



**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΤΡΙΤΟ**  
**ΤΗΣ ΕΠΙΣΗΜΗΣ ΕΦΗΜΕΡΙΔΑΣ ΤΗΣ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑΣ**  
 Αρ. 3517 της 27ης ΙΟΥΛΙΟΥ 2001  
**ΔΙΟΙΚΗΤΙΚΕΣ ΠΡΑΞΕΙΣ**

**ΜΕΡΟΣ Ι**

**Κανονιστικές Διοικητικές Πράξεις**

**Αριθμός 296**

Οι περί Καλλυντικών Προϊόντων (Μέθοδοι Δειγματοληψίας και Ανάλυσης) Κανονισμοί του 2001, οι οποίοι εκδόθηκαν από το Υπουργικό Συμβούλιο δυνάμει του άρθρου 34 του περί Καλλυντικών Προϊόντων Νόμου του 2001, αφού κατατέθηκαν στη Βουλή των Αντιπροσώπων και εγκρίθηκαν από αυτή, δημοσιεύονται στην Επίσημη Εφημερίδα της Δημοκρατίας σύμφωνα με το εδάφιο (3) του άρθρου 3 του περί Καταθέσεως στη Βουλή των Αντιπροσώπων των Κανονισμών που Εκδίδονται με Εξουσιοδότηση Νόμου, Νόμου (Ν.99 του 1989 όπως τροποποιήθηκε με το Ν. 227 του 1990).

**Ο ΠΕΡΙ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΝΟΜΟΣ**  
**ΝΟΜΟΣ ΤΟΥ 2001**

Κανονισμοί δυνάμει του άρθρου 34

Το Υπουργικό Συμβούλιο ασκώντας τις εξουσίες που του χορηγούνται από το άρθρο 34 του περί Καλλυντικών Προϊόντων Νόμου του 2001, εκδίδει τους ακόλουθους Κανονισμούς. 106(1) του 2001.

1. Οι παρόντες Κανονισμοί θα αναφέρονται ως οι περί Καλλυντικών Προϊόντων (Μέθοδοι Δειγματοληψίας και Ανάλυσης) Κανονισμοί του 2001. Συνοπτικός τίτλος.

2.—(1) Στους παρόντες Κανονισμούς, εκτός εάν από το κείμενο προκύπτει διαφορετική έννοια— Ερμηνεία.

«εργαστήριο» έχει την ίδια έννοια που αποδίδεται στον όρο «κυβερνητικό χημείο» από το άρθρο 2 του Νόμου και περιλαμβάνει κυβερνητικό χημικό και πρόσωπο που ενεργεί υπό τις οδηγίες και την άμεση επίβλεψή του·

«Νόμος» σημαίνει τον περί Καλλυντικών Προϊόντων Νόμο του 2001, 106(1) του 2001. περιλαμβανομένου οποιουδήποτε άλλου νόμου που τον τροποποιεί ή αντικαθιστά.

(2) Οποιοδήποτε άλλοι όροι που περιέχονται στους παρόντες Κανονισμούς και που δεν ερμηνεύονται διαφορετικά, έχουν την έννοια που αποδίδεται στους όρους αυτούς από το Νόμο.

Μέθοδοι  
δειγματο-  
ληψίας  
και ανάλυσης.  
Παράρτημα Ι.  
Μέρος Ι.

3.—(1) Η δειγματοληψία πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος Ι του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος ΙΙ.

(2) Η επεξεργασία δειγμάτων για τα εργαστήρια πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρο ΙΙ του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος ΙΙΙ.

(3) Η ανίχνευση και προσδιορισμός των ελεύθερων υδροξειδίων του νατρίου και καλίου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙΙΙ του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος ΙV.

(4) Ο προσδιορισμός και ανίχνευση του οξαλικού οξέος και των αλκαλικών αλάτων του σε προϊόντα περιποίησης κόμης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙV του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος V.

(5) Ο προσδιορισμός του χλωροφορμίου μέσα στις οδοντόκρεμες πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος V του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος VI.

(6) Ο προσδιορισμός του ψευδαργύρου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VI του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα Ι.  
Μέρος VII.

(7) Ο προσδιορισμός και η ανίχνευση του φαινολοσουλφονικού οξέος πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VII του Παραρτήματος Ι.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος Ι.

(8) Η ανίχνευση οξειδωτικών παραγόντων και ο προσδιορισμός του υπεροξειδίου του υδρογόνου για την κόμη πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος Ι του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος ΙΙ.

(9) Η ανίχνευση και ημιποσοτικός προσδιορισμός ορισμένων χρωστικών οξειδώσεων στις τριχοβαφές πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙΙ του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος ΙΙΙ.

(10) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός νιτρωδών πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙΙΙ του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος ΙV.

(11) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός της ελεύθερης φορμαλδεΰδης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙV του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος V.

(12) Ο προσδιορισμός ρεσορκίνης στα υγρά παρασκευάσματα λούσεως και περιποίησης της κόμης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος V του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙ.  
Μέρος VI.

(13) Ο προσδιορισμός της μεθονόλης σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VI του Παραρτήματος ΙΙ.

Παράρτημα ΙΙΙ.  
Μέρος Ι.

(14) Ο προσδιορισμός του διχλωρομεθανίου και του 1,1,1-τριχλωροαιθανίου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος Ι του Παραρτήματος ΙΙΙ.

Παράρτημα ΙΙΙ.  
Μέρος ΙΙ.

(15) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός της υδροξυ-8-κινολεΐνης ή του θεικού παραγώγου της πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙΙ του Παραρτήματος ΙΙΙ.

Παράρτημα ΙΙΙ.  
Μέρος ΙΙΙ.

(16) Ο προσδιορισμός της αμμωνίας πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙΙΙ του Παραρτήματος ΙΙΙ.

Παράρτημα ΙΙΙ.  
Μέρος ΙV.

(17) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός του νιτρομεθανίου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος ΙV του Παραρτήματος ΙΙΙ.

- (18) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός του θειογλυκολικού οξέος στα προϊόντα για το κατσάρωμα ή το ίσιωμα των μαλλιών και στα αποτρίχωντικά πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος V του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος V.
- (19) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός του εξαχλωροφαίνιου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VI του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος VI.
- (20) Ο προσδιορισμός του παραγώγου με νάτριο του παρατολουολοσουλφοχλωραμιδίου (λωραμίνη T) πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VII του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος VII.
- (21) Ο προσδιορισμός των φθοριοπαραγώγων στις οδοντόκρεμες πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VIII του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος VIII.
- (22) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός των οργανοϋδραργυρικών ενώσεων πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος IX του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος IX.
- (23) Ο προσδιορισμός των θειούχων αλκαλίων και αλκαλικών γαιών πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος X του Παραρτήματος III. Παράρτημα III,  
Μέρος X.
- (24) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του 1-(4-αμινοβενζοϊκού) γλυκερινεστέρα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος I του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος I.
- (25) Ο προσδιορισμός χλωροβουτανόλης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος II του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος II.
- (26) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός κινίνης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος III του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος III.
- (27) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός ανόργανων θειωδών και όξινων θειωδών πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος IV του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος IV.
- (28) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των χλωρικών αλάτων των αλκαλίων πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος V του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος V.
- (29) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός ιωδικού νατρίου πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος VI του Παραρτήματος IV. Παράρτημα IV,  
Μέρος V.
- (30) Η ανίχνευση και ποσοτικός προσδιορισμός νιτρικού αργύρου στα καλλυντικά προϊόντα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος I του Παραρτήματος V. Παράρτημα V,  
Μέρος I.
- (31) Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός του διθειούχου σεληνίου στα σαμπουάν για την καταπολέμηση της πιτυρίδας πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος II του Παραρτήματος V. Παράρτημα V,  
Μέρος II.
- (32) Ο προσδιορισμός του διάλυτου βαρίου και στροντίου στις χρωστικές ουσίες (πιγμέντα) που βρίσκονται υπό μορφή αλάτων ή λακών πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος III του Παραρτήματος V. Παράρτημα V,  
Μέρος III.
- (33) Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός της βενζυλικής αλκοόλης στα καλλυντικά προϊόντα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος IV του Παραρτήματος V. Παράρτημα V,  
Μέρος IV.

- Παράρτημα V,  
Μέρος V. (34) Η ανίχνευση του ζιρκονίου και ποσοτικός προσδιορισμός του ζιρκονίου, του αλουμινίου ή του χλωρίου στα μη αεροζόλ αποσμητικά πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος V του Παραρτήματος V.
- Παράρτημα V,  
Μέρος VI. (35) Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός της εξαμιδίνης της διβρωμοεξαμιδίνης, της διβρωμοπροπαμιδίνης και της χλωροεξιδίνης πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται Μέρος VI του Παραρτήματος V.
- Παράρτημα VI,  
Μέρος I. (36) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός του βενζοϊκού οξέος, του 4-υδροξυβενζοϊκού οξέος, του σαλικυλικού οξέος και του προπιονικού οξέος στα καλλυντικά προϊόντα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος I του Παραρτήματος VI.
- Παράρτημα VI,  
Μέρος II. (37) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός της υδροκινόνης, του υδροκινονομονομεθυλαιθέρα, του υδροκινονομοαιθυλεθέρα και του υδροκινονομονοβενζυλαιθέρα στα καλλυντικά προϊόντα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Μέρος II του Παραρτήματος VI.
- Παράρτημα VII. (38) Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός της 2-φαινοξυαιθανόλης της 1-φαινοξυπροπαν-2-όλης και των 4-υδροξυβενζοϊκού μεθυλαίθυλ-, προπυλ-, βουτυλ- και βενζυλεστέρων σε καλλυντικά προϊόντα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο Παράρτημα VII.

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι**  
**(Κανονισμός 3)**

**1. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

**1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ**

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τους τρόπους δειγματοληψίας καλλυντικών προϊόντων με σκοπό την ανάλυσή τους σε διάφορα εργαστήρια.

**2. ΟΡΙΣΜΟΙ**

**2.1. Στοιχειώδες δείγμα**

Δείγμα που ελήφθη από παρτίδα που προορίζεται για πώληση.

**2.2. Ολικό δείγμα**

Σύνολο στοιχειωδών δειγμάτων που φέρουν τον ίδιο αριθμό παρτίδας.

**2.3. Δείγμα για το εργαστήριο**

Αντιπροσωπευτικό μέρος του ολικού δείγματος που προορίζεται για εργαστήριο αναλύσεων.

**2.4. Λήψη δοκιμαστικού δείγματος**

Αντιπροσωπευτικό μέρος του δείγματος για το εργαστήριο, που είναι αναγκαίο για μια ανάλυση.

**2.5. Δοχείο**

Αντικείμενο, το οποίο μπορεί να περιέχει ένα προϊόν και να βρίσκεται σε άμεση μόνιμη επαφή με αυτό.

**3. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ**

**3.1.** Τα δείγματα των καλλυντικών προϊόντων λαμβάνονται μέσα στην αρχική τους συσκευασία και αποστέλλονται στην κατάσταση που βρίσκονται σε εργαστήρια.

**3.2.** Για τα καλλυντικά προϊόντα χύδην και τα πωλούμενα λιανικώς σε συσκευασία διαφορετική από τη συσκευασία του αρχικού κατασκευαστή, θα καθορισθούν ειδικές προδιαγραφές δειγματοληψίας.

- 3.3 Οι αναλυτικοί κανόνες και ο αριθμός αναλύσεων που πρέπει να διενεργηθούν από κάθε εργαστήριο καθορίζουν τον αριθμό των στοιχειωδών δειγμάτων που είναι αναγκαία για την επεξεργασία του δείγματος για το εργαστήριο.

#### 4. ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- 4.1. Τα ληφθέντα δείγματα πρέπει να σφραγισθούν στον τόπο λήψης και να ταυτοποιηθούν σύμφωνα με τις ισχύουσες προδιαγραφές.
- 4.2. Κάθε στοιχειώδες δείγμα πρέπει να φέρει τις παρακάτω ενδείξεις:
- ονομασία του καλλυντικού προϊόντος,
  - ημερομηνία, ώρα και τόπο λήψεως,
  - όνομα του ατόμου το οποίο είναι υπεύθυνο για τη λήψη,
  - όνομα της αρχής η οποία διενέργησε τον έλεγχο.
- 4.3. Ένα πρακτικό δειγματοληψίας θα πρέπει να συνταχθεί σύμφωνα με τις διατάξεις του Παραρτήματος VIII.

#### 5. ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

- 5.1. Τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται υπό τις συνθήκες που προδιαγράφονται από τον κατασκευαστή πάνω στην επικέτα.
- 5.2. Σε περίπτωση απουσίας ιδιαίτερων προδιαγραφών, όλα τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία μεταξύ 10 και 25 °C σε συνθήκες σκότους.
- 5.3. Τα στοιχειώδη δείγματα θα πρέπει να ανοίγονται μόνο κατά την έναρξη της ανάλυσης.

## II. ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

### 1. ΓΕΝΙΚΑ

- 1.1. Ο αναλυτικός προσδιορισμός διενεργείται σε κάθε ένα από τα στοιχειώδη δείγματα ή, εάν η ποσότητα είναι ανεπαρκής, σε έναν ελάχιστο αριθμό στοιχειωδών δειγμάτων, τα οποία έχουν προηγουμένως αναμειχθεί πλήρως.
- 1.2. Άνοιγμα του δοχείου σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου, εάν απαιτείται από τη μέθοδο ανάλυσης, και διενέργεια του απαιτούμενου αριθμού λήψεων

δοκιμαστικών δειγμάτων το ταχύτερο δυνατόν. Η ανάλυση θα πρέπει να διενεργηθεί όσο το δυνατόν πιο σύντομα. Εάν το δείγμα πρέπει να διατηρηθεί, το δοχείο πρέπει να κλειστεί πάλι επιμελώς σε ατμόσφαιρα αδρανούς αερίου.

- 1.3. Τα καλλυντικά προϊόντα μπορούν να παρουσιάζονται σε υγρή, ημιστερεή ή στερεή κατάσταση. Μπορεί να συμβεί, τα καλλυντικά προϊόντα, τα οποία συσκευάστηκαν αρχικά με ομογενή μορφή, να παρουσιάσουν μετέπειτα διάφορες φάσεις που αντιστοιχούν με τις προαναφερθείσες καταστάσεις. Στην περίπτωση αυτή, πρέπει να υποστούν ομογενοποίηση.
- 1.4. Εάν ένα καλλυντικό προϊόν συσκευαστεί με μορφή η οποία καθιστά αδύνατη την επεξεργασία του σύμφωνα με τις παρούσες διατάξεις και η οποία προβλέπεται στις μεθόδους αναλύσεως, μπορεί να ακολουθηθεί μια ειδική διαδικασία, με την προϋπόθεση ότι θα περιγραφεί λεπτομερώς στην έκθεση ανάλυσης.

## 2. ΥΓΡΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

- 2.1. Στην κατάσταση αυτή συναντάμε κυρίως προϊόντα όπως τα διαλύματα σε έλαιο, οινόπνευμα και ύδωρ, τα ύδατα καλλωπισμού (eau de toilette), τα πλύματα (lotions) ή τα γαλακτώματα, τα οποία μπορούν να συσκευασθούν μέσα σε φιαλίδια, φιάλες, φύσιγγες ή σωλήνες.

### 2.2. Λήψη δοκιμαστικού δείγματος

-ανακινήστε ζωηρά το δοχείο πριν από την αφαίρεση του πώματος,

-αφαιρέστε το πώμα,

-αδειάστε μερικά ml του υγρού σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα για να εξετάσετε

οπτικά τα χαρακτηριστικά του με σκοπό τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος,

-σφραγίστε πάλι το δοχείο, ή

-διενεργήστε τις λήψεις δοκιμαστικού δείγματος που είναι αναγκαίες για την ανάλυση,

-σφραγίστε πάλι το δοχείο.

## 3. ΗΜΙΣΤΕΡΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

- 3.1. Στην κατάσταση αυτή συναντώνται κυρίως προϊόντα όπως η κρέμα, το γαλάκτωμα, τα πηκτώματα (gels), τα οποία μπορούν να συσκευάζονται σε σωλήνες, πλαστικά φιαλίδια ή δοχεία

### 3.2. Λήψη δοκιμαστικού δείγματος

Δύο περιπτώσεις είναι δυνατές:

- 3.2.1. δοχείο με στενό στόμιο (σωλήνες, πλαστικό φιαλίδιο). Αφαιρέστε τουλάχιστον το πρώτο εκατοστόμετρο του προς ανάλυση προϊόντος.

Διενεργήστε τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος και σφραγίστε πάλι αμέσως το δοχείο.

- 3.2.2. δοχείο με φαρδύ στόμιο (αγγείο). Ξύστε ελαφρά την επιφάνεια για να αφαιρέσετε το υπερκείμενο στρώμα. Διενεργήστε τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος και σφραγίστε πάλι αμέσως το δοχείο.

#### 4. ΣΤΕΡΕΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

- 4.1. Στην κατάσταση αυτή συναντώνται κυρίως προϊόντα όπως η πούδρα σε σκόνη, η συμπεπιεσμένη πούδρα ή τα καλλυντικά υπό μορφή "stick", τα οποία μπορούν να συσκευαστούν σε κουτιά ή θήκες.

- 4.2. Λήψη δοκιμαστικού δείγματος

Δύο περιπτώσεις είναι δυνατές:

- 4.2.1. πούδρα σε σκόνη. Πριν από την αφαίρεση του περικαλύμματος ή την αφαίρεση του πώματος ανακινήστε την πούδρα ζωηρά. Αφαιρέστε το πώμα και διενεργήστε τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος.
- 4.2.2. συμπεπιεσμένη πούδρα ή καλλυντικά υπό μορφή "stick". Αφαιρέστε με ελαφρό ξύσιμο το υπερκείμενο στρώμα και διενεργήστε τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος.

#### 5. ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΣΥΣΚΕΥΑΖΟΝΤΑΙ ΚΑΤΩ ΑΠΟ ΠΙΕΣΗ ΑΕΡΙΟΥ (aerosol dispensers)

- 5.1. Τα προϊόντα αυτά καθορίζονται στο Μέρος VIII.

- 5.2. Λήψη δοκιμαστικού δείγματος: Μετά από ζωηρή ανακίνηση, ένα αντιπροσωπευτικό μέρος του περιεχομένου του δοχείου μεταγγίζεται με τη βοήθεια μιας διάταξης μεταφοράς σε ένα φιαλίδιο από πλαστικοποιημένο διαφανές γυαλί, το οποίο διαθέτει μια βαλβίδα. Το φιαλίδιο αυτό δεν διαθέτει σωλήνα εμβύθισης. Σε ειδικές περιπτώσεις η μέθοδος ανάλυσης μπορεί να προβλέπει άλλες διατάξεις μεταφοράς.

Τέσσερις περιπτώσεις μπορούν να παρουσιαστούν:

- 5.2.1. Το περιεχόμενο είναι ένα ομογενές διάλυμα, το οποίο είναι έτοιμο για την ανάλυση.
- 5.2.2. Το περιεχόμενο συνίσταται από δύο υγρές φάσεις: Η ανάλυση καθεμιάς από τις φάσεις μπορεί να διενεργηθεί μετά από τη μεταγγιση της υποκείμενης φάσης σε ένα δεύτερο φιαλίδιο. Η φάση αυτή είναι συχνά υδατική και δεν περιέχει πλέον πρωθητικό αέριο (περίπτωση βουτανίου/νερού). Στην περίπτωση αυτή, κατά τη μεταφορά, το στόμιο του φιαλιδίου (εικόνα 4) πρέπει να είναι στραμμένο προς τα κάτω.



5.2.3. Το περιεχόμενο συνίσταται από μια πούδρα σε αιώρημα. Μετά το διαχωρισμό της πούδρας, μπορούμε να αναλύσουμε την υγρή φάση.

5.2.4. Αφρός: Εισάγεται καταρχήν μέσα στο φιαλίδιο μεταφοράς μια προζυγισμένη ποσότητα 2-μεθοξυαιθανόλης (5 έως 10 γραμμάρια περίπου). Κατά την απαερίωση, η 2-μεθοξυαιθανόλη εμποδίζει το σχηματισμό αφρού- είναι λοιπόν δυνατόν να αποχωριστούν τα πρωθητικά αέρια χωρίς να υπάρξει απώλεια υγρού.

### 5.3. Εξοπλισμός

Η διάταξη μεταφοράς P1 (εικόνα 1) είναι κατασκευασμένη από ντουραλουμίνιο ή από ορείχαλκο. Είναι μελετημένη για να προσαρμόζεται σε διάφορους τύπους βαλβίδων με τη βοήθεια ενός προσαρμογέα από πολυαιθυλένιο. Το όργανο αυτό δίνεται σαν παράδειγμα- μπορούν να χρησιμοποιηθούν και άλλες διατάξεις μεταφοράς (εικόνες 2 και 3).

Το φιαλίδιο μεταφοράς είναι κατασκευασμένο από λευκό γυαλί (εικόνα 4) και διαθέτει εξωτερικά προστατευτική πλαστικοποιημένη διαφανή επένδυση. Η χωρητικότητά του ανέρχεται σε 50 έως 100 ml. Είναι εξοπλισμένο με μία βαλβίδα αλλά δεν διαθέτει σωλήνα εμβύθισης.

### 5.4. Μέθοδος

Για τη μετάγγιση μιας επαρκούς ποσότητας προϊόντος, είναι αναγκαίο να αφαιρεθεί ο αέρας τον οποίο περιέχει το φιαλίδιο μεταφοράς. Για το σκοπό αυτό, εισάγετε με τη βοήθεια της διάταξης μεταφοράς 10 ml περίπου διχλωροδιφθορομεθανίου ή βουτανίου (ανάλογα με τη φύση το προς εξέταση προϊόντος), έπειτα διενεργήστε πλήρη απαερίωση ως την εξοφάνιση της υγρής φάσης, έχοντας το φιαλίδιο με τη βαλβίδα στραμμένη προς τα πάνω. Αποσυνδέστε τη διάταξη μεταφοράς και ζυγίστε το φιαλίδιο μεταφοράς (σε γραμμάρια). Ανακινήστε ζυγιά το δοχείο μέσα στο οποίο πρέπει να λάβετε το δείγμα. Προσαρμόστε τη διάταξη μεταφοράς στη βαλβίδα του δοχείου (το οποίο βρίσκεται σε τέτοια θέση ώστε η βαλβίδα να είναι στραμμένη προς τα πάνω), προσαρμόστε το φιαλίδιο μεταφοράς (στόμιο στραμμένο προς τα κάτω) πάνω στη διάταξη μεταφοράς και πιέσατε. Γεμίστε το φιαλίδιο μεταφοράς έως τα δύο τρίτα περίπου.

Εάν η μεταφορά σταματήσει πρόωρα λόγω εξίσωσης των πιέσεων, είναι δυνατή η συνέχισή της με την ψύξη του φιαλιδίου μεταφοράς. Αποσυνδέστε τη διάταξη μεταφοράς και ζυγίστε το φιαλίδιο (b) για να προσδιορίσετε τη μάζα του μεταγγισθέντος προϊόντος (m1) ( $m1 = b-a$ )

Το δείγμα που λήφθηκε κατά τον τρόπο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί:

- 1 για τη συνήθη χημική ανάλυση-
- 2 για μια ανάλυση των πτητικών ουσιών με χρωματογραφία αέριας φάσης.

#### 5.4.1. Χημική ανάλυση

Προβείτε στις παρακάτω ενέργειες διατηρώντας το φιαλίδιο μεταφοράς με το στόμιο προς τα πάνω:

-Διενεργήστε απαερίωση. Εάν η απαερίωση προκαλεί το σχηματισμό αφρού, χρησιμοποιήστε ένα φιαλίδιο μεταφοράς, το οποίο περιέχει μια ποσότητα 2-μεθοξυαιθανόλης, επακριβώς ζυγισμένης, (5 έως 10 γραμμάρια), η οποία έχει εισαχθεί με τη βοήθεια μιας σύριγγας μέσω της διάταξης μεταφοράς.

-Ολοκληρώστε την αφαίρεση των πτητικών ουσιών χωρίς απώλειες, αναδεύοντας μέσα σε ένα υδατικό λουτρό σταθερής θερμοκρασίας 40 ° C. Αποσυνδέστε τη διάταξη μεταφοράς.

-Ζυγίστε (c γραμμάρια) για τον καθορισμό του βάρους του υπολείμματος (m2 = c-a). Για τον υπολογισμό του βάρους του υπολείμματος λάβετε υπόψη, ανάλογα με την περίπτωση, την ποσότητα της 2-μεθοξυαιθανόλης που χρησιμοποιηθεί.

-Αποσφραγίστε το φιαλίδιο αφαιρώντας τη βαλβίδα.

- Διαλύστε πλήρως το υπόλειμμα μέσα σε μια γνωστή ποσότητα κατάλληλου διαλύτη.

-Πραγματοποιήστε τον επιθυμούμενο προσδιορισμό σε ένα κλάσμα του διαλύματος.

Τύποι υπολογισμού:

$$R = \frac{r \times m_2}{m_1}$$

Και

$$Q = \frac{R \times P}{100}$$

όπου:

m<sub>1</sub> = μάζα του προϊόντος που μεταγγίστηκε στο φιαλίδιο μεταφοράς.

m<sub>2</sub> = μάζα του υπολείμματος μετά από θέρμανση σε 40 ° C.

r = ποσοστό επί τοις εκατό της ουσίας στο m<sub>2</sub> (που προσδιορίζεται με κατάλληλη μέθοδο).

R = ποσοστό επί τοις εκατό της ουσίας στο σύνολο του προϊόντος.

Q = συνολική ποσότητα της ουσίας στο σύνολο του προϊόντος.

P = καθαρή μάζα του συνολικού συσκευασμένου προϊόντος πριν από την έναρξη των επεξεργασιών.

#### 5.4.2. Ανάλυση των πτητικών ουσιών με χρωματογραφία αέριας φάσης

##### 5.4.2.1. Αρχή

Στο φιαλίδιο μεταφοράς λάβετε την κατάλληλη ποσότητα υγρού με τη βοήθεια μιας σύριγγας αερίου. Εγχύστε το περιεχόμενο της σύριγγας μέσα στο χρωματογράφο.

##### 5.4.2.2. Εξοπλισμός

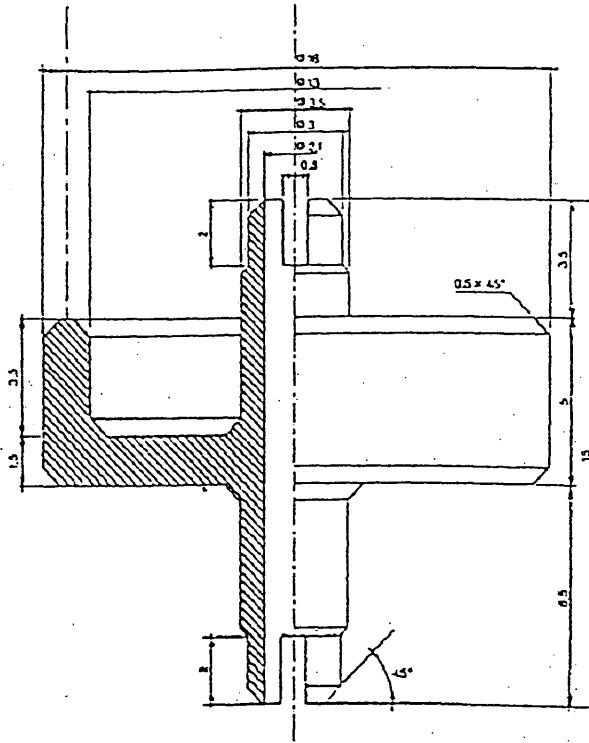
Σύριγγα αερίου σειράς A 2 "precision sampling" (εικόνα 5) ή ισοδύναμη σύριγγα (25 ή 50  $\mu$ l). Η σύριγγα αυτή διαθέτει μια ολισθαίνουσα βαλβίδα στο άκρο της βελόνας. Η σύνδεση της σύριγγας προς το φιαλίδιο μεταφοράς πραγματοποιείται με τη βοήθεια της διάταξης μεταφοράς από την πλευρά του φιαλιδίου και ενός σωλήνα από πολυαιθυλένιο (μήκους 8 mm, εσωτερικής διαμέτρου 2,5 mm) από την πλευρά της σύριγγας.

##### 5.4.2.3. Διαδικασία

Αφού μεταγγίσετε μια κατάλληλη ποσότητα προϊόντος μέσα στο φιαλίδιο μεταφοράς με τη βοήθεια της διάταξης μεταφοράς, προσαρμόστε τη σύριγγα πάνω στο φιαλίδιο μεταφοράς όπως περιγράφεται στο σημείο 5.4.2.2. Έχοντας το επιστόμιο σε ανοικτή θέση αναρροφήστε μια κατάλληλη ποσότητα υγρού. Αφαιρέστε τις φυσαλίδες αερίου με διαδοχικό ανεβοκατέβασμα του εμβόλου (στην ανάγκη ψύξτε τη σύριγγα). Όταν η σύριγγα περιέχει υγρό χωρίς φυσαλίδες, κλείστε το επιστόμιο και αποσυνδέστε τη σύριγγα από το φιαλίδιο μεταφοράς. Προσαρμόστε μια βελόνα πάνω στη σύριγγα και, μετά την εισαγωγή μέσα στη διάταξη εισόδου του χρωματογράφου, αποσφραλίστε το επιστόμιο και εγχύστε.

##### 5.4.2.4. Εσωτερικό πρότυπο

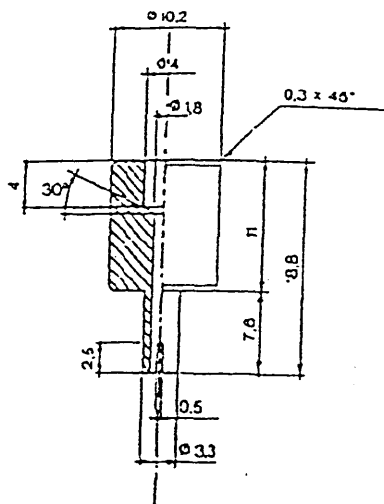
Εάν είναι αναγκαίο να χρησιμοποιήσετε ένα εσωτερικό πρότυπο, η εισαγωγή του μέσα στο φιαλίδιο μεταφοράς μπορεί να γίνει με τη βοήθεια μιας σύριγγας μέσω της διάταξης μεταφοράς.



Εικόνα 1

Διάταξη Μετασφοράς P1

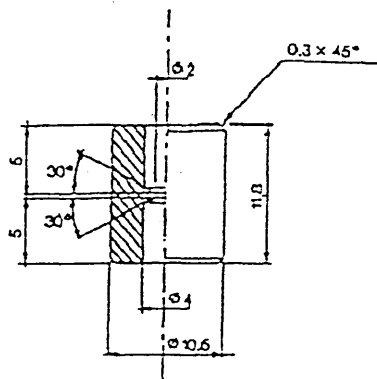
3033



Εικόνα 2

Περιβλήμα  $M_2$

Σύνδεσμος για μια βαλβίδα με αρσενικό άκρο και για μια βαλβίδα για θηλυκό άκρο

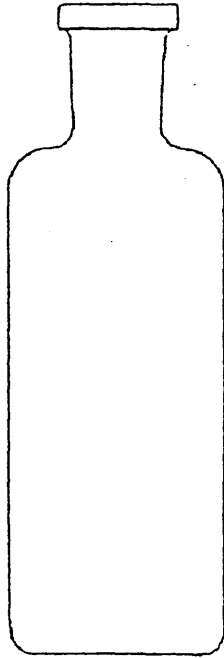


Εικόνα 3

Περιβλήμα  $M_1$

Σύνδεσμος για δύο βαλβίδες με αρσενικό άκρο

3034



Εικόνα 4

Φιαλίδιο Μεταφοράς  
(Χωρητικότητα 50 έως 100 ml)



Εικόνα 5  
Σύριγγα αερίου

### III. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝ ΥΔΡΟΞΕΙΔΙΩΝ ΤΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΚΑΛΙΟΥ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία που επιτρέπει την ανίχνευση καλλυντικών προϊόντων που περιέχουν σημαντικές ποσότητες ελεύθερων υδροξειδίων του νατρίου ή/και του καλίου, και τον προσδιορισμό των υδροξειδίων αυτών στα παρασκευάσματα για το ίσιωμα των μαλλιών και στα διαλυτικά παρασκευάσματα για τις παρανυχίδες.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Το ελεύθερο υδροξείδιο του νατρίου και του καλίου ορίζεται ως ο όγκος του οξέος αναφοράς που είναι αναγκαίος για την εξουδετέρωση του προϊόντος σε καθορισμένες συνθήκες και η λαμβανομένη ποσότητα εκφράζεται κατά βάρος με τη μορφή ελεύθερου υδροξειδίου του νατρίου.

#### 3. ΑΡΧΗ

Το δείγμα διαλύεται ή διασκορπίζεται μέσα στο νερό και τιτλοδοτείται με το οξύ αναφοράς. Καταγράφουμε τη μεταβολή της τιμής του pH ταυτόχρονα ενώ προσθέτουμε το οξύ: για ένα απλό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου ή του καλίου, το πέρας της τιτλοδότησης αντιστοιχεί με τη μέγιστη καθαρή μεταβολής της καταγεγραμμένης τιμής του pH.

Η κανονική καμπύλη τιτλοδότησης μπορεί να επηρεαστεί από την παρουσία:

- α) αμμωνίας και άλλων ασθενών οργανικών βάσεων, οι οποίες παρουσιάζουν μια μάλλον επίπεδη καμπύλη τιτλοδότησης. Στην περίπτωση αυτή, η αμμωνία αφαιρείται με εξάτμιση κάτω από μειωμένη πίεση, αλλά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος-
- β) αλάτων ασθενών οξέων, γεγονός που μπορεί να δώσει μια καμπύλη τιτλοδότησης, η οποία να παρουσιάζει διάφορα σημεία καμπής. Στην περίπτωση αυτή, μόνο το πρώτο μέρος της καμπύλης ως το πρώτο από τα σημεία αυτά καμπής αντιστοιχεί στην εξουδετέρωση του ιόντος υδροξυλίου που προέρχεται από το ελεύθερο υδροξείδιο του νατρίου ή του καλίου.

