowej zważyć dokładnie około 500 mg nitrometanu (5.l.4) i 500 mg chloroformu (5.l.l) lub 210 mg 2,4-dimetyloheptanu (5.1.2). Uzupełnić objętość 95 % etanolem (5.1.3). Dobrze wymieszać. Umieścić 5 ml tego roztworu w 20 ml kolbie miarowej. Uzupełnić objętość 95 % etanolem (5.1.3).

Wprowadzić strzykawką około 10 µl próbki stosując mikrostrzykawkę (5.2.2). Wykonać pięć wstrzyknięć próbki.

5.3.3. *Warunki chromatografii gazowej*

5.3.3.1. Kolumna

Składa się z dwóch części, pierwszej zawierającej jako wypełnienie ftalan didecylu osadzony na Gas Chrom Q, drugiej zawierającej jako wypełnienie Ucon 50 HB 280X na Gas Chrom Q. Przygotowana połączona kolumna powinna mieć zdolność rozdzielczą „R" równą lub lepszą niż 1,5 gdzie:

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

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

przyjęto:

r_1 i r_2 = czasy retencji (w minutach),

W_1 i W_2 = szerokość pików w połowie wysokości (w milimetrach),

d' = szybkość przesuwu papieru (w milimetrach/minutę).

Jako przykład uzyskano wymaganą rozdzielczość na kolumnie zawierającej następujące dwie części:

Kolumna A:

Materiał: stal nierdzewna.
Długość: 1,5 m.
Średnica: 3 mm.
Wypełnienie: 20 % ftalan didecylu na Gas Chrom Q (l00–120 oczek).

Kolumna B:

Materiał: stal nierdzewna.
Długość: 1,5 m.
Średnica: 3 mm.
Wypełnienie: 20 % Ucon 50 HB 280X na nośniku Gas Chrom Q (100–l20 oczek).

5.3.3.2 Detektor

Odpowiedni poziom czułości dla elektrometru detektora płomieniowo-jonizacyjnego wynosi 8 x 10^{-10}A.

5.3.3.3. Warunki temperaturowe.

Stwierdzono, że odpowiednie są następujące warunki:

Otwór wlotowy dozownika: 150 °C,
Detektor: 150 °C,
Kolumna: między 50 i 80 °C zależnie od pojedynczych kolumn i aparatu.

5.3.3.4. Odpowiednie zasilanie gazem

Gaz nośny: azot.

Ciśnienie: 2,l bara.
Przepływ: 40 ml/min.
Zasilanie detektora: według wskazówek producenta detektora.

6. OBLICZENIA

6.1. ***Współczynnik reakcji nitrometanu, obliczony w stosunku do użytego wewnętrznego standardu***

Jeżeli „n" oznacza nitrometan:

przyjęto:

k_n = jego współczynnik reakcji,

m'_n = jego masa (w gramach) w mieszaninie,

S'_n = powierzchnia jego piku.

Jeśli „c" oznacza standard wewnętrzny, chloroform lub 2,4-dimetyloheptan:

przyjęto:

m'_c = jego masa (w gramach) w mieszaninie,

S'_c = powierzchnia jego piku,

zatem**:**

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

(k_n zależy od rodzaju aparatury).

6.2. ***Stężenie nitrometanu w próbce***

Jeśli „n" oznacza nitrometan:

przyjęto:

k_n = jego współczynnik reakcji,

S_n = powierzchnia jego piku.

Jeśli „c" oznacza wewnętrzny standard, chloroform lub 2,4-dimetyloheptan:

przyjęto:

m_c = jego masa (w gramach) w mieszaninie,

S_c = powierzchnia jego piku,

M = masa (w gramach) przeniesionej próbki aerozolu,

zatem zawartość nitrometanu w próbce wynosi:

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

7. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości nitrometanu około 0,3 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,03 % (m/m).

IDENTYFIKOWANIE I OZNACZANIE KWASU MERKAPTOOCTOWEGO W ŚRODKACH DO TRWAŁEJ ONDULACJI, PROSTOWANIA WŁOSÓW I DEPILOWANIA

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Celem metody jest identyfikowanie i oznaczanie kwasu merkaptooctowego w środkach do trwałej ondulacji, prostowania włosów i depilowania, w których mogą się znajdować inne środki redukujące.

2. DEFINICJA

Zawartość kwasu merkaptooctowego oznaczona zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych kwasu merkaptooctowego.

3. ZASADA

Kwas merkaptooctowy identyfikuje się w testach kroplowych i metodą chromatografii cienkowarstwowej i oznacza jodometrycznie lub metodą chromatografii gazowej.

4. IDENTYFIKOWANIE

4.1. ***Identyfikowanie w testach kroplowych***

4.1.1. *Odczynniki*

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1.1.1. Bibuła z dioctanem ołowiu.

4.1.1.2. Roztwór kwasu solnego (jedna objętość stężonego kwasu solnego i jedna objętość wody).

4.1.2. *Procedura*

4.1.2.1. Identyfikowanie kwasu merkaptooctowego przez barwną reakcję z dioctanem ołowiu (II)

Umieścić kroplę analizowanej próbki na bibule z dioctanem ołowiu (II) (4.1.1.1). Jeśli pojawi się intensywny żółty kolor, oznacza to, że kwas merkaptooctowy jest prawdopodobnie obecny.

Czułość: 0,5 %.

4.1.2.2. Wykrywanie siarczków nieorganicznych w reakcji wydzielania siarkowodoru podczas zakwaszania próbki

Wprowadzić do probówki kilka miligramów badanej próbki. Dodać 2 ml wody destylowanej i 1 ml kwasu solnego (4.1.1.2). Wydziela się siarkowodór, rozpoznawalny po zapachu i czarny osad siarczku ołowiu powstaje na bibule z dioctanem ołowiu (II) (4.1.1.1).

[1] Norma ISO 5725.

Czułość: 50 ppm.

4.1.2.3. Wykrywanie siarczynów w reakcji powstawania ditlenku siarki po zakwaszeniu próbki

Postępować według opisu w ppkt. 4.1.2.2. Doprowadzić do wrzenia. Ditlenek siarki jest rozpoznawalny po zapachu i dzięki własnościom redukującym, na przykład wobec jonów nadmanganianowych.

4.2. ***Identyfikowanie przez chromatografię cienkowarstwową***

4.2.1. *Odczynniki*

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.2.1.1. Kwas merkaptooctowy (kwas tioglikolowy), o czystości, co najmniej 98 % oznaczonej jodometrycznie.

4.2.1.2. Kwas 2,2'-ditiodi(octowy), o czystości, co najmniej 99 % oznaczonej jodometrycznie.

4.2.1.3. Kwas 2-merkaptopropionowy (kwas tiomlekowy), o czystości co najmniej 95 % oznaczonej jodometrycznie.

4.2.1.4. Kwas 3-merkaptopropionowy, o czystości, co najmniej 98 % oznaczonej jodometrycznie.

4.2.1.5. 3-merkaptopropano-l,2-diol (1-tioglicerol), o czystości co najmniej 98 % oznaczonej jodometrycznie.

4.2.1.6. Płytki cienkowarstwowe z żelem krzemionkowym, przygotowane fabrycznie o grubości 0,25 mm.

4.2.1.7. Płytki cienkowarstwowe, z tlenkiem glinu, Merck F 254 E lub równoważne.

42.1.8. Stężony kwas solny, d_4^{20} = 1,19 g/ml.

4.2.1.9. Octan etylu.

4.2.1.10. Chloroform.

4.2.1.11. Eter diizopropylowy.

4.2.1.12. Czterochlorek węgla.

4.2.1.13. Kwas octowy lodowaty.

4.2.1.14. Jodek potasu, l % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.15. Chlorek platyny (IV), 0,l % (m/v), roztwór wodny.

4.2.1.16. Rozpuszczalniki wymywające

4.2.1.16.1. Octan etylu (4.2.1.9), chloroform (4.2.1.10), eter diizopropylowy (4.2.1.11), kwas octowy (4.2.1.13) (20:20:10:10 objętościowo).

4.2.1.16.2. Chloroform (4.2.1.10), kwas octowy (4.2.1.13) (90:20 objętościowo).

4.2.1.17. Odczynniki wywołujące

4.2.1.17.1. Wymieszać bezpośrednio przed użyciem jednakowe objętości roztworu (4.2.l.14) i roztworu (4.2.1.15).

4.2.1.17.2. Roztwór bromu: 5 % (m/v): Rozpuścić 5 g bromu w 100 ml czterochlorku węgla (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Roztwór fluoresceiny: 0,1 % (m/v): Rozpuścić l00 mg fluoresceiny w 100 ml etanolu.

4.2.1.17.4. Heptamolibdenian (VI) heksaamonu, 10 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.18. Roztwory odniesienia

4.2.1.18.1. Kwas merkaptooctowy (4.2.1.1), 0,4 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.18.2. Kwas 2,2'-ditiodi(octowy) (4.2.1.2), 0,4 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.18.3. Kwas 2-merkaptopropionowy (4.2.1.3), 0,4 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.18.4. Kwas 3-merkaptopropionowy (4.2.l.4), 0,4 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.1.18.5. 3-merkaptopropano-l,2-diol (4.2.1.5), 0,4 % (m/v) roztwór wodny.

4.2.2. *Aparatura*

Zwykła aparatura do chromatografii cienkowarstwowej.

4.2.3. *Procedura*

4.2.3.1. Postępowanie z próbkami

Zakwasić do pH = l kilkoma kroplami kwasu solnego (4.2.l.8) i przesączyć jeśli to konieczne.

W niektórych przypadkach rozcieńczenie próbki mogą być pożądane. Jeśli tak, to przed rozcieńczeniem zakwasić próbkę kwasem solnym.

4.2.3.2. Rozwijanie chromatogramu (eluowanie)

Umieścić na płytce l µl roztworu próbki (4.2.3.l) i po l µl każdego z pięciu roztworów odniesienia (4.2.1.18). Wysuszyć starannie w łagodnym strumieniu azotu i eluować płytki rozpuszczalnikami (4.2.1.16.1 lub 4.2.l.16.2). Wysuszyć płytkę możliwie najszybciej, aby uniknąć utleniania tioli.

4.2.3.3. Wykrywanie

Spryskać płytkę jednym z trzech reagentów (4.2.l.17.l, 4.2.1.17.3 lub 4.2.l.17.4). Jeśli płytkę spryskano odczynnikiem (4.2.1.17.3), należy następnie poddać ją działaniu pary bromu (na przykład w komorze zawierającej małą zlewkę odczynnika (4.2.l.17.2) do chwili, w której plamy staną się widoczne. Wykrywanie przez spryskanie odczynnikiem (4.2.l.17.4) będzie zadawalające tylko wtedy, jeśli czas suszenia cienkiej warstwy nie przekroczy 30 minut.

4.2.3.4. Interpretacja

Porównać wartości Rf i kolory roztworów odniesienia z odpowiednimi wartościami dla roztworów standardowych. Średnie wartości Rf podane poniżej jako ogólna wskazówka mają tylko wartość porównawczą. Zależą one od:

— stanu aktywowania cienkiej warstwy w czasie analizy chromatograficznej,

— temperatury komory chromatograficznej.

Przykładowe wartości Rf otrzymane na płytce z warstwą żelu krzemionkowego

	Roztwory rozwijające	
	4.2.1.16.1	4.2.16.2
Kwas merkaptooctowy	0,25	0,80
Kwas 2-merkaptopropionowy	0,40	0,95
Kwas 2,2'-ditiodi(octowy)	0,00	0,35
Kwas3-merkaptopropionowy	0,45	0,95
3-merkaptopropano-1,2-diol	0,45	0,35

5. OZNACZANIE (patrz Notabene)

Oznaczenie kwasu merkaptooctowego musi być wykonane z nieużywanego wyrobu ze świeżo otwartego opakowania w celu zapobieżenia utlenianiu.

5.1. ***Jodometria***

5.1.1. *Zasada*

Oznaczanie jest wykonywane przez utlenianie grupy„-SH" jodem w środowisku kwaśnym, zgodnie z równaniem:

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

5.1.2. *Odczynniki*

Jod, 0,05 M roztwór standardowy.

Notabene: Oznaczanie powinno się zawsze rozpocząć od metody jodometrycznej (jodometrii).

5.1.3. *Aparatura*

Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.1.4. *Procedura*

Odważyć dokładnie ilość próbki między 0,5 i 1 g w 150 ml kolbie stożkowej zamykanej korkiem zawierającej 50 ml wody destylowanej. Dodać 5 ml kwasu solnego (4.l.l.2) (pH roztworu około 0) i miareczkować roztworem jodu (5.l.2) aż do pojawienia się żółtego koloru. Jeśli trzeba użyć wskaźnika, to na przykład roztworu skrobi lub czterochlorku węgla.

5.1.5. *Obliczenie*

Zawartość kwasu merkaptooctowego oblicza się zgodnie ze wzorem:

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

gdzie:

m = masa (w gramach) próbki analitycznej,

n = objętość użytego roztworu jodu (5.1.2).

5.1.6. *Uwagi*

Jeśli wynik obliczony jako zawartość kwasu merkaptooctowego wynosi 0,1 % lub znacznie poniżej dozwolonego maksymalnego stężenia, nie ma żadnego powodu dla przeprowadzania następnego oznaczania. Jeśli wynik jest równy lub wyższy od dozwolonego maksymalnego stężenia i identyfikowanie ujawniło obecność kilku środków redukujących, konieczne jest wykonanie oznaczenia metodą chromatografii gazowej.

5.2. ***Chromatografia gazowa***

5.2.1. *Zasada*

Kwas merkaptooctowy zostaje wydzielony ze środowiska próbki przez wytrącanie roztworem dioctanu kadmu. Po metylowaniu diazometanem, przygotowanym *in situ* lub lepiej w roztworze eteru dietylowego, pochodna metylowa kwasu merkaptooctowego jest oznaczana chromatografią gazową/cieczową z użyciem kaprylanu metylu jako wewnętrznego standardu.

5.2.2. *Odczynniki*

Wszystkie odczynniki muszą być czystości analitycznej.

5.2.2.1. Kwas merkaptooctowy, 98 %.

5.2.2.2. Kwas solny, d_4^{20} = 1,19 g/ml.

5.2.2.3. Metanol.

5.2.2.4. Dihydrat dioctanu kadmu (II), 10 % (m/v) roztwór wodny.

5.2.2.5. Kaprylan metylu, 2 % (m/v) roztwór w metanolu.

5.2.2.6. Octanowy roztwór buforowy (pH = 5):

Trihydrat: octanu sodu, 77 g.

Kwas octowy lodowaty, 27,5 g.

Woda demineralizowana do otrzymania końcowej objętości jednego litra.

5.2.2.7. Kwas solny, 3 M roztwór w metanolu (5.2.2.3), świeżo przygotowany.

5.2.2.8. l-metylo-3-nitro-l-nitrozoguanidyna.

5.2.2.9. Wodorotlenek sodu, roztwór 5 M.

5.2.2.10 Jod, 0,05 M roztwór standardowy.

5.2.2.11. Eter dietylowy.

5.2.2.12. Roztwór diazometanu przygotowany z N-metylo-N-nitrozo-4-tolulenosulfonoamidu (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)

Otrzymany roztwór zawiera około 1,5 g diazometanu w 100 ml eteru dietylowego. Ponieważ diazometan jest gazem toksycznym i bardzo nietrwałym, wszystkie doświadczenia muszą być prowadzone pod sprawnie działającym wyciągiem i należy unikać stosowania aparatury szklanej z połączeniami szlifowymi (istnieją specjalne zestawy przeznaczone do posługiwania się diazometanem).