Συνιστάται επίσης μια άλλη μέθοδος τιτλοδότησης μέσα σε οινόπνευμα εάν αποδειχθεί ότι υπάρχει υπερβολική αλληλεπίδραση των αλάτων ασθενών ανόργανων οξέων.

Ενώ είναι θεωρητικά δυνατόν να βρεθούν και άλλες ισχυρές διαλυτές βάσεις, όπως είναι το υδροξείδιο του λιθίου ή το τεταρτοταγές υδροξείδιο του αμμωνίου, τα οποία δίνουν ένα υψηλό pH, η παρουσία τους στον τύπο αυτό καλλυντικού προϊόντος είναι πάρα πολύ απίθανη.

#### 4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ



- 4.1. Αντιδραστήρια
  - 4.1.1. Αλκαλικό ρυθμιστικό διάλυμα αναφοράς με pH 9,18 στους 25 ° C: διάλυμα 0,05 M τετραβορικού νατρίου ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ).
- 4.2. Εξοπλισμός
  - 4.2.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
  - 4.2.2. Πεχάμετρο.
  - 4.2.3. Ηλεκτρόδιο υάλου.
  - 4.2.4. Ηλεκτρόδιο αναφοράς καλομέλινα.
- 4.3. Διαδικασία

Ρυθμίστε το πεχάμετρο με τη βοήθεια του ρυθμιστικού διαλύματος αναφοράς (4.1.1.).

Προπαρασκευάστε ένα διάλυμα ή υδρόλυμα 10 % του προς ανάλυση προϊόντος μέσα σε νερό και διηθήστε. Μετρήστε το pH. Εάν είναι ίσο ή υψηλότερο από 12, είναι αναγκαίο να διενεργηθεί προσδιορισμός.

## 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

- 5.1. Τίτλοδοτηση σε υδατικό μέσο
  - 5.1.1. Αντιδραστήρια
    - 5.1.1.1. Τίτλοδοτημένο διάλυμα 0,1 N υδροχλωρικού οξέος.
  - 5.1.2. Εξοπλισμός
    - 5.1.2.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
    - 5.1.2.2. Πεχάμετρο, κατά προτίμηση με σύστημα καταγραφής.
    - 5.1.2.3. Ηλεκτρόδιο υάλου.
    - 5.1.2.4. Ηλεκτρόδιο καλομέλινα αναφοράς.
  - 5.1.3. Διαδικασία

Ζυγίστε με ακρίβεια μέσα σε ένα ποτήρι μια λήψη δοκιμαστικού δείγματος μεταξύ 0,5 και 1 g. Σε περίπτωση παρουσίας αμμωνίας, προσθέστε μερικά σφαιρίδια υάλου. Τοποθετήστε το ποτήρι μέσα σ' έναν ξηραντήρα κενού, αφαιρέστε τον αέρα με τη βοήθεια μιας υδραντλίας μέχρις ότου η οσμή της αμμωνίας να μην είναι πλέον αντιληπτή (περίπου 3 ώρες).

Διαλύστε ή διασκορπίστε το υπόλειμμα σε 100 ml νερού. Τιτλοδοτήστε με τη βοήθεια του διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 0,1 N (5.1.1.1) καταγράφοντας τη μεταβολή του pH (5.1.2.2).

#### 5.1.4. Υπολογισμοί

Προσδιορίστε τα σημεία καμπής της καμπύλης τιτλοδότησης. Όταν το πρώτο σημείο καμπής παρουσιάζεται σε pH κατώτερο από 7, το δείγμα δεν περιέχει υδροξείδιο του νατρίου ή του καλίου. Όταν σχηματίζονται δύο ή περισσότερα σημεία καμπής της καμπύλης, μόνο το πρώτο πρέπει να ληφθεί υπόψη.

Σημειώστε τον όγκο του διαλύματος τιτλοδότησης στο πρώτο αυτό σημείο καμπής.

Έστω ότι: V ο όγκος του διαλύματος τιτλοδότησης σε ml, M το βάρος της λήψης του δοκιμαστικού δείγματος σε g.

Η συγκέντρωση υδροξειδίου του νατρίου ή/και καλίου στο δείγμα εκφράζεται σε ποσοστό % κατά βάρος υδροξειδίου του νατρίου με τον τύπο:

$$\% \text{ υδροξειδίου του νατρίου} = 0,4 \frac{V}{M}$$

Μπορεί να παρουσιαστεί η περίπτωση κατά την οποία, παρά τις ενδείξεις για την παρουσία αρκετά σημαντικής ποσότητας υδροξειδίου του νατρίου ή/και του καλίου, η καμπύλη τιτλοδότησης να μην παρουσιάζει ευκρινές σημείο καμπής. Στην περίπτωση αυτή, πρέπει να διενεργηθεί νέος προσδιορισμός σε ισοπροπανόλη.

## 5.2. Τιτλοδότηση μέσα σε ισοπροπανόλη

### 5.2.1. Αντιδραστήρια

#### 5.2.1.1. Ισοπροπανόλη

#### 5.2.1.2. Τιτλοδοτημένο υδατικό διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1,0 N.

#### 5.2.1.3. Το διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,1 N σε ισοπροπανόλη προπαρασκευάζεται αμέσως πριν από τη χρήση, με αραιώση του υδατικού διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 1,0 N με ισοπροπανόλη.

## 5.2.2. Εξοπλισμός

5.2.2.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

5.2.2.2. Πεχάμετρο, κατά προτίμηση με σύστημα καταγραφής.

5.2.2.3. Ηλεκτρόδιο υάλου.

5.2.2.4. Ηλεκτρόδιο αναφοράς καλομέλανα.

## 5.2.3. Διαδικασία

Ζυγίστε με ακρίβεια σε ένα ποτήρι 150 ml λήψη δοκιμαστικού δείγματος μεταξύ 0,5 και 1 g.

Σε περίπτωση παρουσίας αμμωνίας, προσθέστε μερικά σφαιρίδια υάλου, τοποθετήστε το ποτήρι σε έναν ξηραντήρα κενού, αφαιρέστε τον αέρα με τη βοήθεια μιας υδραντλίας μέχρις ότου η οσμή της αμμωνίας να μην είναι πλέον αντιληπτή (περίπου 3 ώρες).

Διαλύστε ή διακορπίστε το υπόλειμμα σε 100 ml ισοπροπανόλης. Τίτλοδοτήστε με το διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,1 N μέσα σε ισοπροπανόλη (5.2.1.3), καταγράφοντας τη μεταβολή του φαινομένου pH (5.2.2.2).

## 5.2.4. Υπολογισμοί

Η ίδια μέθοδος όπως στο σημείο 5.1.4. Το πρώτο σημείο καμπής είναι ορατό σε φαινόμενο pH περίπου 9.

## 5.3. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (2)

Για περιεκτικότητα της τάξης του 5 % ως Na(OH) κατά βάρος, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο παράλληλων προσδιορισμών που διενεργήθηκαν πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,25 %.

## IV. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΟΞΑΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΛΚΑΛΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΤΟΥ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΕΡΙΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ ΚΟΜΗΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος που περιγράφεται παρακάτω είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό και την ανίχνευση του οξαλικού οξέος και των αλκαλικών αλάτων του μέσα σε προϊόντα περιποίησης της κόμης.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί μέσα σε άχρωμα υδατικά ή αλκοολικά διαλύματα και πλύματα (lotions), τα οποία περιέχουν 5 % περίπου οξαλικό οξύ ή ισοδύναμο ποσοστό επί τοις εκατό αλκαλικού οξαλικού άλατος.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε οξαλικό οξύ ή/και αλκαλικά άλατα του οξέος αυτού, που προσδιορίζεται σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, εκφράζεται σε ποσοστό % κατά βάρος ελεύθερου οξαλικού οξέος στο δείγμα.

## 3. ΑΡΧΗ

Αφού αφαιρεθούν οι επιφανειακά ενεργοί ανιονικές ουσίες με τη βοήθεια υδροχλωριδίου της *p*-τολουιδίνης, το οξαλικό οξύ ή/και τα οξαλικά άλατα καταβυθίζονται με μορφή οξαλικού ασβεστίου- έπειτα διενεργείται διήθηση του διαλύματος. Το ίζημα διαλύεται έπειτα σε θειικό οξύ και τιτλοδοτείται με τη βοήθεια υπερμαγγανικού καλίου.

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Διάλυμα οξικού αμμωνίου 5 % κατά βάρος.
- 4.2. Διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου 10 % κατά βάρος.
- 4.3. Αιθανόλη (95 % όγκο/όγκο).
- 4.4. Τετραχλωριούχος άνθρακας.
- 4.5. Διαιθυλαιθέρας.
- 4.6. Διάλυμα διυδροχλωριδίου της *p*-τολουιδίνης 6,8 % κατά βάρος.
- 4.7. Διάλυμα υπερμαγγανικού καλίου 0,1 N.
- 4.8. Θειικό οξύ 20 % κατά βάρος.
- 4.9. Υδροχλωρικό οξύ 10 % κατά βάρος.
- 4.10. Οξικό νάτριο x 3 H<sub>2</sub>O.
- 4.11. Παγόμορφο οξικό οξύ.
- 4.12. Θειικό οξύ (1 : 1).
- 4.13. Κορεσμένο διάλυμα υδροξειδίου του βαρίου.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Διαχωριστικές χοάνες, 500 ml.
- 5.2. Ποτήρια, 50 και 600 ml.
- 5.3. Γυάλινα χωνιά διήθησης G-4.
- 5.4. Ογκομετρικοί κύλινδροι, 25 και 100 ml.
- 5.5. Σιφώνια, 10 ml.
- 5.6. Φιάλες για διήθηση εν κενώ, 500 ml.
- 5.7. Αντλία νερού.
- 5.8. Βαθμολογημένο θερμόμετρο από 0 έως 100 ° C.
- 5.9. Θερμαινόμενος μαγνητικός αναδευτήρας.
- 5.10. Μαγνητικές ράβδοι ανάδευσης επενδυμένες με τεφλόν.
- 5.11. Προχοϊδα, 25 ml.
- 5.12. Κωνικές φιάλες 250 ml.

## 6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- 6.1. Ζυγίστε 6 έως 7 g δείγματος σε ένα γυάλινο ποτήρι των 50 ml, φέρτε το pH στο 3 με τη βοήθεια αραιού υδροχλωρικού οξέος (4.9), έπειτα μεταγγίστε το διάλυμα με τη βοήθεια 100 ml αποσταγμένου ύδατος σε μια διαχωριστική χοάνη. Προσθέστε έπειτα 25 ml αιθανόλης (4.3), 25 ml διαλύματος διυδροχλωριδίου της ρ-τολουϊδίνης (4.6) και 25 έως 30 ml τετραχλωριούχου άνθρακα (4.4) και ανακινήστε δυνατά το μείγμα.
- 6.2. Μετά το διαχωρισμό των φάσεων, αφαιρέστε το υποκείμενο στρώμα (οργανική φάση), επαναλάβετε την εκχύλιση με τη βοήθεια των αντιδραστηρίων που αναφέρονται στο σημείο 6.1 και αφαιρέστε πάλι την οργανική φάση.
- 6.3. Μεταγγίστε το υδατικό διάλυμα σε ένα γυάλινο ποτήρι 600 ml και αφαιρέστε τον υπόλοιπο τετραχλωριούχο άνθρακα φέροντας το διάλυμα σε βρασμό.
- 6.4. Προσθέστε 500 ml διαλύματος οξικού αμμωνίου (4.1), φέρτε το διάλυμα σε βρασμό (5.9), προσθέστε 10 ml θερμού διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου

(4.2) στο διάλυμα που βράζει, αναδεύοντας ταυτόχρονα, έτσι ώστε να σχηματισθεί ίζημα.

- 6.5. Ελέγξτε εάν το ίζημα είναι πλήρες προσθέτοντας μερικές σταγόνες διαλύματος χλωρισόχου ασβεστίου (4.2), αφήστε να κρυώσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσθέστε αναδεύοντας (5.10) 200 ml αιθανόλης (4.3) και αφήστε το να ηρεμήσει 30 λεπτά.
- 6.6. Διηθήστε το υγρό μέσα σε μια γυάλινη χοάνη διήθησης (5.3), μεταφέρετε το ίζημα μέσα στη χοάνη διήθησης με μια μικρή ποσότητα θερμού ύδατος (50 έως 60 ° C) και πλύνετε το ίζημα με κρύο νερό.
- 6.7. Πλύντε το ίζημα πέντε φορές με λίγη αιθανόλη (4.3) και διαιθυλαιθέρα (4.5), έπειτα διαλύστε το ίζημα μέσα σε 50 ml θερμού θετικού οξέος (4.8) αφαιρώντας το τελευταίο δια μέσου της χοάνης διήθησης κάτω από μειωμένη πίεση.
- 6.8. Μεταγγίστε το διάλυμα χωρίς καμία απώλεια σε μια κωνική φιάλη (5.12) και τιτλοδοτήστε με τη βοήθεια ενός διαλύματος υπερμαγγανικού καλίου (4.7) μέχρις ότου επιτευχθεί ένας ασθενής ροδόχρους χρωματισμός.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος εκφρασμένη σε οξαλικό οξύ, σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος, υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ οξαλικό οξύ} = \frac{A \times 4,50179 \times 100}{E \times 1000}$$

όπου:

A = η κατανάλωση υπερμαγγανικού καλίου 0,1 N, μετρημένη σύμφωνα με το σημείο 6.8.

E = η ποσότητα δείγματος που χρησιμοποιήθηκε στο σημείο 6.1. σε γραμμάρια.

4,50179 = ο συντελεστής της μετατροπής για το οξαλικό οξύ.

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (3)

Για περιεκτικότητα σε οξαλικό οξύ της τάξης του 5 % κατά βάρος, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο παράλληλων προσδιορισμών που διενεργήθηκαν πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,15 %.

## 9. ANΙΧΝΕΥΣΗ

## 9.1. Αρχή

Το οξαλικό οξύ ή/και τα οξαλικά άλατα καταβυθίζονται με τη μορφή οξαλικού ασβεστίου και διαλύονται μέσα σε θειικό οξύ. Προσθέτουμε έπειτα λίγο διάλυμα υπερμαγγανικού καλίου, το οποίο αποχρωματίζεται και προκαλεί το σχηματισμό διοξειδίου του άνθρακα. Περνώντας αυτό το διοξείδιο του άνθρακα μέσα από ένα διάλυμα υδροξειδίου του βαρίου, προκαλούμε το σχηματισμό ενός λευκού ιζήματος (γαλακτώδες) ανθρακικού βαρίου.

## 9.2. Διαδικασία

9.2.1. Υποβάλτε ένα μέρος του δείγματος για ανάλυση στην επεξεργασία που περιγράφεται στα σημεία 6.1 έως 6.3 παραπάνω, ώστε να αφαιρεθούν τα απορρυπαντικά που μπορεί να περιέχει.

9.2.2. Σε 10 ml περίπου διαλύματος, που λήφθηκε σύμφωνα με το σημείο 9.2.1, προσθέστε με την άκρη μιας σπάτουλας λίγο οξικό νάτριο (4.10) και οξυνίστε το διάλυμα με μερικές σταγόνες παγόμορφου οξικού οξέος (4.11).

9.2.3. Προσθέστε διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου 10 % (4.2) και διηθήστε το διάλυμα. Διαλύστε το ίζημα του οξαλικού ασβεστίου σε 2 ml θειικού οξέος (1 : 1) (4.12).

9.2.4. Μεταγγίστε το διάλυμα μέσα σε ένα δοκιμαστικό σωλήνα και προσθέστε σταγόνα προς σταγόνα 0,5 ml περίπου διαλύματος υπερμαγγανίου καλίου 0,1 N (4.7). Εάν υπάρχει οξαλικό άλας, το διάλυμα αποχρωματίζεται, αργά στην αρχή και μετέπειτα γρήγορα.

9.2.5. Αμέσως μετά την προσθήκη του υπερμαγγανικού καλίου, τοποθετήστε πάνω στο δοκιμαστικό σωλήνα ένα μικρό γυάλινο σωλήνα κατάλληλων διαστάσεων ο οποίος να είναι εφοδιασμένος με πώμα. Θερμάνετε ελαφρά το περιεχόμενο και συλλέξτε το διοξείδιο του άνθρακος που σχηματίστηκε μέσα σε ένα κορεσμένο διάλυμα υδροξειδίου του βαρίου (4.13). Ο σχηματισμός, μετά από 3 έως 5 λεπτά, ενός γαλακτώδους νέφους ανθρακικού βαρίου δείχνει την παρουσία οξαλικού οξέος.