5.2.3. *Aparatura*

5.2.3.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2.3.2. Aparatura do przygotowania diazometanu do metylowania *in situ* (patrz: Fales H.M., Jaouni T.M., Babashak J.F., Analyt. Chem., 1973, 45, 2302).

5.2.3.3. Aparatura do ulepszonego przygotowania diazometanu (Fieser).

5.2.4. *Przygotowanie próbki*

Zważyć dokładnie w 50 ml probówce wirówki wystarczającą ilość próbki, aby otrzymać przypuszczalną ilość 50–70 mg kwasu merkaptooctowego. Dodać kilka kropel kwasu solnego (5.2.2.2) do otrzymania pH około 3.

Dodać 5 ml demineralizowanej wody i l0 ml roztworu buforu octanowego (5.2.2.6).

Sprawdzić papierkiem wskaźnikowym czy pH wynosi około 5. Następnie dodać 5 ml roztworu dioctanu kadmu (5.2.2.4).

Poczekać 10 minut i następnie odwirować w ciągu co najmniej 15 minut przy 4 000 obrotach/min. Usunąć pływającą na wierzchu ciecz, która może zawierać nierozpuszczalny tłuszcz (w przypadku kremów). Tłuszcz ten nie powinien być zmieszany z tiolami, które zbierają się w zgęszczonej masie na dnie probówki. Sprawdzić, czy nie wytrąca się żaden osad po dodaniu kilku kropel roztworu octanu kadmu (II) (5.2.2.4) do warstwy powierzchniowej.

Jeśli wcześniej podczas identyfikowania nie stwierdzono żadnych czynników redukujących innych niż tiole, należy sprawdzić metodą jodometryczną czy zawartość tiolu obecnego w warstwie powierzchniowej nie przekracza 6–8 % jego początkowej ilości.

Wprowadzić 10 ml metanolu (5.2.2.3) do probówki wirówki zawierającej osad i starannie rozproszyć osad mieszając. Odwirować ponownie w ciągu co najmniej 15 minut przy 4 000 obrotach/min. Zlać ciecz pływającą na wierzchu i sprawdzić obecność/nieobecność tioli.

Przemywać osad po raz drugi postępując w ten sam sposób.

Używając stale tę samą probówkę wirówki, dodać:

— 2 ml roztworu kaprylanu metylu (5.2.2.5),

— 5 ml kwasu solnego w metanolu (5.2.2.7).

Całkowicie rozpuścić tiole (niewielka ilość nierozpuszczonej substancji może pozostać z domieszek). Jest to roztwór „S".

Pobrać część tego roztworu, aby potwierdzić jodometrycznie, że zawartość tioli stanowi co najmniej 90 % zawartości otrzymanej w ppkt. 5.1.

5.2.5. *Metylowanie*

Metylowanie prowadzone jest albo metodą *in situ* (5.2.5.l) lub za pomocą wcześniej przygotowanego roztworu diazometanu (5.2.5.2).

5.2.5.1. Metylowanie *in situ*

Do aparatu do metylowania (5.2.3.2) zawierającego l ml eteru (5.2.2.11) wprowadzić 50 µl roztworu „S" i metylować metodą (5.2.3.2) z dodatkiem około 300 mg l-metylo-3-nitro-l-nitrozoguanidyny (5.2.2.8). Po 15 minutach (roztwór eterowy powinien być żółty, co wskazuje na nadmiar diazometanu) przenieść próbkę roztworu do 2 ml butelki z hermetycznym korkiem. Umieścić w lodówce do następnego dnia. Metylować równocześnie dwie próbki.

5.2.5.2. Metylowanie przygotowanym wcześniej roztworem diazometanu

Do 5 ml kolby z korkiem wprowadzić l ml roztworu diazometanu (5.2.2.12), następnie 50 ul roztworu „S". Pozostawić w lodówce do następnego dnia.

5.2.6. *Przygotowanie roztworu standardowego*

Przygotować standardowy roztwór kwasu merkaptooctowego (5.2.2.l) o znanym stężeniu zawierający około 60 mg czystego kwasu merkaptooctowego (5.2.2.l) w 2 ml.

Jest to roztwór „E".

Wytrącić osad, zanalizować i metylować tak jak opisano w ppkt. 5.2.4 i 5.2.5.

5.2.7. *Warunki chromatografii gazowej*

5.2.7.1. Kolumna

Typ: stal nierdzewna.

Długość: 2 m.

Średnica: 3 mm.

5.2.7.2. Wypełnienie

20 % ftalan didecylu/chromosorb WAW 80–100 oczek.

5.2.7.3. Detektor

Detektor płomieniowo-jonizacyjny. Odpowiednia czułość ustalona dla elektrometru detektora płomieniowo-jonizacyjnego wynosi $8 \times l0^{-10}$A.

5.2.7.4. Zasilanie gazami

Gaz nośny: azot.

ciśnienie: 2,2 bara,

przepływ: 35 ml/min.

Gaz pomocniczy: wodór.

ciśnienie: 1,8 bara,

przepływ: 15 ml/min.

Zasilanie detektora: podane przez producenta aparatu.

5.2.7.5. Warunki temperaturowe

Dozownik: 200 °C

Detektor: 200 ºC

Kolumna: 90 °C

5.2.7.6. Szybkość przesuwu papieru rejestratora

5 mm/min.

5.2.7.7. Wprowadzana ilość próbki

3 µl, wykonać 5 powtórzeń wprowadzania próbki.

5.2.7.8. Warunki chromatografii gazowej są podane orientacyjnie. Pozwalają one na uzyskanie rozdzielczości „R" równej lub wyższej od l,5, gdzie:

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

przyjęto:

r_1 i r_2 = czasy retencji (w minutach),

W_1 i W_2 = szerokość pików w połowie wysokości (w milimetrach),

d' = szybkość przesuwu papieru (w milimetrach na minutę).

Poleca się stosowanie programu wzrostu temperatury przez jej regulację w zakresie od 90–150 °C z szybkością 10 °C na minutę tak, aby wyeliminować substancje, które mogą przeszkadzać w kolejnych pomiarach.

5.2.8. *Obliczenia*

5.2.8.1. Współczynnik korekcyjny kwasu merkaptooctowego

Jest on obliczany w stosunku do kaprylanu metylu na podstawie mieszaniny standardowej.

Jeśli „t” oznacza kwas merkaptooctowy:

przyjęto:

k_t = jego współczynnik reakcji,

m'_t = jego masa (w miligramach) w mieszaninie,

S'_t = powierzchnia jego piku.

Jeśli „c” oznacza kaprylan metylu:

przyjęto:

m'_c = jego masa (w miligramach) w mieszaninie,

S'_c = powierzchnia jego piku,

zatem:

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

Współczynnik ten zmienia się zależnie od stosowanej aparatury.

5.2.8.2. Zawartość kwasu merkaptooctowego obecnego w próbce

Jeśli „t” oznacza kwas merkaptooctowy:

przyjęto:

k_t = jego współczynnik reakcji,

S_t = jego powierzchnia piku.

Jeśli „c” oznacza kaprylan metylu:

przyjęto:

m_c = masa kaprylanu metylu (w miligramach) w mieszaninie,

S_c = powierzchnia jego piku,

M = masa (w miligramach) początkowej próbki analitycznej,

zatem zawartość kwasu merkaptooctowego obecnego w próbce wynosi:

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

6. POWTARZALNOŚĆ ([1])

Dla zawartości kwasu merkaptooctowego 8 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać absolutnej wartości 0,8 % (m/m).

IDENTYFIKOWANIE I OZNACZANIE HEKSACHLOROFENU

A. IDENTYFIKOWANIE

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda właściwa do badań wszystkich produktów kosmetycznych.

2. ZASADA

Heksachlorofen w próbce wyrobu jest ekstrahowany octanem etylu i identyfikowany metodą chromatografii cienkowarstwowej.

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

3.1. Kwas siarkowy, roztwór 4 M.

3.2. Celit AW.

3.3. Octan etylu.

([1]) Norma ISO 5725.

3.4. Rozpuszczalnik rozwijający: benzen zawierający 1 % (v/v) kwasu octowego lodowatego.

3.5. Środek wywołujący I:

Roztwór rodaminy B: rozpuścić 100 mg rodaminy B w mieszaninie 150 eteru dietylowego, 70 ml absolutnego etanolu i 16 ml wody.

3.6. Środek wywołujący II:

Roztwór 2,6-dibromo-4-(chloroimino) cykloheksa-2,5-dienonu: rozpuścić 400 mg 2,6-dibromo-4-(chloroimino) cykloheksa-2,5-dienonu w 100 ml metanolu (przygotować codziennie świeży roztwór).

Roztwór węglanu sodu: rozpuścić l0 g węglanu sodu w 100 ml demineralizowanej wody.

3.7. Roztwór odniesienia:

Heksachlorofen, 0,05 % (m/v), roztwór w octanie etylu.

4. APARATURA

4.1. Płytki z żelem krzemionkowym Kiesel gel 254 TLC, 200 × 200 mm (lub równoważne).

4.2. Zwykły sprzęt do chromatografii cienkowarstwowej.

4.3. Łaźnia termostatowana w 26 °C do utrzymywania komory chromatograficznej w stałej temperaturze.

5. PRZYGOTOWANIE PRÓBKI DO BADAŃ

5.1. Starannie wymieszać l g homogenizowanej próbki z l g Celit AW (3.2) i l ml kwasu siarkowego (3.l).

5.2. Suszyć w 100 °C przez dwie godziny.

5.3. Schłodzić i dokładnie sproszkować wysuszoną pozostałość.

5.4. Ekstrahować dwukrotnie 10 ml octanu etylu (3.3) odwirowując po każdej ekstrakcji i połączyć warstwy octanu etylu.

5.5. Odparować w 60 °C.

5.6. Rozpuścić pozostałość w 2 ml octanu etylu (3.3).

6. PROCEDURA

6.1. Nanieść 2 µl roztworu próbki analitycznej (5.6) i 2 ul roztworu odniesienia (3.7) na płytkę do chromatografii cienkowarstwowej (4.1).

6.2. Nasycić komorę (4.3) rozpuszczalnikiem rozwijającym (3.4).

6.3. Umieścić płytkę chromatograficzną w komorze i rozwijać do wysokości l50 mm.

6.4. Wyjąć płytkę chromatograficzną i wysuszyć w wentylowanej suszarce w temperaturze około 105 °C.

6.5. *Wywoływanie*

Plamy heksachlorofenu na płytce cienkowarstwowej wywołuje się według opisu w ppkt. 6.5.l lub 6.5.2.

6.5.1. Spryskać płytkę równomiernie roztworem wywołującym I (3.5). Po 30 minutach oceniać płytkę w świetle UV przy 254 nm.

6.5.2. Spryskać płytkę środkiem wywołującym II roztworem 2,6-dibromo-4-(chloroimino)cykloheksa-2,5-dienonu (3.6). Następnie spryskać płytkę roztworem węglanu sodu (3.6). Oceniać płytkę w świetle dziennym po 10 minutach suszenia w temperaturze pokojowej.

7. INTERPRETACJA

7.1. Środek wywołujący I (3.5):

Heksachlorofen pojawia się jako niebieskawa plama na żółto-pomarańczowym tle i ma współczynnik Rf w przybliżeniu 0,5.

7.2. Środek wywołujący II (3.6):

Heksachlorofen pojawia się jako plama szafirowo-turkusowa na białym tle i ma współczynnik Rf w przybliżeniu 0,5.

B. OZNACZANIE

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda może być stosowana do badania wszystkich produktów kosmetycznych.

2. DEFINICJA

Zawartość heksachlorofenu w próbce wyrobu oznaczona zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych heksachlorofenu.

3. ZASADA

Heksachlorofen jest oznaczany po przeprowadzeniu w pochodną metylową metodą chromatografii gazowej z detektorem wychwytu elektronów.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Octan etylu.

4.2. N-metylo-N-nitrozo-4-toluenosulfonoamid (diazald).

4.3. Eter dietylowy.

4.4. Metanol.

4.5. 2-(2-etoksyetoksy)etanol, (karbitol).

4.6. Kwas mrówkowy.

4.7. Wodorotlenek potasu, 50 % (m/m) roztwór wodny (przygotowany świeżo każdego dnia).

4.8. Heksan do spektroskopii.

4.9. Bromochlorofen (substancja standardowa nr l).

4.10. 4,4',6,6'-tetrachloro-2,2'-tiodifenol (substancja standardowa nr 2).

4.11. Eter 2,4,4'-trichloro-2-hydroksydifenylowy (substancja standardowa nr 3)

4.12. Aceton.

4.13. 4 M kwas siarkowy.

4.14. Celit AW.

4.15. Roztwór kwasu mrówkowego/octanu etylu, 10 % (v/v).

4.16. Heksachlorofen.

5. APARATURA

5.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2. Miniaparat do otrzymywania diazometanu (Analyt. Chem., 1973, 45, 2302-2).

5.3. Chromatograf gazowy wyposażony w detektor wychwytowy elektronów ze źródłem 63 Ni.

6. PROCEDURA

6.1. ***Przygotowanie roztworu standardowego***

Wybiera się taką substancję standardową, która nie koliduje z żadnym składnikiem zawartym w składzie analizowanego produktu. Zwykle substancja standardowa nr l jest najodpowiedniejsza (4.9).

6.1.1. Odważyć dokładnie około 50 mg substancji standardowej nr l, 2 lub 3 (4.9, 4.10 lub 4.11) i 50 mg heksachlorofenu (4.16) do 100 ml kolby miarowej. Uzupełnić objętość do kreski octanem etylu (4.l) (roztwór A). Rozcieńczyć 10 ml roztworu A do 100 ml octanem etylu (4.l) (roztwór B).

6.1.2. Odważyć dokładnie około 50 mg substancji standardowej nr 1, 2 lub 3 (4.9, 4.10 lub 4.11) do 100 ml kolby miarowej. Uzupełnić objętość do kreski octanem etylu (4.l) (roztwór C).

6.2. ***Przygotowanie próbki*** [1]

Odważyć dokładnie l g ujednoliconej próbki i wymieszać starannie z l ml kwasu siarkowego (4.13), 15 ml acetonu (4.12) i 8 g Celitu AW (4.14). Suszyć mieszaninę na powietrzu w ciągu 30 minut na łaźni parowej, następnie suszyć w ciągu półtorej godziny w suszarce z przepływem powietrza. Schłodzić, rozetrzeć pozostałość na proszek i nanieść na szklaną kolumnę. Eluować octanem etylu (4.l) i zebrać 100 ml. Dodać 2 ml roztworu wewnętrznego standardu (roztwór C) (6.l.2).

[1] Ze względu na szeroką gamę produktów kosmetycznych, w których może znajdować się heksachlorofen, ważną rzeczą jest sprawdzenie odzyskiwania heksachlorofenu z próbki według powyższej procedury przed zarejestrowaniem wyników. Jeśli odzyskiwane są niewielkie ilości, to modyfikacje takie jak zmiana rozpuszczalnika (benzen zamiast octanu etylu) itp. mogłyby być wprowadzone za zgodą zainteresowanych stron.