## V. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΧΛΩΡΟΦΟΡΜΙΟΥ ΜΕΣΑ ΣΤΙΣ ΟΔΟΝΤΟΚΡΕΜΕΣ

## 1 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό με χρωματογραφία αέριας φάσης του χλωροφορμίου μέσα στις οδοντόκρεμες. Η μέθοδος προβλέπεται για τον προσδιορισμό χλωροφορμίου έως 5 %.

## 2 ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα χλωροφορμίου, που προσδιορίζεται από τη μέθοδο αυτή, εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος του προϊόντος.

### 3. ΑΡΧΗ

Φέρουμε την οδοντόκρεμα σε αιώρημα μέσα σε ένα μείγμα διμεθυλοφορμαμίδιου και μεθανόλης, προσθέτοντας μια ορισμένη ποσότητα ακετονιτριλίου σαν εσωτερικό πρότυπο. Μετά από φυγοκέντρωση, αναλύουμε ένα μέρος της υγρής φάσης με αέρια χρωματογραφία και υπολογίζουμε την περιεκτικότητα σε χλωροφόρμιο.

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Porapak Q, ή chromosorb 101 ή ισοδύναμα (80 έως 100 mesh).

4.2. Ακετονιτρίλιο.

4.3. Χλωροφόρμιο.

4.4. Διμεθυλοφορμαμίδιο.

4.5. Μεθανόλη.

4.6. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου:

Μεταφέρετε με σιφώνιο 5 ml και διμεθυλοφορμαμίδιου (4.4) σε μια ογκομετρική φιάλη 50 ml και προσθέστε περίπου 300 mg (M) ακετονιτριλίου επακριβώς ζυγισμένου. Συμπληρώστε ως τη χαραγή με διμεθυλοφορμαμίδιο και αναμειξίτε.

4.7. Διάλυμα για τον προσδιορισμό του συντελεστή σχετικής απόκρισης: Μεταφέρετε με σιφώνιο 5 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.6) σε μια ογκομετρική φιάλη 10 ml και προσθέστε περίπου 300 mg (M1) χλωροφορμίου (4.3) επακριβώς ζυγισμένου. Συμπληρώστε ως τη χαραγή με διμεθυλοφορμαμίδιο και αναμειξίτε.

### 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

5.1. Αναλυτικός ζυγός.

5.2. Χρωματογράφος αέριος φάσης, εφοδιασμένος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας.

5.3. Σύριγγα έγχυσης 5 ή 10 ml, βαθμολογημένη κατά 0.1 ml.

5.4. Σιφώνια ογκομετρικά 1,4 και 5 ml.

5.5. Ογκομετρικές φιάλες χωρητικότητας 10 και 50 ml.

5.6. Δοκιμαστικός σωλήνας περίπου 50 ml με βιδωτό πώμα, Sovirel France ή



παρόμοιος. Το εσωτερικό του πώματος είναι εφοδιασμένο με μια πλάκα από πλαστική ύλη της οποίας η μία όψη είναι καλυμμένη με τεφλόν.

5.7. Φυγοκεντρίτης.

6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

6.1. Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας

6.1.1. Υλικό στήλης: ύαλος ελικοειδής.

Μήκος: 150 cm.

Εσωτερική διάμετρος 4 mm.

Εξωτερική διάμετρος 6 mm.

6.1.2. Πλήρωση: Porapak Q ή Chromosorb 101 ή ισοδύναμο 80 έως 100 mesh (4.1).

6.1.3. Ανιχνευτής: ιονισμός φλόγας.

Ρυθμίστε την ευαισθησία του κατά τρόπο ώστε μετά από έγχυση τριών  $\mu\text{L}$  του διαλύματος 4.7, το ύψος της κορυφής του ακετονιτριλίου να καλύπτει περίπου τα τρία τέταρτα του συνόλου της κλίμακας.

6.1.4. Φέρον αέριο: άζωτο, παροχή 65 ml/min.

Βοηθητικό αέριο: υδρογόνο

Ρυθμίστε την παροχή των αερίων στο επίπεδο του ανιχνευτή ιονισμού φλόγας κατά τρόπο ώστε η παροχή του αέρα ή του οξυγόνου να είναι πενταπλάσια έως δεκαπλάσια του υδρογόνου

6.1.5. Θερμοκρασίες

Διάταξη εισόδου: 210 °C.

Ανιχνευτής: 210 °C.

Στήλη: 175 °C.

6.1.6. Καταγραφέας

Ταχύτητα εκτύλιξης: 100 cm/h περίπου.

6.2. Προπαρασκευή του δείγματος

Διενεργήστε τη λήψη του δοκιμαστικού δείγματος από ένα σωλήνα ο οποίος δεν έχει ακόμη ανοιχτεί. Αφαιρέστε το ένα τρίτο του περιεχομένου, σφραγίστε πάλι το σωλήνα, αναμειξτε προσεκτικά μέσα στο σωλήνα και έπειτα λάβετε το προς ανάλυση δείγμα.

## 6.3. Προσδιορισμός

- 6.3.1. Ζυγίστε, με ακρίβεια 10 mg, 6 ή 7g (M0) οδοντόκρεμας, η οποία έχει υποστεί επεξεργασία σύμφωνα με το σημείο 6.2 μέσα σε ένα σωλήνα με βιδωτό πώμα (5.6) και προσθέστε τρία σφαιρίδια υάλου.
- 6.3.2. Μεταφέρετε, με τη βοήθεια σιφωνίου, 5 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.6), 4 ml διμεθυλοφορμαμίδιου (4.4) και 1 ml μεθανόλης (4.5) μέσα στο σωλήνα, σφραγίστε με το βιδωτό πώμα και ομογενοποιήστε.
- 6.3.3. Αναδεύστε επί μισή ώρα με τη βοήθεια ενός μηχανικού αναδευτήρα και φυγοκεντρίστε επί 15 λεπτά, διατηρώντας το σωλήνα κλειστό, με ταχύτητα τέτοια ώστε να υπάρξει σαφής διαχωρισμός των φάσεων. (Παρατήρηση: Συμβαίνει ορισμένες φορές η υγρή φάση να μην είναι διαυγής μετά τη φυγοκέντρωση. Μπορούμε να βελτιώσουμε την κατάσταση προσθέτοντας 1 έως 2 g χλωριούχου νατρίου μέσα στην υγρή φάση και έπειτα να φυγοκεντρίσουμε πάλι.)
- 6.3.4. Εγχύστε 3 ml του διαλύματος αυτού (6.3.3) υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στο σημείο 6.1. Επαναλάβετε την ενέργεια αυτή. Υπό τις συνθήκες που αναφέρονται παραπάνω, μπορούμε να δώσουμε τους ακόλουθους χρόνους καθυστέρησης:
- Μεθανόλη: περίπου 1 λεπτό.
- Ακετονιτρίλιο: περίπου 2,5 λεπτά.
- Χλωροφόρμιο: περίπου 6 λεπτά.
- Διμεθυλοφορμαμίδιο: 15 λεπτά
- 6.3.5. Προσδιορισμός του συντελεστή σχετικής απόκρισης. Εγχύστε 3 ml του διαλύματος (4.7) για τον καθορισμό του συντελεστή αυτού. Επαναλάβετε την ενέργεια αυτή. Προσδιορίζετε καθημερινά το συντελεστή σχετικής απόκρισης.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

## 7.1. Υπολογισμός της σχετικής απόκρισης

- 7.1.1. Μετρήστε το ύψος και το πλάτος στο μισό ύψος των κορυφών του ακετονιτρίλιου και του χλωροφορμίου και υπολογίστε το εμβαδόν των δύο κορυφών με τον τύπο: ύψος x πλάτος στο μισό ύψος.
- 7.1.2. Προσδιορίστε το εμβαδόν των κορυφών του ακετονιτρίλιου και του χλωροφορμίου στα χρωματογραφήματα που λήφθηκαν σύμφωνα με το σημείο 6.3.5 και υπολογίστε τη σχετική απόκριση  $f_s$  με τη βοήθεια του τύπου:

$$f_s = \frac{A_s \cdot M_i}{M_s \cdot A_i} = \frac{A_s \cdot I/10 M}{A_i \cdot M_i}$$

όπου:

$f_s$  = ο συντελεστής σχετικής απόκρισης για το χλωροφόρμιο.

$A_s$  = το εμβαδόν της κορυφής του χλωροφορμίου (6.3.5).

$A_i$  = το εμβαδόν της κορυφής του ακετονιτριλίου (6.3.5).

$M_s$  = η ποσότητα του χλωροφορμίου σε mg ανά 10 ml διαλύματος που αναφέρεται στο σημείο 6.3.5 (=  $M_1$ ).

$M_i$  = η ποσότητα ακετονιτριλίου σε mg ανά 10 ml διαλύματος που αναφέρεται στο σημείο 6.3.5 (=  $1/10 M$ ).

Υπολογίστε το μέσο όρο των τιμών που υπολογίστηκαν.

## 7.2. Υπολογισμός της περιεκτικότητας σε χλωροφόρμιο

### 7.2.1. Υπολογίστε, σύμφωνα με τον τρόπο που περιγράφεται στο σημείο

7.1.1, το εμβαδόν των κορυφών του χλωροφορμίου και του ακετονιτριλίου των χρωματογραφημάτων που ελήφθησαν σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στο σημείο 6.3.4.

7.2.2. Υπολογίστε την περιεκτικότητα σε χλωροφόρμιο της οδοντόκρεμας με τη βοήθεια του τύπου:

$$f_s = \frac{A_s \cdot M_i}{M_s \cdot A_i} = \frac{A_s \cdot 1/10 M}{A_i \cdot M_1}$$

όπου:

% X = η περιεκτικότητα σε χλωροφόρμιο της οδοντόκρεμας σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος.

$A_s$  = το εμβαδόν της κορυφής του χλωροφορμίου (6.3.4).

$A_i$  = το εμβαδόν της κορυφής του ακετονιτριλίου (6.3.4).

$M_{sx}$  = το βάρος σε mg του δείγματος που εξετάστηκε σύμφωνα με το σημείο 6.3.1 (=  $1\ 000 \times M_o$ ).

Mi = η ποσότητα του ακετονιτριλίου σε mg ανά 10 ml διαλύματος που ελήφθη σύμφωνα με το σημείο 6.3.2 (1/10 M).

Υπολογίστε το μέσο όρο των περιεκτικοτήτων που ελήφθησαν και εκφράστε το αποτέλεσμα με προσέγγιση 0,1 %.

#### 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (4)

Για μια περιεκτικότητα σε χλωροφόρμιο περίπου 3 % κατά βάρος, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο παράλληλων προσδιορισμών που διενεργήθηκαν πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,3 %.

### VI. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΨΕΥΔΑΡΓΥΡΟΥ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό του ψευδαργύρου που υπάρχει μέσα στα καλλυντικά προϊόντα με μορφή χλωριούχου άλατος, θειικού άλατος, φαινολοσουλφονικού άλατος ή συνδυασμού διαφόρων από τα άλατα αυτά.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα % κατά βάρος σε ψευδάργυρο του δείγματος, βρίσκεται με σταθμικό προσδιορισμό της σύμπλοκης ένωσης Ζn (2-μεθυλο-8-υδροξυκινολίνη).2.

#### 3. ΑΡΧΗ

Ο ψευδάργυρος στο διάλυμα καταβυθίζεται σε όξινο περιβάλλον με τη μορφή Ζn (2-μεθυλο-8-υδροξυκινολίνη) 2. Μετά από διήθηση και ξήρανση, το ίζημα ζυγίζεται.

#### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Συμπυκνωμένη αμμωνία 25 % κατά βάρος (d 20/4 = 0,91).
- 4.2. Παγόμορφο οξικό οξύ.
- 4.3. Οξικό αμμώνιο.
- 4.4. 2-μεθυλο-8-υδροξυκινολίνη
- 4.5. Διάλυμα αμμωνίας 6 % (βάρος/όγκο). Φέρτε 240 g συμπυκνωμένης αμμωνίας (4.1) σε μια ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml, συμπληρώστε ως τη χαραγή με αποσταγμένο νερό και αναμείξτε.

- 4.6. Διάλυμα οξικού αμμωνίου 0,2 M Διαλύστε μέσα σε μια ογκομετρική φιάλη 1 000 ml, 15,4 g οξικού αμμωνίου (4.3) μέσα σε αποσταγμένο νερό. Συμπληρώστε ως τη χαραγή με αποσταγμένο νερό και αναμειξίτε.
- 4.7. Διάλυμα 2-μεθυλο-8-υδροξυκινολίνης  
Σε μια ογκομετρική φιάλη των 100 ml διαλύστε 5 g 2-μεθυλο-8-υδροξυκινολίνης σε 12 ml παγομορφου οξικού οξέος. Συμπληρώστε ως τη χαραγή με αποσταγμένο νερό και αναμειξίτε.
5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Ογκομετρικές φιάλες των 100 και 1 000 ml.
- 5.2. Γυάλινα ποτήρια των 400 ml.
- 5.3. Ογκομετρικοί κύλινδροι των 50 και 150 ml.
- 5.4. Βαθμολογημένα σιφώνια των 10 ml.
- 5.5. Γυάλινες χοάνες διήθησης G-4.
- 5.6. Φιάλες διήθησης κενού των 500 ml.
- 5.7. Υδραντλίες.
- 5.8. Θερμόμετρο βαθμολογημένο από 0 μέχρι 100 ° C.
- 5.9. Ξηραντήρας εφοδιασμένος με κατάλληλο ξηραντικό μέσο και υγραμετρικό δείκτη, π.χ. σιλικάζελ ή ανάλογο υλικό.
- 5.10. Πυριετήριο ρυθμισμένο σε θερμοκρασία 150 +/- 2 ° C.
- 5.11. Πεχόμετρο.
- 5.12. Θερμαινόμενη πλάκα.
- 5.13. Χάρτινος ηθμός Whatman αριθ. 4 ή ανάλογος

## 6. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- 6.1. Ζυγίστε 5 έως 10 g (M) του προς εξέταση δείγματος, το οποίο πρέπει να περιέχει 50 έως 100 mg περίπου ψευδαργύρου, τοποθετήστε τα σε ένα ποτήρι των 400 ml, προσθέστε 50 ml αποσταγμένου νερού και αναμειξτε.
- 6.1.1. Διηθείστε το μείγμα με τη βοήθεια αντλίας κενού, αν είναι αναγκαίο, και διαχωρίστε το διήθημα.
- 6.1.2. Επαναλάβετε την εκχύλιση με 50 ml απεσταγμένου νερού. Διηθείστε και αναμειξτε τα διηθήματα.
- 6.2. Προσθέστε 2 ml διαλύματος 2-μεθυλο-8-υδροξικινολίνης (4.7) για κάθε 10 mg ψευδαργύρου που περιέχονται μέσα στο διάλυμα (6.1.2) και αναμειξτε.
- 6.3. Αραιώστε με 150 ml αποσταγμένου νερού, φέρτε τη θερμοκρασία (5.12) του διαλύματος σε 60 ° C και προσθέστε αναδεύοντας 45 ml διαλύματος οξικού αμμωνίου 0,2 M (4.6).
- 6.4. Αναδεύοντας, φέρτε το pH του διαλύματος σε 5,7 ως 5,9 με τη βοήθεια αμμωνιακού διαλύματος 6 % (4.5)- ελέγξτε το pH του διαλύματος με τη βοήθεια ενός πεχαμέτρου.
- 6.5. Αφήστε το διάλυμα να ηρεμήσει επί 30 λεπτά, αναρροφήστε το διάλυμα με τη βοήθεια μιας υδραντλίας δια μέσου μιας χοάνης διήθησης G-4, η οποία να έχει ξηρανθεί προηγουμένως (150 ° C) και να έχει ζυγισθεί μετά από ψύξη (Μο). Πλύντε το συγκεντρωθέν ίζημα μέσα στη χοάνη με 150 ml αποσταγμένου νερού το οποίο να έχει θερμομανθεί στους 95 ° C.
- 6.6. Τοποθετήστε τη χοάνη μέσα σε ένα πυριστατήριο ξήρανσης ρυθμισμένο σε 150 ° C και αφήστε να ξηρανθεί επί μία ώρα.
- 6.7. Βγάλτε τη χοάνη από το πυριστατήριο, τοποθετήστε την σε έναν ξηραντήρα (5.9) και προσδιορίστε τη μάζα της (M1), αφού την έχετε φέρει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Υπολογίστε την περιεκτικότητα του δείγματος σε ψευδάργυρο σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ Ψευδάργυρος} = \frac{(M_1 - M_0) \times 17,12}{M}$$

όπου:

M = το βάρος σε γραμμάρια του μέρους του δείγματος που εξετάστηκε σύμφωνα με το σημείο 6.1.

M<sub>0</sub> = το βάρος σε γραμμάρια της κενής και ξηρής χοάνης διήθησης (6.5).

$M_1$  = το βάρος σε γραμμάρια της χράνης διήθησης με το ιζήμα (6.7).

#### 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (5)

Για μια περιεκτικότητα σε ψευδάργυρο της τάξης του 1 % κατά βάρος η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο παράλληλων προσδιορισμών που διενεργήθηκαν πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,1 %.