6.3. ***Metylowanie próbki***

Schłodzić wszystkie odczynniki oraz aparaturę do temperatury między 0 i 4 °C na dwie godziny. W zewnętrznej komorze aparatury do diazometanu umieścić l,2 ml roztworu otrzymanego w ppkt. 6.2 i 0,1 ml metanolu (4.4). W centralnym zbiorniku umieścić około 200 mg diazaldu (4.2), dodać l ml karbitolu (4.5) i l ml eteru dietylowego (4.3) i rozpuścić. Złożyć aparaturę, w połowie zanurzyć aparaturę w łaźni o temperaturze 0 °C i wprowadzić strzykawką około l ml schłodzonego roztworu wodorotlenku sodowego (4.7) do centralnego zbiornika. Upewnić się, że żółty kolor powstały przy tworzeniu się diazometanu jest trwały. Jeśli żółty kolor nie jest trwały, należy powtórzyć metylowanie dodając następną porcję 200 mg diazaldu (4.2) ([1])

Aparaturę usuwa się z łaźni po 15 minutach i następnie pozostawia zamkniętą w temperaturze otoczenia przez 12 godzin. Otworzyć aparaturę, związać nadmiar diazometanu dodając kilka kropli 10 % (v/v) roztworu kwasu mrówkowego w octanie etylu (4.15) i przenieść roztwór organiczny do 25 ml kolby miarowej. Uzupełnić objętość heksanem (4.8) do kreski.

Wprowadzić strzykawką 1,5 µl tego roztworu do chromatografu.

6.4. ***Metylowanie próbki standardowej***

Schłodzić wszystkie odczynniki oraz aparaturę do temperatury między 0 i 4 °C na dwie godziny. W zewnętrznej komorze aparatury do diazometanu umieścić:

0,2 ml roztworu B (6.l.l),
l ml octanu etylu (4.l),
0, l ml metanolu (4.4).

Prowadzić metylowanie tak jak opisano w ppkt. 6.3. Wprowadzić strzykawką 1,5 µl otrzymanego roztworu do chromatografu.

7. CHROMATOGRAFIA GAZOWA

Kolumna musi zapewnić zdolność rozdzielczą „R" równą lub lepszą niż 1,5, gdzie:

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

przyjęto:

r_1 i r_2 = czasy retencji (w minutach),

W_1 i W_2 = szerokość pików w połowie wysokości (w milimetrach),

d' = szybkość przesuwu papieru (w milimetrach na minutę).

Następujące warunki chromatografii gazowej uznano za odpowiednie:

Kolumna: stal nierdzewna.

Długość: l,7 m.

Średnica: 3 mm.

Nośnik:
chromosorb: WAW
analiza sitowa: 80–120 oczek.

Faza stacjonarna: 10 % OV 17.

Temperatury:
kolumna: 280 °C,
dozownik: 280 °C,
detektor: 280 °C.

Gaz nośny: azot wolny od tlenu.

Ciśnienie: 2,3 bara.

Przepływ: 30 ml/min.

([1]) Trwałość żółtego koloru wskazuje na nadmiar diazometanu, który jest niezbędny do zapewnienia całkowitego zmetylowania próbki.

8. OBLICZENIE

8.1. ***Współczynnik reakcji heksachlorofenu***

Jest on obliczany w odniesieniu do wybranej substancji standardowej w stosunku do standardowej mieszaniny.

Przyjęto:

h = heksachlorofen,

k_h = jego współczynnik reakcji,

m'_h = jego masa (w gramach) w mieszaninie,

A'_h = powierzchnia jego piku,

s = wybrana substancja standardowa,

m'_s = jej masa (w gramach) w mieszaninie,

A'_s = powierzchnia jej piku,

zatem:

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

8.2. ***Ilość heksachlorofenu w próbce***

Przyjęto:

h = heksachlorofen,

k_h = jego współczynnik reakcji,

A_h = powierzchnia jego piku,

s = wybrana substancja standardowa,

m_s = jego masa (w gramach) w mieszaninie,

A_s = powierzchnia jego piku,

M = masa (w gramach) pobranej próbki,

zatem % (m/m) heksachlorofenu w próbce wynosi:

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

9. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości heksachlorofenu 0,1 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać absolutnej wartości 0,005 % (m/m).

ILOŚCIOWE OZNACZANIE SOLI SODOWEJ N-CHLORO-4-TOLUENOSULFONOAMIDU (CHLORAMINA-T)

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Celem metody jest ilościowe oznaczanie chromatografią cienkowarstwową soli sodowej N-chloro-4-toluenosulfonoamidu (chloramina-T) w produktach kosmetycznych.

[1] Norma ISO 5725.

2. DEFINICJA

Zawartość chloraminy-T w próbce wyrobu oznaczona zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych (m/m).

3. ZASADA

Chloramina-T ulega całkowitej hydrolizie do 4-toluenosulfonoamidu przez ogrzewanie do wrzenia z kwasem solnym.

Ilość powstałego 4-toluenosulfonoamidu jest oznaczana foto-densytometrycznie przez chromatografię cienkowarstwową.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Sól sodowa N-chloro-4-toluenosulfonoamid (chloramina-T).

4.2. Standardowy roztwór 4-toluenosulfonoamidu: 50 mg 4-toluenosulfonoamidu w 100 ml etanolu (4.5).

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

4.4. Eter dietylowy.

4.5. Etanol, 96 % (v/v).

4.6. ***Roztwór rozwijający***

4.6.1. Butanol-l/etanol (4.5)/woda (40:4:9, v/v/v) lub

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

4.7. Przygotowane fabrycznie płytki do chromatografii cienkowarstwowej, żel krzemionkowy 60, bez wskaźnika fluorescencyjnego.

4.8. Nadmanganian potasu.

4.9. Kwas solny, 15 % (m/m).

4.10. Odczynnik wywołujący: 2-toluidyna, 1 % (m/v) roztwór etanolu (4.5).

5. APARATURA

5.1. Zwykła aparatura laboratoryjna.

5.2. Zwykły sprzęt do chromatografii cienkowarstwowej.

5.3. Fotodensytometr.

6. PROCEDURA

6.1. ***Hydroliza***

Odważyć dokładnie w 50 ml okrągłodennej kolbie około l g próbki (m). Dodać 5 ml wody i 5 ml kwasu solnego (4.3) i ogrzewać do wrzenia przez jedną godzinę, stosując chłodnicę zwrotną. Bezzwłocznie przenieść gorącą suspensję z wodą do 50 ml kolby miarowej. Pozostawić do schłodzenia i uzupełnić do kreski wodą. Odwirowywać, przy co najmniej 3 000 obrotów/min przez pięć minut i przefiltrować ciecz pływającą na wierzchu.

6.2. ***Ekstrakcja***

6.2.1. Pobrać 30 ml przesączu i ekstrahować trzykrotnie po 15 ml eteru dietylowego (4.4). Jeśli to konieczne wysuszyć warstwy eterowe i połączyć je w 50 ml kolbie miarowej. Uzupełnić eterem dietylowym (4.4).

6.2.2. Pobrać 25 ml wysuszonego ekstraktu eterowego i odparować do sucha w strumieniu azotu. Ponownie rozpuścić pozostałość w 1 ml etanolu (4.5).

6.3. ***Chromatografia cienkowarstwowa***

6.3.1. Nanieść 20 µl pozostałości etanolowej (6.2) na płytkę do chromatografii cienkowarstwowej (4.7).

W tym samym czasie i w ten sam sposób nanieść po 8, 12, 16 i 20 µl standardowego roztworu 4-toluenosulfonoamidu (4.2).

6.3.2. Następnie rozwijać w przybliżeniu na wysokość 150 mm w roztworze rozwijającym (4.6.l lub 4.6.2).

6.3.3. Po całkowitym odparowaniu rozpuszczalnika rozwijającego, umieścić płytkę na dwie lub trzy minuty w atmosferze pary chloru, utworzonych przez nalanie około 100 ml kwasu solnego (4.9) na około 2 g nadmanganianu potasu (4.8) w zamkniętym naczyniu. Usunąć nadmiar chloru przez ogrzewanie płytki do 100 °C w ciągu pięciu minut. Następnie spryskać płytkę odczynnikiem wywołującym (4.10).

6.4. ***Pomiar***

Po około jednej godzinie zmierzyć fioletowe plamy z pomocą fotodensytometru przy 525 nm.

6.5. ***Wykreślanie krzywych kalibracji***

Wykreślić maksymalne wartości wysokości pików ustalone dla czterech plam 4-toluenosulfonoamidu w porównaniu z odpowiednimi ilościami 4-toluenosulfonoamidu (to jest 4, 6, 8, l0 µg 4-toluenosulfonoamidu na plamę).

7. UWAGA

Metodę można sprawdzić stosując roztwór 0,1 do 0,2 % (m/v) chloraminy-T poddany takiemu samemu postępowaniu jak próbka (6).

8. OBLICZENIE

Zawartość chloraminy-T w próbce wyrażona w procentach masowych jest obliczona następująco:

$$\% \text{ (m/m) soli sodowej N-chloro-4-toluenosulfonoamidu} == \frac{1{,}33 \times a}{60 \times m},$$

gdzie:

1,33 = współczynnik konwersji (przemiany) 4-toluenosulfonoamidu (chloraminy-T),

a = ilość (w ug) 4-toluenosulfonoamidu w próbce odczytana z krzywej kalibracyjnej,

m = masa (w gramach) pobranej próbki.

9. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości chloraminy-T około 0,2 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać absolutnej wartości 0,03 % (m/m).

OZNACZANIE CAŁKOWITEGO FLUORU W PASTACH DO ZĘBÓW

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda jest przeznaczona do oznaczania całkowitej zawartości fluoru w pastach do zębów. Jest ona odpowiednia dla stężeń nieprzekraczających 0,25 %.

2. DEFINICJA

Zawartość fluoru w próbce pasty oznaczona zgodnie z tą metodą jest wyrażona w procentach masowych.

3. ZASADA

Oznaczenie jest wykonywane metodą chromatografii gazowej. Fluor ze związków zawierających fluor zostaje przekształcony w trietylofluorosilan (TEFS) w bezpośredniej reakcji z chlorotrietylosilanem (TECS) w kwaśnym roztworze i równocześnie ekstrahowany ksylenem zawierającym cykloheksan jako wewnętrzny standard.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

4.1. Fluorek sodu wysuszony w temperaturze 120 °C do stałej masy.

4.2. Woda redestylowana lub równoważnej jakości.

4.3. Kwas solny, d_4^{20} = 1,19 g/ml.

4.4. Cykloheksan (CH).

4.5. Ksylen, który nie daje żadnych pików przed pikiem tego rozpuszczalnika wówczas, kiedy jest analizowany chromatograficznie w tych samych warunkach, co próbka (6.l). Jeśli to niezbędne, jest oczyszczany przez destylację (5.8).

[1] Norma ISO 5725.

4.6. Chlorotrietylosilan (TECS Merck lub równoważny).

4.7. ***Roztwory standardowe fluoru***

4.7.1. Roztwór bazowy, 0,250 mg F^-/ml Odważyć dokładnie 138,1 mg fluorku sodu (4.l) i rozpuścić w wodzie (4.2). Przenieść ilościowo roztwór do 250 ml kolby miarowej (5.5). Rozcieńczyć do kreski wodą (4.2) i wymieszać.

4.7.2. Rozcieńczony roztwór bazowy 0,050 mg F^-/1 ml. Przenieść pipetą 20 ml roztworu bazowego (4.7.1) do l00 ml kolby miarowej (5.5). Rozcieńczyć do kreski wodą i wymieszać.

4.8. ***Roztwór wewnętrznego standardu***

Zmieszać l ml cykloheksanu (4.4) i 5 ml ksylenu (4.5).

4.9. ***Chlorotrietylosilan/roztwór wewnętrznego standardu***

Przenieść pipetą (5.7) 0,6 ml chlorotrietylosilanu (4.6) i 0,12 ml roztworu wewnętrznego standardu (4.8) do 10 ml kolby miarowej. Rozcieńczyć ksylenem (4.5) do kreski i wymieszać. Przygotować świeżo tego samego dnia.

4.10. Kwas nadchlorowy, 70 % (m/v).

4.11. Kwas nadchlorowy, 20 % (m/v) w wodzie (4.2).

5. APARATURA

5.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2. Chromatograf gazowy wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny.

5.3. Obrotowy mikser Vortex lub równoważny.

5.4. Wytrząsarka Bühler, typ SMB_l lub równoważna.

5.5. Kolby miarowe, 100 i 250 ml, wykonane z polipropylenu.

5.6. Probówki wirówkowe (szklane); 20 ml z korkiem gwintowanym pokrytym teflonem, Sovirel typ 611-56 lub równoważne. Czyścić probówki i korki gwintowane przez ługowanie w ciągu kilkunastu godzin w kwasie nadchlorowym (4.11) i następnie pięciokrotne kolejne płukanie wodą (4.2) i końcowe suszenie w 100 °C.

5.7. Pipety, odpowiednie do odmierzania objętości 50–200 µl z jednorazowymi plastikowymi zakończeniami.

5.8. Aparatura do destylacji, wyposażona w kolumnę Schneidera z trzema kulami lub równoważna kolumna Vigreux.

6. PROCEDURA

6.1. ***Analiza próbki***

6.1.1. Wybrać tubę pasty do zębów uprzednio nieotwieraną, obciąć dolną część tuby i usunąć całą zawartość do plastikowego pojemnika, wymieszać starannie i przechowywać w warunkach zapobiegających pogorszeniu jakości.

6.1.2. Odważyć dokładnie 150 mg (m) próbki do probówki wirówkowej (5.6), dodać 5 ml wody (4.2) i homogenizować (5.3).

6.1.3. Dodać l ml ksylenu (4.5).

6.1.4. Dodawać kroplami 5 ml kwasu solnego (4.3) i homogenizować (5.3).

6.1.5. Dodać pipetą 0,5 ml roztworu chlorotrietylosilan/standard wewnętrzny (4.9) do probówki wirówkowej (5.6).

6.1.6. Zamknąć probówkę gwintowanym korkiem (5.6) i mieszać dokładnie w ciągu 45 minut na wytrząsarce (5.4) ustawionej na 150 wstrząsów na minutę.

6.1.7. Wirować l0 minut z taką szybkością, aby otrzymać wyraźny rozdział warstw, otworzyć probówkę, odciągnąć warstwę organiczną i wprowadzić strzykawką 3 µl warstwy organicznej na kolumnę chromatografu gazowego (5.2).

Uwaga:

Eluowanie wszystkich składników zabiera około 20 minut.

6.1.8. Powtórzyć analizę, obliczyć stosunki średnich powierzchni pików ($A_{tefs}/_{Ach}$) i odczytać odpowiednie ilości fluoru (w miligramach m_1) z wykresu kalibracyjnego (6.3).

6.1.9. Obliczyć całkowitą zawartość fluoru w próbce (w procentach masowych fluoru) jak wskazano w ust. 7.

6.2. ***Warunki analizy chromatograficznej***

6.2.1. Kolumna: stal nierdzewna.

Długość: l,8 m.

Średnica: 3 mm.

Nośnik: Gaschrom Q 80–100 oczek.

Faza stacjonarna: olej silikonowy DC 200 lub równoważny, 20 %, kondycjonowanie kolumny przez noc w 100 °C (gaz nośny azot, przepływ 25 ml na minutę) i powtarzane każdej nocy. Po każdych czterech lub pięciu wstrzyknięciach ponownie kondycjonować kolumnę przez ogrzewanie w temperaturze 100 °C w ciągu 30 minut.

Temperatury:

kolumna: 70 °C,

dozownik: 150 °C,

detektor: 250 °C.

Przepływ gazu nośnego: 35 ml azotu na minutę.

6.3. ***Wykres kalibracyjny***

6.3.1. Umieścić pipetą w serii sześciu probówek wirówki (5.6) po 0, 1, 2, 3, 4 i 5 ml rozcieńczonego standardowego roztworu fluoru (4.7.2). Uzupełnić objętość w każdej probówce wodą do 5 ml (4.2).