### VII. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΛΟΣΟΥΛΦΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει την ανίχνευση και τον προσδιορισμό του φαινολοσουλφονικού οξέος σε καλλυντικά προϊόντα όπως είναι τα αεροζόλ και τα πλύματα (lotions) προσώπου.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε φαινολοσουλφονικό οξύ, η οποία προσδιορίζεται σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βάρος του άνυδρου φαινολοσουλφονικού ψευδαργύρου στο προϊόν.

#### 3. ΑΡΧΗ

Το προς εξέταση δείγμα συγκεντρώνεται υπό μειωμένη πίεση, διαλύεται μέσα στο νερό και καθαρίζεται με εκχύλιση χλωροφορμίου. Ο προσδιορισμός του φαινολοσουλφονικού οξέος διενεργείται με βρωμιούχοδιομετρία επί ενός κλάσματος του διηθημένου υδατικού διαλύματος.

#### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ 36 % κατά βάρος ( $d_{20/4} = 1,18$ ).

4.2. Χλωροφόρμιο.

4.3. Βουτανόλη-1.

4.4. Παγόμορφο οξικό οξύ.

4.5. Ιωδιούχο κάλιο.

4.6. Βρωμιούχο κάλιο.

- 4.7. Ανθρακικό νάτριο.
- 4.8. Σουλφανλικό οξύ.
- 4.9. Νιτρώδες νάτριο.
- 4.10. Διάλυμα βρωμικού καλίου 0,1 N.
- 4.11. Διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 N.
- 4.12. Υδατικό διάλυμα αμύλου 1 % (βάρος/όγκο).
- 4.13. Υδατικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου 2 % (βάρος/όγκο).
- 4.14. Υδατικό διάλυμα νιτρώδους νατρίου 4,5 % (βάρος/όγκο).
- 4.15. Διάλυμα διθιζόνης 0,05 % (βάρος/όγκο) σε χλωροφόρμιο.
- 4.16. Διαλύτης ανάπτυξης

Βουτανόλη-1/παγόμορφο οξικό οξύ/νερό (= 4 + 1 + 5 μέρη κατ' όγκο). Μετά από ανάμειξη μέσα σε μια διαχωριστική χοάνη, αφαιρούμε την υποκείμενη φάση.

- 4.17. Αντιδραστήριο Pauly

Διαλύστε, θερμαίνοντας, 4,5 g σουλφανλικού οξέος (4.8) σε 45 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (4.1) και αραιώστε με νερό έως τα 500 ml. Ψύξτε 10 ml του διαλύματος σε μια λεκάνη με παγωμένο νερό και προσθέστε, αναδεύοντας, 10 ml ενός ψυχρού διαλύματος νιτρώδους νατρίου (4.14).

Αφήστε το μείγμα να ηρεμήσει επί 15 λεπτά σε 0°C (στη θερμοκρασία αυτή, το διάλυμα είναι σταθερό για μία έως τρεις ημέρες) και προσθέστε, ακριβώς πριν από τον ψεκασμό (7.5), 20 ml διαλύματος ανθρακικού νατρίου (4.13).

- 4.18. Πλάκες από κυτταρίνη έτοιμες για χρωματογραφία λεπτών στρώματων. σχήματος 20 x 20 cm και πάχους του ροφητικού στρώματος 0.25 mm.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Σφαιρικές φιάλες με εσφυρισμένο πώμα των 100 ml.
- 5.2. Διαχωριστική χοάνη των 100 ml.
- 5.3. Κωνικές φιάλες με εσφυρισμένο πώμα των 250 ml.



- 5.4. Προχοϊδα των 25 ml.
- 5.5. Σιφώνια μεταφοράς των 1,2 και 10 ml.
- 5.6. Ογκομετρικό σιφώνιο των 5 ml.
- 5.7. Σύριγγα έγχυσης των 10 ml, βαθμολογημένη κατά 1/10ml.
- 5.8. Θερμόμετρο βαθμολογημένο από 0 έως 100οC.
- 5.9. Λουτρό ύδατος εξοπλισμένο με θερμαντικό στοιχείο.
- 5.10. Πυριατήριο, επαρκώς αεριζόμενο και ρυθμιζόμενο σε 80οC.
- 5.11. Συνήθη εξαρτήματα για χρωματογραφία λεπτών στρωμάτων.

## 6. ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

## 7. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

- 7.1. Σε έξι σημεία από τη γραμμή εκκίνησης, η οποία βρίσκεται σε απόσταση 1 cm από το κάτω μέρος της πλάκας από κυταρρίνη (4.18), εναποθέστε διαδοχικά με τη βοήθεια μιας σύριγγας (5.7) 5 ml υπολείμματος (6) ή δείγματος.
- 7.2. Θέστε την πλάκα μέσα σε μια δεξαμενή η οποία περιέχει ήδη το διαλύτη ανάπτυξης (4.16) και περιμένετε έως ότου το μέτωπο του διαλύτη φθάσει σε μια γραμμή η οποία απέχει 15 cm από τη γραμμή εκκίνησης.
- 7.3. Αφού βγάλετε την πλάκα από τη δεξαμενή, αποξηράνετε την πλάκα σε 80 ° C ως την πλήρη εξάτμιση του οξικού οξέος. Έπειτα ψεκάστε το διάλυμα του ανθρακικού νατρίου (4.13) πάνω στην πλάκα και αφήστε να ξηρανθεί στον αέρα.
- 7.4. Καλύψτε τη μισή πλάκα με μια γυάλινη πλάκα και ψεκάστε το διάλυμα διειζόνης 0.05 % (4.15) πάνω στο μη καλυμένο μισό. Σε περίπτωση παρουσίας ιόντων ψευδαργύρου εμφανίζονται κηλίδες ερυθροπορφυρές πάνω στο χρωματογράφημα.
- 7.5. Καλύψτε έπειτα με μια γυάλινη πλάκα το μισό της πλάκας η οποία δέχθηκε τον ψεκασμό της διειζόνης και ψεκάστε το αντιδραστήριο Pauly (4.17) στο άλλο μισό. Σε περίπτωση παρουσίας φαινολοσουλφονικού οξέος, μια κηλίδα καφεκιτρινωπή (ρ-φαινολοσουλφονικό οξύ) τιμής Rf 0.26 περίπου και μια κηλίδα κίτρινη (m-φαινολοσουλφονικό οξύ) τιμής Rf 0.45 περίπου, εμφανίζονται πάνω στο χρωματογράφημα.

## 8. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

- 8.1. Ζυγίστε 10 g δείγματος ή υπολείμματος (6) σε μια σφαιρική φιάλη των 100 ml και, με τη βοήθεια ενός περιστροφικού εξατμιστή κενού, συμπυκνώστε το μέχρις ότου σχεδόν ξηρανθεί σε ένα λουτρό ύδατος θερμοκρασίας 40 ° C.
- 8.2. Μεταφέρετε με σιφώνιο 10 ml νερού (V1) μέσα σε μια φιάλη και διαλύστε το υπόλειμμα της συμπύκνωσης (8.1) με θέρμανση.
- 8.3. Μεταγγίστε ποσοτικά το διάλυμα μέσα σε μια διαχωριστική χοάνη (5.2), εκχυλίστε το υδατικό διάλυμα δύο φορές με 20 ml χλωροφορμίου (4.2). Μετά από κάθε διαχωρισμό, απορρίψτε τη φάση του χλωροφορμίου.
- 8.4. Διηθήστε το υδατικό διάλυμα με τη βοήθεια ενός πιχλωτού ηθμού. Ανάλογα με την προβλεπόμενη περιεκτικότητα σε φαινολοσουλφονικό οξύ, μεταφέρετε με σιφώνιο 1 ή 2 ml (V2) του διηθήματος μέσα σε μια κωνική φιάλη των 250 ml (5.3) και διαλύστε με νερό μέχρις ότου σχηματιστούν 75 ml διαλύματος.
- 8.5. Προσθέστε 2,5 ml υδροχλωρικού οξέος 36 % (4.1) και 2,5 g βρωμιούχου καλίου (4.6), αναμείξτε και θερμάντε το διάλυμα σε 50 ° C μέσα σε λουτρό ύδατος.
- 8.6. Με τη βοήθεια μιας προχοϊδας, προσθέστε την ποσότητα του διαλύματος βρωμικού καλίου 0,1 N (4.10) που είναι αναγκαίο για να μεταβληθεί σε κίτρινο το χρώμα του διαλύματος, του οποίου η θερμοκρασία διατηρείται σε 50 ° C.
- 8.7. Προσθέστε 3 ml διαλύματος βρωμικού καλίου (4.10), πωματίστε τη φιάλη και τοποθετήστε την 10 λεπτά σε λουτρό ύδατος σε 50 ° C. Εάν μετά από τα 10 αυτά λεπτά, ο χρωματισμός έχει εξαφανιστεί, προσθέστε ακόμα 2 ml διαλύματος βρωμικού καλίου (4.10) και ξαναβάλτε την πωματισμένη φιάλη επί 10 ακόμα λεπτά σε λουτρό ύδατος σε 50 ° C. Σημειώστε τη συνολική ποσότητα του προστεθέντος βρωμικού καλίου (a).
- 8.8. Ψύξτε το διάλυμα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, προσθέστε 2 g ιωδιούχου καλίου (4.5) και αναμείξτε.
- 8.9. Με τη βοήθεια ενός διαλύματος θειοθειικού νατρίου 0,1 N (4.11), τιτλοδοτήστε το σχηματιζόμενο ιώδιο. Στο τέλος της τιτλοδότησης, προσθέστε μερικές σταγόνες διαλύματος αμύλου (4.12) για δείκτη. Σημειώστε την ποσότητα του χρησιμοποιηθέντος θειοθειικού νατρίου (b).
9. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ
- Υπολογίστε την περιεκτικότητα του δείγματος ή του υπολείμματος σε φαινολοσουλφονικό ψευδαργυρο σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά βόρος με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ φαινολοσουλφονικό άλας του ψευδαργύρου} = \frac{(a-b) \times V_1 \times 0,00514 \times 100}{m \times V_2}$$

όπου:

$a$  = η συνολική ποσότητα σε ml του προστεθέντος διαλύματος βρωμικού καλίου 0,1 N (8.7).

$b$  = η ποσότητα σε ml του διαλύματος θειοθειικού νατρίου 0,1 N που χρησιμοποιήθηκε κατά την τιτλοδότηση (8.9).

$m$  = η ποσότητα του προϊόντος ή του υπολείμματος που εξετάστηκε (8.1) σε mg.

$V_1$  = ο όγκος σε ml του ληφθέντος διαλύματος σύμφωνα με το σημείο 8.2.

$V_2$  = ο όγκος σε ml του διςλυθέντος υπολείμματος συμπύκνωσης που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση (8.4).

Παρατήρηση: Στην περίπτωση των αεροζόλ, το αποτέλεσμα των μετρήσεων σε % κατά βάρος του υπολείμματος (6) πρέπει να μετατραπεί σε ποσοστό επί τοις εκατό του αρχικού προϊόντος.

#### 10. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (6)

Για μια περιεκτικότητα περίπου 5 % φαινολοσουλφονικού ψευδαργύρου, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο παράλληλων προσδιορισμών που διενεργήθηκαν πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,5 %.

#### 11. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Τα πλύματα (Iotions) προσώπου και τα αποσμητικά μπορούν να περιέχουν κατ' ανώτατο όριο 6 % κατά βάρος φαινολοσουλφονικού ψευδαργύρου (4-υδροξυβενζολοσουλφονικού ψευδαργύρου). Εξαιτίας της διατύπωσης αυτής, είναι αναγκαίο να καθορισθεί όχι μόνο η περιεκτικότητα σε φαινολοσουλφονικό οξύ, αλλά επίσης και η περιεκτικότητα σε ψευδάργυρο. Εάν πολλαπλασιαστεί με το συντελεστή 0,1588 η περιεκτικότητα σε φαινολοσουλφονικό ψευδάργυρο που υπολογίστηκε στο σημείο 9, λαμβάνεται η ελάχιστη περιεκτικότητα σε ψευδάργυρο του προϊόντος επί τοις εκατό κατά βάρος, όπως προκύπτει από την καταμετρηθείσα περιεκτικότητα σε φαινολοσουλφονικό οξύ. Η πραγματική περιεκτικότητα σε ψευδάργυρο, όπως μετράται με τις σταθμικές μεθόδους (ανατρέξτε στις σχετικές διατάξεις), μπορεί ωστόσο να είναι υψηλότερη, λόγω του ότι τα καλλυντικά προϊόντα μπορούν επίσης να περιέχουν χλωριούχο και θειικό ψευδάργυρο.

- (1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/DIS 5725.
- (2) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/DIS 5725.
- (3) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/DIS 5725.
- (4) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/DIS 5725.
- (5) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/DIS 5725.

3056

#### VIII. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΑΕΡΟΛΥΜΑΤΩΝ

Συσκευή αερολυμάτων (αεροζόλ) σημαίνει το σύνολο το αποτελούμενο από ένα δοχείο μεταλλικό, υάλινο ή πλαστικό μίας χρήσεως περιέχον συμπιεσμένο αέριο, υγροποιημένο ή διαλυμένο υπό πίεση μετά ή άνευ υγρού, αλοιφής ή κόνεως και εφοδιασμένο με διάταξη εκπομπής επιτρέπουσα την έξοδο του περιεχομένου υπό μορφή στερεών ή θγρών σωματιδίων εν αιωρήσει εντός αερίου ή υπό μορφή αφρού, αλοιφής ή κόνεως ή σε υγρά κατάσταση.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

(Κανονισμός 3)

## Ι. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΟΜΗ

## ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Ο ιωδιμετρικός προσδιορισμός του υπεροξειδίου του υδρογόνου στα καλλυντικά είναι εφικτός, απουσία κάθε άλλου παράγοντα οξειδώσεως που αντιδρά με τα ιωδιούχα προς σχηματισμό ιωδίου. Πριν, λοιπόν, επιχειρηθεί ο ιωδιμετρικός προσδιορισμός του υπεροξειδίου του υδρογόνου, πρέπει απαραίτητα να ανιχνευθούν και να πιστοποιηθούν οι άλλοι παράγοντες οξειδώσεως που ενδεχομένως παρευρίσκονται. Η πιστοποίηση αυτή πραγματοποιείται με δύο χειρισμούς, ο πρώτος αφορά τα υπερθειικά, τα βρωμικά και το υπεροξειδίο του υδρογόνου, ο δεύτερος το υπεροξειδίο του βαρίου.

## Α. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΩΝ ΥΠΕΡΘΕΪΚΩΝ, ΤΩΝ ΒΡΩΜΙΚΩΝ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ

## 1. ΑΡΧΗ

Το υπερθειικό νάτριο, κάλιο και αμμώνιο, το βρωμικό κάλιο και νάτριο και το υπεροξειδίο του υδρογόνου, ανεξάρτητα αν προέρχεται ή όχι από υπεροξειδίο του βαρίου, ανιχνεύονται με κατιούσα χρωματογραφία επί χάρτου, με τη βοήθεια δύο διαλυτών αναπτύξεως.

## 2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

## 2.1. Υδατικά διαλύματα αναφοράς 0,5 % ( m/v ) των ακόλουθων ενώσεων :

## 2.1.1. υπερθειικό νάτριο

## 2.1.2. υπερθειικό κάλιο

## 2.1.3. υπερθειικό αμμώνιο

## 2.1.4. βρωμικό κάλιο

## 2.1.5. βρωμικό νάτριο

## 2.1.6. υπεροξειδίο του υδρογόνου

## 2.2. Διαλύτης αναπτύξεως Α, αιθανόλη 80 % ( v/v )

2.3. Διαλύτης αναπτύξεως Β , βενζόλιο-μεθανόλη-ισσαμυλική αλκοόλη - νερό ( 34-38-18-10 ν)

2.4. Αντιδραστήριο Α , υδατικό διάλυμα ιωδιούχου καλίου 10 % ( m/v )

2.5. Αντιδραστήριο Β , υδατικό διάλυμα αμύλου 1 % ( m/v )

2.6. Αντιδραστήριο Γ , υδροχλωρικό οξύ ( m/m )

2.7. Υδροχλωρικό οξύ 4 N

### 3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

3.1. Χάρτης χρωματογραφίας ( Whatman N 3 και N 4 ή ισοδύναμος )

3.2. Μικροσιφώνιο ενός ml

3.3. Ογκομετρικές φιάλες των 10 ml

3.4. Πτυχωτοί ηθμοί

3.5. Συνήθης κατασκευή για καπούσα χρωματογραφία επί χάρτου

### 4. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

4.1. Προϊόντα διαλυτά στο νερό

Ετοιμάζονται δύο διαλύματα δείγματος , για διάλυση αντίστοιχα 1 και 5 g του προϊόντος σε 100 ml νερού . Για την πραγματοποίηση της χρωματογραφίας επί χάρτου , που περιγράφεται στο 5 , χρησιμοποιείται 1 ml από καθένα από τα δύο αυτά διαλύματα .