6.3.2. Postępować tak jak opisano w ppkt. 6.l.3–6.l.6 włącznie.

6.3.3. Wprowadzić strzykawką 3 µl warstwy organicznej na kolumnę chromatografu gazowego (5.2).

6.3.4. Powtórzyć wstrzyknięcie i obliczyć średni stosunek pików (A_{tefs}/A_{ch}).

6.3.5. Narysować wykres kalibracyjny współzależności masy fluoru (w miligramach) w roztworach standardowych (6.3.l) i stosunku powierzchni pików (A_{tefs}/A_{ch}) mierzonych według ppkt. 6.3.4. Połączyć punkty wykresu najbardziej odpowiednią linią prostą obliczoną równaniem regresji.

7. OBLICZENIE

Stężenie całkowitej zawartości fluoru w próbce (w procentach masowych fluoru) (% m/m F) jest określone równaniem:

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

gdzie:

m = próbka analityczna (w miligramach) (6.l.2),

m = ilość F (w miligramach) odczytana z wykresu kalibracyjnego (6.1.8).

8. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości fluoru około 0,15 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekraczać 0,012 % (m/m).

IDENTYFIKOWANIE I OZNACZANIE ORGANICZNYCH ZWIĄZKÓW RTĘCI

CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda może być stosowana do identyfikowania i oznaczania organicznych pochodnych rtęci stosowanych jako środki konserwujące w produktach kosmetycznych używanych w okolicach oczu. Mogą być stosowane do tiomersalu (INN) i fenylorteci i jej soli.

A. IDENTYFIKOWANIE

1. ZASADA

Organiczne związki rtęci są kompleksowane 1,5-difenylo-3-tiokarbazonem (ditizonem). Po ekstrakcji ditizonu czterochlorkiem węgla, wykonywana jest chromatografia cienkowarstwowa na żelu krzemionkowym. Plamy ditizonu pojawiają się w pomarańczowym kolorze.

2. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

2.1. Kwas siarkowy, 25 % (v/v).

[1] Norma ISO 5725.

2.2. 1,5-difenylo-3-tiokarbazon (ditizon): 0,8mg w l00ml czterochlorku węgla (2.4).

2.3. Azot.

2.4. Czterochlorek węgla.

2.5. Rozpuszczalnik rozwijający: heksan/aceton, 90:l0 (v/v).

2.6. Roztwór standardowy, 0,001 % w wodzie:

2-(etylortęciotio)benzoesan sodu,

chlorek etylortęci lub chlorek metylortęci,

azotan fenylortęci lub octan fenylortęci,

chlorek rtęci (II) lub octan rtęci (II).

2.7. Przygotowane fabrycznie płytki z żelem krzemionkowym (np. Merck 5721 lub równoważne).

2.8. Chlorek sodu.

3. APARATURA

3.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

3.2. Zwykła aparatura do chromatografii cienkowarstwowej.

3.3. Filtr rozdzielający fazy.

4. PROCEDURA

4.1. ***Ekstrakcja***

4.1.1. Rozcieńczyć l g próbki w probówce wirówki przez dodawanie 20 ml wody destylowanej. Otrzymać jak największe rozproszenie i ogrzewać do 60 °C w łaźni wodnej. Dodać 4 g chlorku sodu (2.8). Wytrząsnąć. Pozostawić do schłodzenia.

4.1.2. Wirować w ciągu co najmniej 20 minut przy 4500 obrotach/min. w celu oddzielenia większej części substancji stałej z cieczy. Przesączyć do rozdzielacza i dodać 0,25 ml roztworu kwasu siarkowego (2.1).

4.1.3. Ekstrahować kilkakrotnie po 2 lub 3 ml roztworu ditizonu (2.2) do zaniku zielonego koloru ostatniej warstwy organicznej.

4.1.4. Przesączyć każdą warstwę organiczną przez filtr rozdzielający fazy (3.3).

4.1.5. Odparować do sucha w strumieniu azotu (2.3).

4.1.6. Rozpuścić w 0,5 ml czterochlorku węgla (2.4). Używać roztwór natychmiast do analizy jak wskazano w ppkt. 4.2.l.

4.2. ***Rozdzielanie i identyfikowanie***

4.2.1. Nanieść niezwłocznie 50 µl roztworu w czterochlorku węgla otrzymanego jak w ppkt. 4.1.6 na płytkę z żelem krzemionkowym (2.7). Równolegle poddać 10 ml roztworu standardowego (2.6) takiemu postępowaniu jak opisano w ppkt. 4.l i nanieść 50 µl otrzymanego w ppkt. 4.l.6 roztworu na tą samą płytkę.

4.2.2. Umieścić płytkę w rozpuszczalniku (2.5) i pozwolić temu ostatniemu wznosić się do wysokości 150 mm. Związki organiczne rtęci pojawiają się jako kolorowe plamy, których kolor jest trwały; zabezpieczyć płytkę chromatograficzną szklaną płytką bezpośrednio po odparowaniu rozpuszczalnika.

Przykładowo otrzymano następujące wartości Rf:

	Rf	Kolor
Tiomersal	0,33	pomarańczowy
Chlorek etylortęci	0,29	pomarańczowy
Chlorek metylortęci	0,29	pomarańczowy
Sole fenylortęci	0,21	pomarańczowy
Sole rtęci	0,10	pomarańczowy
Octan rtęci	0,10	pomarańczowy
1,5-difenylo-3-tiokarbazon	0,09	różowy

B. OZNACZANIE

1. DEFINICJA

Zawartość organicznych związków rtęci oznaczona według tej metody jest wyrażona jako procent masowy (m/m) rtęci w próbce.

2. ZASADA

Metoda polega na zmierzeniu ilości całej obecnej w próbce rtęci. Jest więc konieczne upewnienie się, że w próbce nie ma rtęci w postaci nieorganicznej i identyfikowanie organicznych pochodnych rtęci zawartych w próbce wyrobu. Po mineralizacji, uwolniona rtęć jest oznaczana przez bezpłomieniową absorpcję atomową.

3. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

3.1. Stężony kwas azotowy d_4^{20} = 1,41 g/ml.

3.2. Stężony kwas siarkowy d_4^{20} = 1,84 g/ml.

3.3. Woda redestylowana.

3.4. Nadmanganian potasu, 7 % (m/v) roztwór.

3.5. Chlorowodorek hydroksyloamonowy, l,5 % (m/v) roztwór.

3.6. Nadsiarczan potasu, 5 % (m/v) roztwór.

3.7. Chlorek cyny (II) (chlorek cynawy), 10 % (m/v) roztwór.

3.8. Stężony kwas solny, d_4^{20} = 1,18 g/ml.

3.9. Wata szklana impregnowana chlorkiem palladu (II) (chlorkiem palladowym), 1 % (m/m).

4. APARATURA

4.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

4.2. Aparatura do oznaczania rtęci metodą bezpłomieniowej absorpcji atomowej (technika zimnej pary), włącznie z niezbędnym sprzętem szklanym. Droga optyczna naczynka pomiarowego powinna wynosić co najmniej 100 mm.

5. PROCEDURA

Przedsięwziąć zwykłe środki ostrożności przy śladowej analizie rtęci.

5.1. ***Rozkład próbki***

5.1.1. Odważyć dokładnie 150 mg próbki (m). Dodać 10 ml kwasu azotowego (3.l) i pozostawić próbkę jego działaniu na trzy godziny w kolbie hermetycznej w łaźni wodnej o temperaturze 55 °C, wstrząsając w regularnych odstępach czasu. W tym samym czasie wykonać ślepą próbę z samymi odczynnikami.

5.1.2. Po schłodzeniu dodać l0 ml kwasu siarkowego (3.2) i ponownie umieścić w łaźni wodnej w 55 °C na okres 30 minut.

5.1.3. Umieścić kolbę w łaźni lodowej i dodać ostrożnie 20 ml wody (3.3).

5.1.4. Dodawać porcjami po 2 ml 7 % roztwór nadmanganianu (VII) potasu aż do odbarwienia roztworu. Ponownie umieścić w łaźni wodnej w 55 °C na następne 15 minut.

5.1.5. Dodać 4 ml roztworu nadsiarczanu (VI) potasu (3.6). Kontynuować ogrzewanie w łaźni wodnej o temperaturze 55 °C przez 30 minut.