4.2. Προϊόντα μερικώς διαλυτά στο νερό

4.2.1. Ζυγίζονται 1 και 5 g δείγματος , φέρονται σε αιώρηση σε 50 ml νερού , ο όγκος συμπληρώνεται ανά 100 ml και ακολουθεί ανάμιξη . Διηθούνται τα δύο αιωρήματα με πτυχωτό ηθμό ( 3.4 ) και χρησιμοποιείται 1 ml από καθένα από τα δύο διηθήματα για την πραγματοποίηση της χρωματογραφίας επί χάρτου , που περιγράφεται στο 5 .

4.2.2. Ετοιμάζονται δύο νέα αιωρήματα από 1 και 5 g δείγματος σε 50 ml νερού , οξινίζονται με αραιό υδροχλωρικό οξύ ( 2.7 ) , ο όγκος τους συμπληρώνεται στα 100 ml με νερό και ακολουθεί ανάμιξη . Διηθούνται τα αιωρήματα με πτυχωτό ηθμό ( 3.4 ) και χρησιμοποιείται 1 ml από καθένα από τα δύο διηθήματα για την πραγματοποίηση της χρωματογραφίας επί χάρτου , που περιγράφεται στο 5 .

## 4.3. Κρέμες

Ομοιογενοποιούνται χωριστά 5 και 20 g προϊόντος σε 100 ml νερού, και χρησιμοποιούνται τα προϊόντα της διασποράς για την πραγματοποίηση της χρωματογραφίας επί χάρτου, που περιγράφεται στο 5.

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Μέσα σε δύο θαλάμους, για καπούσα χρωματογραφία επί χάρτου, τοποθετείται ορισμένη ποσότητα των διαλυτών αναπτύξεως A (2.2) και B (2.3) και κορέννεται οι θάλαμοι με τους ατμούς των διαλυτών τουλάχιστον επί 24 ώρες.
- 5.2. Σε ταινία χάρτου για χρωματογραφία (Whatman No 3 ή ισοδύναμο) μήκους 40 cm και πλάτους 20 cm (3.1.) ή άλλου κατάλληλου σχήματος, αποτίθεται σε έκαστο σημείο εκκινήσεως 1 μl από ένα από τα διηθημένα διαλύματα δείγματος και αναφοράς, που έχουν παρασκευαστεί όπως αναφέρονται στα σημεία 4. και 2.1, και εξατμίζεται ο διαλύτης στον αέρα.
- 5.3. Τοποθετείται η ταινία (5.2) μέσα στο θάλαμο, που έχει πληρωθεί με το διαλύτη A (5.1) και αφήνεται το χρωματογράφημα προς ανάπτυξη, μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη διανύσει 35 cm (περίπου 15 ώρες).
- 5.4. Επαναλαμβάνονται οι χειρισμοί, που περιγράφονται στα 5.2 και 5.3, με χάρτη χρωματογραφίας (Whatman No 4 ή ισοδύναμο) (3.1) και το διαλύτη B. Αφήνεται το χρωματογράφημα προς ανάπτυξη, μέχρις ότου ο διαλύτης αναπτύξεως διανύσει 35 cm (περίπου 5 ώρες).
- 5.5. Έπειτα από την ανάπτυξη αποσύρονται οι ταινίες χάρτου από τους θαλάμους και ξηραίνονται στον αέρα.
- 5.6. Εμφάνιση των κηλίδων με ψεκασμό:
- 5.6.1. Με το αντιδραστήριο A (2.4) και αμέσως μετά με το αντιδραστήριο B (2.5) οι κηλίδες των υπερξειικών εμφανίζονται πρώτα στο χρωματογράφημα, ακολουθούμενες από τις κηλίδες του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Οι κηλίδες αυτές επίσημαίνονται με γραφίδα.
- 5.6.2. Με το αντιδραστήριο Γ (2.6) στα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται στο 5.6.1. Εμφανίζονται κηλίδες τεφρο-κιανές, που υποδηλώνουν την παρουσία βρωμικών.
- 5.7. Υπό τις συνθήκες που αναφέρονται ανωτέρω, για τους διαλύτες A (2.2) και B (2.3), οι τιμές R<sub>F</sub> των διαλυμάτων αναφοράς (2.1) είναι οι ακόλουθες:

Διαλύτης

Διαλύτης

A (2.2)

A (2.3)

Υπερθειικό νάτριο	0,40	0,10
Υπερθειικό κάλιο	0,40	0,02 + 0,05
Υπερθειικό αμμώνιο	0,50	0,10 + 0,20
Βρωμικό νάτριο	0,40	0,20
Βρωμικό κάλιο	0,40	0,10 + 0,20
Υπεροξειδίο του υδρογόνου	0,80	0,80

## B. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΒΑΡΙΟΥ

### 1. ΑΡΧΗ

Η παρουσία υπεροξειδίου του βαρίου καταδεικνύεται:

- αφενός με σχημασμό υπεροξειδίου του υδρογόνου, έπειτα από οξίνιση του δείγματος ( A , 4.2 ),

- αφετέρου με την ποσοποίηση ιόντων βαρίου.

Απουσία υπερθεικών ( A ) : Προστίθεται αραιό θεικό οξύ σε ένα μέρος του διαλύματος του οξινού δείγματος ( B , 4.1 ) , οπότε σχηματίζεται λευκό \* ήμα θειικού βαρίου . Η παρουσία ιόντων βαρίου μέσα στο διάλυμα δείγματος ( 4.1 ) επιβεβαιώνεται με χρωματογραφία επί χάρτου , όπως αναφέρεται κατωτέρω στο 5.

Σε περίπτωση ταυτόχρονης παρουσίας υπεροξειδίου του βαρίου και υπερθεικών ( B , 4.2 ) , έπειτα από αλκαλική τήξη του αδιάλυτου και διάλυση σε υδροχλωρικό οξύ , καταδεικνύεται η παρουσία ιόντων βαρίου με χρωματογραφία και/ή με καταβύθιση υπό μορφή θειικών .

### 2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

2.1. Μεθανόλη

2.2. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ 36 % ( m/m )

2.3. Υδροχλωρικό οξύ 6 N

2.4. Θειικό οξύ 4 N



- 2.5. Rhodizonate disodique
  - 2.6. Χλωριούχο βάριο (  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  )
  - 2.7. Ανυδρο ανθρακικό νάτριο
  - 2.8. Υδατικό διάλυμα χλωριούχου βαρίου 1 % ( m/v )
  - 2.9. Διαλύτης αναπτύξεως, μεθανόλη - υδροχλωρικό οξύ πυκνότητας 36 % - νερό ( 80 + 10 + 10 v )
  - 2.10. Αντιδραστήριο , υδατικό διάλυμα rhodizonate disodique 0,1 % ( m/v ) το διάλυμα παρασκευάζεται μόλις πριν από τη χρήση του
3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 3.1. Μικροσιφώνιο των 5 ml
  - 3.2. Χωνευτήρια από λευκόχρυσο
  - 3.3. Ογκομετρικές φιάλες των 100 ml
  - 3.4. Χάρτης χρωματογραφίας ( Schleicher και Schull 2043b ή ισοδύναμος ) . Τοποθετείται επί μια νύκτα μέσα στο θάλαμο χρωματογραφίας ( A , 3.5 ) που περιέχει το διαλύτη ( B , 2.9 ) και ξηραίνεται
  - 3.5. Πτυχωτά ηθμοί
  - 3.6. Συνήθης συσκευή για ανιούσα χρωματογραφία επί χάρτου
4. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
- 4.1. Προϊόντα που δεν περιέχουν υπερθειικά
    - 4.1.1. εμαιογενοποιούνται ή διαλύονται 2 g του προϊόντος μέσα σε 50 ml νερού , και με υδροχλωρικό οξύ ( B , 2.3 ) φέρεται το ΡΗ του διαλύματος περίπου στο 1 .
    - 4.1.2. Μεταγγίζεται το διάλυμα ( αιώρημα ) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml . Προστίθεται νερό μέχρι της χαραγής και το σύνολο αναμιγνύεται . Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για να πραγματοποιηθεί η χρωματογραφία επί χάρτου , που περιγράφεται στο 5 , και για την ανίχνευση του βαρίου , με καθίζηση , ως θεικού .

- 4.2. Προϊόντα που περιέχουν υπερθειικά
- 4.2.1. Ομοιογενοποιούνται ή διαλύονται 2 g του προϊόντος σε 10 ml νερού και διηθούνται.
- 4.2.2. Προστίθεται στο ξηρανθέν υπόλειμμα ανθρακικό νάτριο ( B , 2.7 ) στο 7 πλαίσιο έως 10 πλαίσιο του βάρους του , αναμιγνύεται και τήκεται το μίγμα σε χωνευτήριο στο λευκόχρυσο ( B , 3.2 ) επί μισή ώρα .
- 4.2.3. Ακολουθεί ψύξη στη θερμοκρασία περιβάλλοντος , και το προϊόν της τήξεως φέρεται σε αιώρηση μέσα σε 50 ml νερού και διηθείται ( B , 3.5 ) .
- 4.2.4. Ακολουθεί διάλυση σε υδροχλωρικό οξύ 6 N ( B , 2.3 ) και ο όγκος φέρεται στα 10 ml με νερό . Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για την πραγματοποίηση της χρωματογραφίας επί χάρτου , που περιγράφεται στο 5 , και για την ανίχνευσή του βαρίου , με καθίζηση , ως θειικού

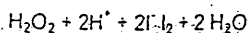
## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Μέσα σε θάλαμο , για ανιούσα χρωματογραφία επί χάρτου , τοποθετείται δρισμένη ποσότητα διαλύτη ( B , 2.9 ) και κορέννται ο θάλαμος τουλάχιστον επί 15 ώρες
- 5.2. Σε φύλλο χάρτου χρωματογραφίας , επεξεργασμένου προηγουμένως όπως υποδεικνύεται στο ( B , 3.4 ) , αποτίθενται αντίστοιχα σε τρία σημεία εκκινήσεως , 5 ml από καθένα από τα παρασκευασμένα διαλύματα ( B , 4.1.2 ) και ( B , 4.2.4 ) , και από το διάλυμα αναφοράς ( B , 2.8 ) .
- 5.3. Εξατμίζεται ο διαλύτης στον αέρα και αφήνεται το χρωματογράφημα να αναπτυχθεί καθέτως , μέχρις ότου ο διαλύτης αναπτύξεως διατρέξει 30 cm .
- 5.4. Εξάγεται το χρωματογράφημα από το θάλαμο και ξηραίνεται στον αέρα .
- 5.5. Οι κηλίδες στο χρωματογράφημα εμφανίζονται με ψεκασμό με το αντιδραστήριο B , 2.10
- Εμφανίζονται παρουσία βαρίου , ερυθρές κηλίδες με R f περίπου 0,10 .

## Γ. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ

### 1. ΑΡΧΗ

Ο κωδιομετρικός προσδιορισμός του υπεροξειδίου του υδρογόνου βασίζεται στην ακόλουθη αντίδραση:



Πρόκειται για μια βραδεία αντίδραση , αλλά είναι δυνατό να επιταχυνθεί με πρόσθετη

μολυβδαινικού αμμωνίου. Το σχηματιζόμενο ιώδιο, προσδιοριζόμενο με μεθόδους τιτλοδοτήσεως με διάλυμα θειοθειικού νατρίου, επιτρέπει τον υπολογισμό της περιεκτικότητας σε υπεροξειδίο του υδρογόνου.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε υπεροξειδίο του υδρογόνου, προσδιοριζόμενη σύμφωνα με την παρούσα μέθοδο, εκφράζεται σε εκατοστιαίο ποσοστό της μάζας του προϊόντος.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

### 3.1. Θεικό οξύ 2 N

### 3.2. Ιωδιούχο κάλιο

### 3.3. Μολυβδαινικό αμμώνιο

### 3.4. Διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 N

### 3.5. Διάλυμα ιωδιούχου καλίου 10 % ( m/v ). Το διάλυμα παρασκευάζεται μόλις πριν από τη χρήση του.

### 3.6. Διάλυμα μολυβδαινικού αμμωνίου 20 % ( m/v )

### 3.7. Διάλυμα σκόλευ 1 % ( m/v )

## 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

### 4.1. Υάλινα ποτήρια των 100 ml

### 4.2. Προχοίδα των 50 ml

### 4.3. Ογκομετρικές φιάλες των 250 ml

### 4.4. Ογκομετρικοί κύλινδροι των 25 και 100 ml

### 4.5. Βαθμολογημένα σιφώνια των 10 ml

### 4.6. Κωνικές φιάλες των 250 ml

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Σε ποτήρια των 100 ml, ζυγίζεται ποσότητα ( m γραμμάρια ) του προϊόντος , που αντιστοιχεί σε 0,6 g περίπου υπεροξειδίου του υδρογόνου . Μεταφέρεται πασσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml με τη βοήθεια μικρής ποσότητας νερού, συμπληρώνεται μέχρι της χαραγής με νερό και αναμιγνύεται .
- 5.2. Μεταφέρονται με σιφώνιο , 10 ml του διαλύματος του δείγματος ( 5.1 ) , σε κωνική φιάλη των 250 ml ( 4.6 ) και προστίθενται διαδοχικά 100 ml θειϊκού οξέος 2 N ( 3.1 ) , 20 ml διαλύματος ιωδιούχου καλίου ( 3.5 ) και 3 σταγόνες διαλύματος μολυβδαινικού αμμωνίου ( 3.6 ) .
- 5.3. Τηλοδοτείται αμέσως το σχηματιζόμενο ιώδιο με τη βοήθεια του διαλύματος του θειοθειϊκού νατρίου 0,1 ( 3.4 ) και , ακριβώς πριν από την προσέγγιση του ισοδύναμου σημείου , προστίθενται μερικά ml του διαλύματος του αμύλου , ως δείκτης . Σημειώνεται η ποσότητα , σε ml , του θειοθειϊκού νατρίου 0,1 N που χρησιμοποιήθηκε ( V ) .
- 5.4. Σύμφωνα με τη διαδικασία που υποδεικνύεται στα 5.2 και 5.3 πραγματοποιείται λευκός προσδιορισμός , αντικαθιστώντας τα 10 ml διαλύματος του δείγματος με 10 ml νερού . Σημειώνεται η ποσότητα , σε ml , του θειοθειϊκού νατρίου 0,1 N που χρησιμοποιήθηκε ( V<sub>0</sub> ) .

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα του προϊόντος σε υπεροξειδίο υδρογόνου σε εκατοστιαίο ποσοστό της μάζας ( % ml/m ) , σύμφωνα με τον τύπο:

$$\begin{aligned} \% \text{ υπεροξειδίο του υδρογόνου} &= \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1000} \\ &= \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m} \end{aligned}$$

m = η ποσότητα σε γραμμάρια του εξεταζόμενου προϊόντος ( 5.1 )

V<sub>0</sub> = η ποσότητα , σε ml , του διαλύματος θειοθειϊκού 0,1 N που χρησιμοποιήθηκε για το λευκό προσδιορισμό ( 5.4 ) .

V = η ποσότητα , σε ml , του διαλύματος θειοθειϊκού 0,1 N που χρησιμοποιήθηκε κατά την τιτλοδότηση του διαλύματος του δείγματος ( 5.3 ) .

## 7. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητας , σε υπεροξειδίο του υδρογόνου , της τάξεως του 6 % ( ml/m ) , η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων 2 παραλλήλων προσδιορισμών , που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα , δεν πρέπει να υπερβαίνει 0,2 % .

## II. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΗΜΙ-ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΧΡΩΣΤΙΚΩΝ ΟΞΕΙΔΩΣΕΩΣ ΣΤΙΣ ΤΡΙΧΟΒΑΦΕΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει, στις τριχοβαφές με μορφή κρέμας και υγρού, την ανίχνευση και τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό των ακόλουθων ουσιών:

Όνομασία των ουσιών	Σύμβολο
Διαμινοβενζόλια	
1-2-διαμινοβενζόλιο ( ο-φαιλυλενοδιαμίνη )	( OPD )
1-3-διαμινοβενζόλιο ( μ-φαιλυλενοδιαμίνη )	( MPD )
1-4-διαμινοβενζόλιο ( π-φαιλυλενοδιαμίνη )	( PPD )
Διαμινοτολουόλια	
3-4-διαμινοτολουόλιο ( ο-τολουυλενοδιαμίνη )	( OTD )
2-4-διαμινοτολουόλιο ( μ-τολουυλενοδιαμίνη )	( MTD )
2-5-διαμινοτολουόλιο ( π-τολουυλενοδιαμίνη )	( PTD )
Διαμινοφαινόλες	
2-4-διαμινοφαινόλη	( DAP )
Υδροκινόνη	

1-4-διυδροξυβενζόλιο	( H )
α-ναφθόλη	( αN )
Πυρογαλλόλη	
1-2-3-τριυδροξυβενζόλιο	( P )
Ρεσορκίνη	
1-3-διυδροξυβενζόλιο	( R )

## 2. ΑΡΧΗ

Οι χρωστικές οξειδώσεως εκχυλίζονται , σε ΡΗ 10 , από τις βαφές με μορφή κρέμας ή υγρού , με τη βοήθεια αιθανόλης 96 % και ανιχνεύονται με μονοδιάστατη ( 5 ) ή/και δισδιάστατη ( 6 ) χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

Προκειμένου να πραγματοποιηθεί ο ημιποσοτικός προσδιορισμός των ουσιών , συγκρίνεται η χρωματογραφική εικόνα των δειγμάτων , που λαμβάνεται με τέσσερα συστήματα αναπτύξεως , προς εκείνη των διαλυμάτων των προϊόντων αναφοράς που έχουν υποβληθεί σε χρωματογραφία.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας .

- 3.1. Απόλυτη αιθανύλη
- 3.2. Ακετόνη
- 3.3. Αιθανόλη 96 % ( v/v )
- 3.4. Αμμωνία 25 % ( δ (20,4) = 0,91 )
- 3.5. L ( + ) ασκορβικό οξύ

- 3.6. Χλωροφόρμιο
- 3.7. Κυκλοεξάνιο
- 3.8. Αζωτο τεχνικό
- 3.9. Τολουόλιο
- 3.10. Βενζόλιο
- 3.11. 1-βουτανόλη
- 3.12. 2-βουτανόλη
- 3.13. Υποφωσφορώδες οξύ 50 %
- 3.14. Αντιδραστήριο διαζωνικό :

δύναται να χρησιμοποιείται :

- είτε το 4-νιτρο-1-βενζυλο-διαζωνικό άλας σταθεροποιημένο από ιόν σουλφονωμένου χλωροβενζαίου π.χ. ( ερυθρό 2 JN Francolor ή ισοδύναμο ) ,

- είτε το 2-χλωρο-4-νιτρο-1-βενζυλο-διαζωνικό άλας σταθεροποιημένο από το ναφθαλενό-βενζοϊκό ιόν π.χ. ( NNCO αντιδραστήριο - Ref No 74150 FLUKA ή ισοδύναμο ) .

- 3.15. Νιτρικός άργυρος
- 3.16. Πι-διμεθυλαμινοβενζαλδεΐδη
- 3.17. 2-5-διμεθυλοφαινόλη
- 3.18. Χλωριούχος σίδηρος ( III ) 6 H<sub>2</sub>O
- 3.19. Υδροχλωρικό οξύ 10 % m/v
- 3.20. Ουσίες αναφοράς

Οι ουσίες αναφοράς είναι εκείνες που υποδεικνύονται στην παράγραφο 1 « αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής » .

Στην περίπτωση αμινοπαραγώγων, η ουσία αναφοράς πρέπει να συνίσταται αποκλειστικά από την υδροχλωρική μορφή (μόνα η δι-) ή από τη μορφή βάσεως.

### 3.21. Διαλύματα αναφοράς 0,5 % ( m/v )

Παρασκευάζεται διάλυμα 0,5 % ( m/v ) από κάθε μια από τις ουσίες αναφοράς ( 3.20 ). Ζυγίζονται 50 g + 1 mg ουσίας αναφοράς σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml .

Προστίθενται 5 ml αιθανόλης 96 % ( 3.3 ).

Προστίθενται 250 mg ασκορβικού οξέος ( 3.5 ).

Καθίσταται αλκαλικό με το αμμωνιακό διάλυμα ( 3.4 ) μέχρι φαινομένου pH 10 .

Συμπληρώνεται στα 10 ml με αιθανόλη 96 % και αναμιγνύεται .

Τα διαλύματα μπορούν να διατηρηθούν επί μια εβδομάδα σε δροσερό μέρος , προστατευμένα από το φως .

Σε ορισμένες περιπτώσεις , κατά την προσθήκη του ασκορβικού οξέος και της αμμωνίας , είναι δυνατό να παραχθεί ίζημα . Πρέπει , τότε , να αφηθεί προς καταστάλαξη πριν γίνει ανάληψη

### 3.22. Διαλύτης αναπτύξεως

3.22.1. Ακετόνη - χλωροφόρμιο - τολουόλιο : 35-25-40 ( v/v )

3.22.2. Χλωροφόρμιο - κυκλοεξάνιο - απόλυτη αιθανόλη - αμμωνία 25 % 80-10- 10-1 ( v/v )

3.22.3. Βενζόλιο - δευτεροταγής βουτανόλη - νερό : 50-25-25 ( v/v ) . Αναδεύεται καλά το μίγμα και λαμβάνεται η υπερκείμενη φάση έπειτα από καταστάλαξη στη θερμοκρασία του εργαστηρίου \* ( μεταξύ 20 και 25 ° C )

3.22.4. 1-βουτανόλη - χλωροφόρμιο και αντιδραστήριο M : 7-70-23 ( v/v ) . Αφήνεται να κατασταλάξει προσεκτικά στους 20 - 25 ° C και παραλαμβάνεται η υποκείμενη φάση.

Παρασκευή του αντιδραστήριου M

NH <sub>4</sub> OH 25 % ( v/v ) ( 3.4 )	24 όγκος
Υποφωσφορώδες οξύ 50 % ( 3.13 )	1 όγκος
H <sub>2</sub> O	75 όγκος

Παρατήρηση



Οι διαλύτες αναπτύξεως , που περιέχουν αμμωνία , πρέπει να αναδεύονται καλά μόλις πριν από τη χρήση .

### 3.23. Εμφανιστές

#### 3.23.1. Αντιδραστήριο διαζωνιακό

Παρασκευάζεται υδατικό διάλυμα 5 % ( m/v ) του αντιδραστήριου ( 3.14 ) που έχει επιλεγεί . Το διάλυμα αυτό ετοιμάζεται τη στιγμή που θα χρησιμοποιηθεί .

#### 3.23.2. Αντιδραστήριο Ehrlich

Διαλύονται 2 g η-διμεθυλαμινοβενζαλδευδης ( 3.16 ) σε 100 ml υδατικού υδροχλωρικού οξέος 10 % ( m/v ) ( 3.19 ) .

#### 3.23.3. 2-5 διμεθυλοφαινόλη-χλωριούχος σίδηρος ( III ) 6H<sub>2</sub>O

Διάλυμα 1 :

διαλύεται 1 g διμεθυλοφαινόλης ( 3.17 ) σε 100 ml αιθανόλης 96 % ( 3.3 )

Διάλυμα 2 :

διαλύονται 4 g χλωριούχου σιδήρου ( III ) 6H<sub>2</sub>O ( 3.18 ) σε 100 ml αιθανόλης 96 % ( 3.3 )

Κατά τη διάρκεια της εμφάνισης ψεκάζεται χωριστά πρώτα το διάλυμα 1 , έπειτα το διάλυμα 2 .

#### 3.23.4. Αμμωνιακός νιτρικός άργυρος

Σε υδατικό διάλυμα 5 % ( m/v ) νιτρικού αργύρου ( 3.15 ) προστίθεται αμμωνία 25 % ( 3.4 ) μέχρι διαλύσεως του ιζήματος .

Το αντιδραστήριο αυτό παρασκευάζεται τη στιγμή της χρησιμοποίησής του . Δεν διατηρείται .

## 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

### 4.1. Εξοπλισμός εργαστηρίου για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

#### 4.1.1. Περιβλήμα από πλαστικό ή γυαλί που επιτρέπει τη διατήρηση της πλάκας χρωματογραφίας σε ατμόσφαιρα αζώτου κατά τη διάρκεια της αποθέσεως και μέχρι την

ανάπτυξη. Η προφύλαξη αυτή είναι αναγκαία, λαμβανομένης υπόψη της μεγάλης οξειδωσιμότητας ορισμένων χρωστικών.

- 4.1.2. Σύριγγα των 10 ml, βαθμολογημένη ανά 0,2 ml με βελόνα ευθέωςτμήματος ή καλύτερα « repeating dispenser », 50 ml, προσαρμοσμένη σε διάταξη ώστε να είναι δυνατή η διατήρηση της πλάκας υπό άζωτο.
- 4.1.3. Λεπτές στοιβάδες διοξειδίου του πυριτίου έτοιμες για χρήση, πάχους 0,25 mm διαστάσεων 20 x 20 cm (Macherey και Nagel Silice G-HR η ισοδύναμες).
- 4.2. Φυγόκεντρος 4 000 στροφών/μιν.
- 4.3. Σωλήνες φυγόκεντρου των 10 ml κλειόμενοι με ελικώτο βύσμα.

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

### 5.1. Επεξεργασία των δειγμάτων

Κατά το άνοιγμα του σωλήνα απορρίπτονται τα δύο ή τρία πρώτα cm κρέμας. Σε σωλήνα φυγόκεντρου (4.3), στον οποίο προηγουμένως διαβιβάστηκε άζωτο, εισάγονται:

300 mg ασκορβικού οξέος

3 g κρέμας ή 3 g ομοιογενοποιημένου υγρού

Προστίθενται μερικές σταγόνες αμμωνίας (3.4), αν το pH είναι κατώτερο του 10, και ο όγκος συμπληρώνεται στα 10 ml με αιθανόλη 96% (3.3).

Ομοιογενοποιείται το όλο υπό άζωτο, πωματίζεται, και έπειτα φυγόκεντρείται στις 4 000 στροφές/μν επί 10 λεπτά.

Χρησιμοποιείται το διάλυμα που επιπλέει.

### 5.2. Χρωματογραφία

#### 5.2.1 Απέθεση

Αποτίθεται υπό άζωτο, σε πλάκα διοξειδίου του πυριτίου (4.1.3) και σε 9 σημεία εκκινήσεως, 1 ml από καθένα από τα 11 διαλύματα αναφοράς.

Αυτά τα διαλύματα αναφοράς κατανέμονται ως εξής:

1      2      3      4      5      6      7      8      9

R	P	N	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	aN							

Εξάλλου αποτίθενται , σε κάθε ένα από τα σημεία 10 και 11 , 2 ml των διαλυμάτων δειγμάτων που λαμβάνονται όπως περιγράφεται στο 5.1.

Η πλάκα διατηρείται υπό άζωτο , μέχρις ότου υποβληθεί σε ανάπτυξη.

#### 5.2.2. Ανάπτυξη

Εισάγεται η πλάκα σε θάλαμο , στον οποίο προηγουμένως διαβιβάστηκε άζωτο και είναι κορεσμένος με έναν από τους 4 κατάλληλους διαλύτες ( 3.22 ) , και αφήνεται προς ανάπτυξη , σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ( 20 έως 25 ° C ) και στο σκότος, μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη διανύσει περίπου 15 cm από τη γραμμή εκκινήσεως.

Εξάγεται η πλάκα και ξηραίνεται , υπό άζωτο , σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

#### 5.2.3. Εμφάνιση

Ψεκάζεται αμέσως η πλάκα με έναν από τους 4 εμφανιστές που παρατίθενται στο 3.23 .

#### 5.2.4. Ανίχνευση

Συγκρίνονται τα Rf , και οι ληφθέντες χρωματισμοί για το δείγμα , με εκείνα των αποτεθειμένων ουσιών αναφοράς . Ο πίνακας 1 δίνει ενδεικτικά τα Rf και τους ληφθέντες χρωματισμούς , για κάθε ουσία αναφοράς , σε σχέση με το διαλύτη αναπτύξεως και τους εμφανιστές . Σε περίπτωση αμφίβολης ανίχνευσης , είναι δυνατό μερικές φορές να υπάρξει επιβεβαίωση προσθέτοντας στο δείγμα την αντίστοιχη ουσία αναφοράς.

#### 5.2.5. Ημι-ποσοτικός προσδιορισμός

Συγκρίνεται οπτικά η ένταση των κηλίδων , που αντιστοιχεί σε κάθε ανιχνευμένη ουσία κατά το 5.2.4 με πρότυπη σειρά γνωστής και κατάλληλης συγκεντρώσεως , που λαμβάνεται από την αντίστοιχη ουσία αναφοράς.

Όταν η συγκέντρωση του συστατικού του διαλύματος είναι πολύ υψηλή , αραιούται το προς απέθεση διάλυμα και διεξάγεται νέος προσδιορισμός .

Πίνακας 1

Τιμές Rf και χρωματισμοί που λαμβάνονται αμέσως μετά την εμφάνιση

Προϊόντα Αναφοράς	Διαλύτες Αναπτύξεως				Εμφανιστές			
	Rf				Χρωματισμοί			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Αντιδραστήριο διαζωνιακό (3.22.1)	Αντιδραστήριο Ehrlich (3.22.2)	Αντιδραστήριο διαμεθυλοφαινόλης (3.22.3)	Αντιδραστήριο νιτρικού αργύρου (3.22.4)
OPD	0.62	0.60	0.30	0.57	καστανό ασθενές			καστανό ασθενές
MPD	0.40	0.60	0.47	0.48	καστανοκίωδες*	κίτρινο	καστανό ασθενές	καστανό ασθενές
PPD	0.20	0.50	0.30	0.48	καστανό	ερυθρό έντονο	κίωδες*	
OTD	0.60	0.60	0.53	0.60	καστανό*	πορτοκαλί ασθενές	καστανό ασθενές	καστανό-τεφρό
MTD	0.40	0.67	0.45	0.60	καστανέρυθρο	κίτρινο	καστανό	μαύρο
PTD	0.33	0.65	0.37	0.70	καστανό	πορτοκαλί	κίωδες*	τεφρό
DAP	0.07		0	0.05	καστανό	πορτοκαλί	κίωδες	καστανό
H	0.50	0.35	0.80	0.20		πορτοκαλί	κίωδες	μαύρο*
aN	0.90	0.80	0.90	0.75	καστανοπορτοκαλί		κίωδες*	μαύρο
P	0.37		0.67	0.05	καστανό	κίωδες πολύ ασθενές	καστανό πολύ ασθενές	καστανό*
R	0.50	0.50	0.80	0.17	πορτοκαλί*	κίωδες ασθενές	καστανό πολύ ασθενές	καστανό ασθενές

Σημειώσεις:

1 Η OPD εμφανίζεται ασθενώς, ο διαλύτης (3.22.3) πρέπει να χρησιμοποιείται για σαφή διαχωρισμό της από την OTD.

2. (\*) Υποδηλώνει την καλύτερη εμφάνιση.

## 6. ΕΞΕΤΑΣΗ ΜΕ ΔΙΣΔΙΑΣΤΑΤΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ

Για τη δισδιάστατη χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, που περιγράφεται κατωτέρω, απαιτούνται τα ακόλουθα αντιδραστήρια:

- 6.1. ουσίες και διαλύματα αναφοράς
  - 6.1.1. β-ναφθόλη ( β-N )
  - 6.1.2. 2-αμινοφαινόλη ( DAP )
  - 6.1.3. 3-αμινοφαινόλη ( MAP )
  - 6.1.4. 4-αμινοφαινόλη ( PAP )
  - 6.1.5. 2-νιτρο-π-φαινυλενοδιαμίνη ( 2 NPPD )
  - 6.1.6. 4-νιτρο-ο-φαινυλενοδιαμίνη ( 4 NOPD )

Ετοιμάζεται διάλυμα 0,5 % ( m/v ) από κάθε μια από τις επί πλέον ουσίες αναφοράς, όπως υποδεικνύεται στο 3.2.1

## 6.2. Διαλύτης αναπτύξεως

- 6.2.1. Οξείκο αιθύλιο-κυκλοεξάνιο-αμμωνία 25 % ( 65-35-0,5 V )

## 6.3. Εμφανιστής

Σε θάλαμο αναπτύξεως, για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας, τοποθετείται υάλινο δοχείο. Μέσα στο δοχείο τοποθετούνται περίπου 2 g κρυσταλλικού ιωδίου και κλείνεται ο θάλαμος.

## 6.4. Χρωματογραφία

- 6.4.1. Χαράσσονται δύο γραμμές, όπως υποδεικνύεται στο σχήμα 1 επί της απορροφητικής στοιβάδας πλάκας χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας ( 4.1.3 )
- 6.4.2. Αποτίθενται, υπό άζωτο, στο σημείο εκκινήσεως 1 ( σχήμα 1 ), 1 έως 4 μl εκχυλίσματος ( 5.1 ). Η ποσότητα εξαρτάται από την ένταση των κηλίδων, που λαμβάνονται στο χρωματογράφημα ( 5.2 ).
- 6.4.3. Αποτίθενται, διανεμημένες μεταξύ των σημείων 2 και 3 ( σχήμα 1 ) οι χρωστικές οξειδώσεις που ανιχνεύθηκαν ( ή θεωρείται ότι ανιχνεύθηκαν ) στο 5.2. Απόσταση μεταξύ των σημείων : 1,5 cm. Αποτίθενται 2 μl από καθένα από τα διαλύματα αναφοράς, εξαιρέσει της DAP, από την οποία πρέπει να αποτεθούν 6 μl. Οι χειρισμοί διεξάγονται υπό άζωτο.