5.1.6. Pozostawić do schłodzenia i przenieść zawartość kolby do 100 ml kolby miarowej. Popłukać kolbę 5 ml chlorowodorku hydroksyloamonowego (3.5) i następnie płukać czterokrotnie porcjami po 10 ml wody (3.3). Roztwór powinien być zupełnie bezbarwny. Uzupełnić wodą (3.3) do kreski.

5.2. ***Oznaczanie***

5.2.1. Umieścić 10 ml badanego roztworu (5.l.6) w szklanym naczyniu aparatury do oznaczania rtęci techniką zimnej pary (4.2). Rozpuścić w 100 ml wody (3.3), a następnie dodać 5 ml kwasu siarkowego (VT) (3.2) i 5 ml roztworu chlorku cyny (II) (3.7). Wymieszać po każdym dodatku. Poczekać 30 sekund do zredukowania w całości jonów rtęci do stanu metalicznego i odczytać wartość (n).

5.2.2. Umieścić watę szklaną impregnowaną chlorkiem palladu (II) między naczyniem do redukowania rtęci i naczynkiem przepływowym aparatury (4.2). Powtórzyć postępowanie według ppkt. 5.2.l i zarejestrować odczyt. Jeśli różni się on od zera oznacza to, że mineralizacja nie zaszła całkowicie i analizę należy powtórzyć.

6. OBLICZENIE

Przyjęto:

m = masa (w miligramach) próbki analitycznej.

n = ilość rtęci (w µg) odczytana na skali instrumentu.

Ilość rtęci wyrażona jako procent masowy rtęci, jest obliczana zgodnie z wzorem:

$$\% \text{ m/m rtęci} = \frac{n}{m}.$$

7. UWAGI

7.1. Dla poprawienia mineralizacji może być konieczne rozpoczęcie postępowania od rozcieńczenia roztworu.

7.2. Jeśli spodziewana jest absorpcja rtęci przez substrat, ilościowe oznaczanie powinno być wykonane metodą dodawania standardu.

8. POWTARZALNOŚĆ [1]

W przypadku stężenia rtęci 0,007 %, różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,00035 %.

OZNACZANIE SIARCZKÓW METALI ALKALICZNYCH I ZIEM ALKALICZNYCH

1. CEL I ZAKRES STOSOWANIA

Metoda opisuje oznaczanie siarczków obecnych w produktach kosmetycznych. Obecność tioli lub innych środków redukujących (łącznie z siarczynami) (IV) nie przeszkadza w oznaczeniu.

2. DEFINICJA

Stężenie siarczków oznaczone tą metodą jest wyrażone jako procent masowy siarki.

3. ZASADA

Po zakwaszeniu środowiska, siarkowodór jest unoszony przez strumień azotu i wiązany w postaci siarczku kadmowego. Ten ostatni jest odsączony i przemyty, a następnie oznaczony jodometrycznie.

4. ODCZYNNIKI

Wszystkie odczynniki powinny być czystości analitycznej.

[1] Norma ISO 5725.

4.1. Stężony kwas solny, d_4^{20} = l,19 g/ml.

4.2. Tiosiarczan (VI) sodu, 0,l M standardowy roztwór.

4.3. Jod, 0,05 M standardowy roztwór.

4.4. Siarczek sodu.

4.5. Octan kadmu (II).

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

4.7. Amoniakalny roztwór octanu kadmu (II): rozpuścić 10 g octanu kadmu (II) (4.5) w około 50 ml wody. Dodać amoniak (4.6) aż do ponownego rozpuszczenia osadu (średnio około 20 ml). Uzupełnić wodą do kreski 100 ml.

4.8. Azot

4.9. Roztwór amoniaku M.

5. APARATURA

5.1. Zwykły sprzęt laboratoryjny.

5.2. l00 ml kolba okrągłodenna z trzema szyjami ze szlifem.

5.3. Dwie 150 ml kolby stożkowe ze szlifem, wyposażone w urządzenia obejmujące rurkę zanurzeniową i boczną rurkę wylotową do wypuszczenia powstającego gazu.

5.4. Lejek do sączenia z długą nóżką.

6. PROCEDURA

6.1. ***Wprowadzenie siarczków***

6.1.1. Pobrać opakowanie, którego poprzednio nie otwierano. Odważyć dokładnie w kolbie okrągłodennej (5.2) masę (m) (wyrażoną w gramach) wyrobu odpowiadającą nie więcej niż 30 mg jonów siarczkowych. Dodać 60 ml wody i dwie krople cieczy przeciwdziałającej pienieniu.

6.1.2. Przenieść po 50 ml roztworu (4.7) do każdej z dwóch kolb stożkowych (5.3).

6.1.3. Umieścić wkraplacz, rurkę zanurzeniową i rurkę wylotową w kolbie okrągłodennej (5.2). Przyłączyć rurkę wylotową do serii kolb stożkowych (5.3) przewodami z PCV.

Notabene: Aparatura wprowadzająca powinna przejść następujący test szczelności. Symulując warunki testu, zastąpić próbkę wyrobu przeznaczoną do wykonania oznaczenia przez l0 ml roztworu siarczku (przygotowanego jak w 4.4) zawierającego „X mg" siarczku (oznaczonego jodometrycznie). Przyjęto „Y" jako liczbę miligramów siarczku stwierdzoną w końcu tej operacji. Różnica między ilością „X" i ilością „Y" nie powinna przekroczyć 3 %.

6.1.4. Przepuszczać azot (4.8) przez 15 minut, z szybkością dwóch pęcherzyków gazowych na sekundę, w celu usunięcia powietrza zawartego w kolbie okrągłodennej (5.2)

6.1.5. Ogrzewać kolbę okrągłodenną do 85 ± 5 °C.

6.1.6. Zatrzymać strumień azotu (4.8) i dodać 40 ml kwasu solnego (4.l), kropla po kropli.

6.1.7. Wprowadzić ponownie strumień azotu (4.8) wtedy, kiedy prawie cały kwas został wkroplony, pozostawiając minimalną ciekłą warstwę (uszczelnienie), aby zapobiec wyciekom siarkowodoru.

6.1.8. Przerwać ogrzewanie po 30 minutach. Pozostawić kolbę (5.2) do schłodzenia i kontynuować przepływ azotu (4.8) przez co najmniej półtorej godziny.

6.2. ***Miareczkowanie***

6.2.1. Przesączyć siarczek kadmu przez lejek z długą nóżką (5.4).

6.2.2. Popłukać kolby stożkowe (5.3) najpierw roztworem amoniaku (4.9) i przelać go przez lejek. Następnie popłukać wodą destylowaną i użyć wodę do przemycia osadu zatrzymanego przez filtr.

6.2.3. Przemyć osad 100 ml wody.

6.2.4. Umieścić bibułę filtracyjną z lejka zawierającą osad w pierwszej kolbie stożkowej. Dodać 25 ml (n_1) roztworu jodu (4.3), około 20 ml kwasu solnego (4.l) i 50 ml wody destylowanej.

6.2.5. Oznaczyć nadmiar jodu roztworem tiosiarczanu (VI) sodu (n_2) (4.2).

7. OBLICZENIE

Zawartość siarczku w próbce, wyrażona jako procent masowy siarki jest obliczana według następującego wzoru:

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

gdzie:

n_1 = ilość (w mililitrach) zużytego standardowego roztworu jodu (4.3),

x_1 = stężenie molowe tego roztworu,

n_2 = ilość (w mililitrach) standardowego roztworu tiosiarczanu (VI) sodu (4.2),

x_2 = stężenie molowe tego roztworu,

m = masa (w gramach) próbki analitycznej.

8. POWTARZALNOŚĆ [1]

Dla zawartości siarczku około 2 % (m/m), różnica między wynikami dwóch równoległych oznaczeń wykonanych dla tej samej próbki nie powinna przekroczyć wartości absolutnej 0,2 % (m/m).

[1] Norma ISO 5725.