- 6.4.4. Επαναλαμβάνονται οι χειρισμοί , που περιγράφονται στο 6.4.3 για τα σημεία εκκινήσεως 4 και 5 ( σχήμα 1 ) , και η πλάκα διατηρείται υπό άζωτο μέχρι τη χρωματογραφία .
- 6.4.5. Σε θάλαμο χρωματογραφίας διαβιβάζεται άζωτο και εισάγεται κατάλληλη ποσότητα διαλύτη αναπτύξεως 3.22.2 . Η πλάκα ( 6.4.4 ) τοποθετείται μέσα στο θάλαμο και υποβάλλεται σε χρωματογραφία , κατά την πρώτη κατεύθυνση εκλούσεως ( σχήμα 1 ) , στο σκότος . Η χρωματογραφία διαρκεί μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη διανύσει τουλάχιστον 13 cm.
- 6.4.6. Η πλάκα εξάγεται από τον εν λόγω θάλαμο και τοποθετείται στο θάλαμο ( 4.1 ) , από τον οποίο προηγουμένως έχει διέλθει ρεύμα αζώτου για να εξατμιστούν τα υπολείμματα διαλύτη ( τουλάχιστον επί 60 λεπτά ) .
- 6.4.7. Με βαθμολογημένο σιφώνιο εισάγεται κατάλληλη ποσότητα του διαλύτη 6.2.1 σε θάλαμο , στον οποίο έχει διοχετευθεί άζωτο . Στο θάλαμο αυτό τοποθετείται η πλάκα στραμμένη κατά 90 ° σε σχέση με την πρώτη κατεύθυνση εκλούσεως ( 6.4.6 ) , και υποβάλλεται σε χρωματογραφία κατά τη δεύτερη κατεύθυνση , στο σκότος , μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη εγγίσει τη γραμμή που είναι χαραγμένη επί της απορροφητικής στοιβάδας . Εξάγεται η πλάκα από το θάλαμο και εξατμίζεται ο διαλύτης στον αέρα .
- 6.4.8. Εκτίθεται η πλάκα επί 10 λεπτά μέσα στο θάλαμο χρωματογραφίας με τους ατμούς ιωδίου ( 6.3 ) και ερμηνεύεται το δισδιάστατο χρωματογράφημα βάσει των ουσιών αναφοράς , που υποβλήθηκαν ταυτόχρονα σε χρωματογραφία ( πίνακας II ) .

#### Παρατήρηση

Για να επιτευχθεί ο μέγιστος χρωματισμός των κηλίδων , το χρωματογράφημα μετά από την εμφάνιση αφήνεται στον αέρα επί μισή ώρα .

- 6.4.9. Η παρουσία των χρωστικών οξειδώσεως , που παρατηρήθηκε στο 6.4.8, μπορεί να επιβεβαιωθεί κατά τρόπο ανεμφισβήτητο με επανάληψη των χειρισμών , που περιγράφονται στα 6.4.1 μέχρις 6.4.8 περιλαμβανομένου , φροντίζοντας να προστεθεί στο σημείο εκκινήσεως 1 , κοντά στην ποσότητα εκχυλίσματος που ορίζεται στο 6.4.2 , 1 μl των ουσιών αναφοράς που ανιχνεύθηκαν στο 6.4.8.

Αν δεν ανεβρεθεί καμιά άλλη κηλίδα η ερμηνεία του αρχικού χρωματογραφήματος είναι σωστή .

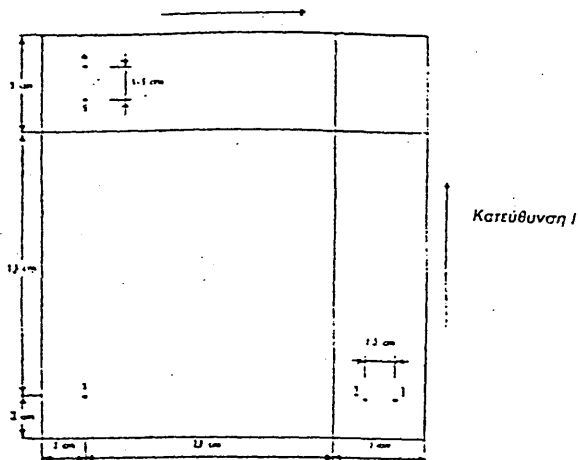
## ΠΙΝΑΚΑΣ II

Χρωματισμός των ουσιών αναφοράς έπειτα από  
χρωματογραφία και εμφάνιση με ατμούς ιωδίου

Ουσίες αναφοράς	Χρωματισμός έπειτα από χρωματογραφία από εμφάνιση με ατμούς ιωδίου
R	πολύ ανοικτό καστανό
P	καστανό
$\alpha$ -N	ιώδες
$\beta$ -N	ανοικτό καστανό
H	ιώδες-καστανό
MPD	κίτρινο-καστανό
PPD	ιώδες-καστανό
MTD	καστανό σκούρο
PTD	κίτρινο-καστανό
DAP	καστανό σκούρο
AOP	πορτοκαλί
MAP	κίτρινο-καστανό
PAP	ιώδες-καστανό
2-NPPD	καστανό
4-NOFD	πορτοκαλί

Σχήμα I

Κατεύθυνση II



### III. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΝΙΤΡΩΔΩΝ

#### A. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

##### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή ενδείκνυται για την ανίχνευση των νιτρωδών στα καλλυντικά. Εφαρμόζεται ιδίως στις κρέμες, τα προϊόντα σε μορφή πάστας και στις οδοντόκρεμες.

##### 2. ΑΡΧΗ

Ο χαρακτηρισμός των νιτρωδών πραγματοποιείται με τη βοήθεια της φαινυλοδραζόνης της 2-αμινοβενζαλδεΐδης.

##### 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 3.1. Αραιό θειικό οξύ : αραιώνονται 2 ml πυκνού θειικού οξέος (  $d(20.4) = 1.84$  ) σε 11 ml απεσταγμένου νερού.
- 3.2. Αραιό υδροχλωρικό οξύ : αραιώνεται 1 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (  $d(20.4) = 1.19$  ) σε 11 ml απεσταγμένου νερού.
- 3.3. Μεθανόλη
- 3.4. Διάλυμα φαινυλοδραζόνης της 2-αμινοβενζαλδεΐδης ( αντιδραστήριο Nitrite δ ) σε μεθανόλη.



Ζυγίζονται 2 g Nitrite 8 και εισάγονται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml . Προστίθενται , σε σταγόνες 4 ml αραιού υδροχλωρικού οξέος ( 3.2 ) και ακολουθεί ανάδευση . Συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη και ακολουθεί ανάμιξη μέχρις ότου το διάλυμα καταστεί τελείως διαυγές . Το διάλυμα διατηρείται σε φιάλη , καστανής υάλου ( 4.3 )

#### 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 4.1. Ποτήρια των 50 ml
- 4.2. Ογκομετρική φιάλη των 100 ml
- 4.3. Φιάλη καστανής υάλου των 125 ml
- 4.4. Υάλινες πλάκες των 10 x 10 cm
- 4.5. Σπάτουλα από πλαστική ύλη
- 4.6. Διηθητικός χάρτης των 10 x 10 cm

#### 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 5.1. Μέρος του προς εξέταση δείγματος κατανέμεται ομοιόμορφα πάνω στην υάλινη πλάκα ( 4.4 ) , σε τρόπο ώστε το πάχος της στοιβάδας να μην υπερβαίνει το 1 cm.
- 5.2. Φύλλο διηθητικού χάρτου εμβαπτίζεται σε απεσταγμένο νερό ( 4.6 ) και αποτίθεται κατάλληλα πάνω στο δείγμα , με τη βοήθεια της σπάτουλας ( 4.5 ) .
- 5.3. έπειτα από 1 min περίπου , προστίθενται στο κέντρο του διηθητικού χάρτου .  
-2 σταγόνες αραιού θειικού οξέος ( 3.1 ) , και κατόπιν  
-2 σταγόνες του διαλύματος Nitrite ( 3.4 ) .
- 5.4. Μετά από 5 έως 10 sec , ανασύρεται ο διηθητικός χάρτης και εξετάζεται στο διάχυτο φως . Ερυθροκίωδης χρωματισμός καταδεικνύει την παρουσία νιτρωδών .

Όταν η περιεκτικότητα σε νιτρώδη είναι χαμηλή , ο κίωδης χρωματισμός μετατρέπεται σε κίτρινο , σε διάστημα 5 έως 15 sec . Σε περίπτωση μεγαλύτερων ποσοτήτων νιτρωδών η μετατροπή αυτή επέρχεται μόνον έπειτα από 1 έως 2 λεπτά .

#### 6. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ.

Η ένταση του κίωδους χρωματισμού , καθώς και η διάρκεια της μετατροπής σε κίτρινο , μπορεί να παρέχει ένδειξη για την περιεκτικότητα του δείγματος σε νιτρώδη .

## B. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος, που περιγράφεται κατωτέρω, έχει προσαρμοστεί για τον προσδιορισμό των νιτρωδών στα καλλυντικά.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε νιτρώδη, που προσδιορίζονται με την παρούσα μέθοδο εκφράζεται σε εκατοστιαίο ποσοστό της μάζας του νιτρώδους νατρίου.

## 3. ΑΡΧΗ

Έπειτα από διάλυση και διαύγαση του δείγματος, πραγματοποιείται χρωματομετρική αντίδραση με την N (α-ναφθυλ-αιθυλενο-διαμίνη) και η ένταση του χρωματισμού που λαμβάνεται μετράται στα 538 nm.

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Αντιδραστήρια διαυγάσεως (τα αντιδραστήρια αυτά δεν δύνανται να χρησιμοποιούνται περισσότερο από μια εβδομάδα μετά την παρασκευή τους).

4.1.1. Αντιδραστήριο I (Carrez I): διαλύονται σε απεσταγμένο νερό 106 g σιδηροκυανιούχου καλίου  $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$  και ο όγκος συμπληρώνεται στα 1 000 ml.

4.1.2. Αντιδραστήριο II (Carrez II): διαλύονται σε απεσταγμένο νερό 219,5 οξικού ψευδαργύρου  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  και 30 ml κρυσταλλικού οξικού οξέος και ο όγκος συμπληρώνεται στα 1 000 ml.

4.2. Διάλυμα νιτρώδους νατρίου: σε οικόμετρική φιάλη των 1 000 ml, διαλύονται 0,500 g νιτρώδους νατρίου σε απεσταγμένο νερό, και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι της χαραγής. Αραιώνονται 10,0 ml από το μητρικό αυτό διάλυμα, σε όγκο 500 ml. 1 ml του τελευταίου αυτού διαλύματος = 10  $\mu g$   $NaNO_2$ .

4.3. Κανονικό διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου.

4.4. Διάλυμα 0,2 % υδροχλωρικού σουλφανιλαμιδίου: διαλύονται 2 g σουλφανιλαμιδίου σε 800 ml νερού, υπό θέρμανση. Ψύχονται και προστίθενται 100 ml πυκνού  $HCl$  υπό ανάδευση. Συμπλήρωση του όγκου στα 1 000 ml.

4.5. Υδροχλωρικό οξύ 5 N.

- 4.6. Αντιδραστήριο N-(α-ναφθυλίου) : το διάλυμα αυτό παρασκευάζεται την ημέρα της χρησιμοποιήσεώς του.

Διαλύονται σε νερό 0,1 g δι-υδροχλωρικής N-(α-ναφθύλ-αιθυλενο-διαμίνης) και συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 ml.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Αναλυτικός ζυγός
- 5.2. Ογκομετρικές φιάλες των 100 , 250 , 500 και 1 000 ml
- 5.3. Βαθμολογημένα σφώνια
- 5.4. Ογκομετρικοί κύλινδροι των 100 ml
- 5.5. Πτυχωτός ηθμός απηλλαγμένος νιτρωδών , διαμέτρου 15 cm
- 5.6. Υδρόλουτρο
- 5.7. Φασματοφωτόμετρο με κυψελίδες οπτικής διαδρομής 1 cm
- 5.8. Πεχάμετρο
- 5.9. Μικροπυροχόια των 10 ml
- 5.10. Ποτήρι των 250 ml

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 6.1. Ζυγίζονται , με ακρίβεια 0,1 mg , περίπου 0,5 ( m ) ομοιογεντοποιημένου δείγματος και εισάγονται σε ποτήρι των 250 ml . Αραιούνται μέχρις όγκου περίπου 150 ml , με θερμό απεσταγμένο νερό . Τοποθετείται το ποτήρι , επί μισή ώρα , σε υδρόλουτρο στους 80 ° C , και αναδεύεται από καιρό σε καιρό .
- 6.2. Ψύχεται το περιεχόμενο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστίθενται διαδοχικά υπό ανάδευση , 2 ml από το αντιδραστήριο Carrez I ( 4.1.1 ) και 2 ml από το αντιδραστήριο Carrez II ( 4.1.2 ) .
- 6.3. Ρυθμίζεται το pH σε 8,3 με το πεχάμετρο , με τη βοήθεια διαλύματος N υδροξειδίου του νατρίου . Μεταγίγεται το όλο ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml και συμπληρώνεται , ο όγκος μέχρι της χαραγής , με απεσταγμένο νερό .
- 6.4. Αναμιγνύεται και διηθείται σε πτυχωτό ηθμό ( 5.5 ) .

- 6.5. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml φέρεται με σιφώνιο κατάλληλη ποσότητα ( V ml ) του διαυγούς διηθήματος , όχι άνω των 25 ml και αραιώνεται με απεσταγμένο νερό στα 60 ml
- 6.6. Αναμιγνύεται και προστίθενται 10,0 ml υδροχλωρικού σουλφανιλαμίδιου ( 4.4 ) και κατόπιν 6,0 ml υδροχλωρικού οξέος 5N ( 4.5 ) . Αναμιγνύεται και αφήνεται σε ηρεμία επί 5 min . Προστίθενται 2,0 ml του αντιδραστήριου N-(α-ναφθυλίου) ( 4.6 ) , ακολουθεί ανάδευση και αφήνεται σε ηρεμία επί 3 min . Συμπληρώνεται ο όγκος στα 10 ml και αναμιγνύεται .
- 6.7. Ετοιμάζεται λευκός προσδιορισμός , επαναλαμβάνοντας τους χειρισμούς που έγιναν στα 6.5 και 6.6 , χωρίς προσθήκη του αντιδραστήριου N-(α-ναφθυλίου) ( 4.6 ) .
- 6.8- Μετράται ( 5.7 ) η οπτική πυκνότητα του διαλύματος του δείγματος ( 6.6 ) , σε 538 nm , σε σχέση με το λευκό προσδιορισμό ( 6.7 ) .
- 6.9. Αναγιγνώσκεται επί της καμπύλης αναφοράς ( 6.10 ) πραγματοποιείται η ανάγνωση της περιεκτικότητας σε νιτρώδες νάτριο , σε μg ανά 100 ml διαλύματος ( m1 ) , που αντιστοιχεί στην οπτική πυκνότητα του δείγματος ( 6.8 ) .
- 6.10. Καμπύλη αναφοράς . Με τη βοήθεια του διαλύματος νιτρώδους νατρίου ( 4.2 ) συντάσσεται καμπύλη αναφοράς στην περιοχή των 0-20-40-60-80-100 μg νιτρώδους νατρίου ανά 100 ml.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε νιτρώδες νάτριο , υπολογίζεται σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας , με τη βοήθεια του κατωτέρω τύπου:

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-5} \times \frac{100}{m_1} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

όπου:

m = η μάζα , σε g , του δείγματος που υποβλήθηκε σε ανάλυση ( 6.1 ) .

m<sub>1</sub> = η περιεκτικότητα σε νιτρώδες νάτριο , σε μg , που βρέθηκε σύμφωνα με τις υποδείξεις της παραγράφου 6.9 .

V = ο αριθμός των ml του διηθήματος , που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση ( 6.5 ) .

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα σε νιτρικό νάτριο 0.2 % , η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων 2 παραλλήλων προσδιορισμών , που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει 0,005 % .

#### IV. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΛΕΥΘΕΡΗΣ ΦΟΡΜΑΛΔΕΥΔΗΣ

##### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει μία ανίχνευση και δύο προσδιορισμούς ανάλογα με την παρουσία ή όχι ουσιών που απελευθερώνουν φορμαλδεΰδη. Εφαρμόζεται σε όλα τα καλλυντικά προϊόντα.

##### 1.1- Ανίχνευση

##### 1.2. Γενικός χρωματομετρικός προσδιορισμός με ακετυλακετόνη

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται όταν η φορμαλδεΰδη έχει χρησιμοποιηθεί μόνη ή σε συνδυασμό με άλλα συντηρητικά, που δεν ελευθερώνουν φορμαλδεΰδη.

Σε αντίθετη περίπτωση και όταν το αποτέλεσμα υπερβαίνει την ανώτατη επιτρεπόμενη συγκέντρωση στο τελικό προϊόν, χρησιμοποιείται η επόμενη μέθοδος επιβεβαίωσης.

##### 1.3. Προσδιορισμός παρουσίας ουσιών που ελευθερώνουν φορμαλδεΰδη

Στην παρούσα μέθοδο κατά την εφαρμογή της, οι ουσίες που απελευθερώνουν φορμαλδεΰδη διασπώνται και οδηγούν σε πολύ υψηλά αποτελέσματα (ελεύθερη και ενωμένη φορμαλδεΰδη).

Γι' αυτό πρέπει να διαχωρίζεται η ελεύθερη φορμαλδεΰδη με υγρή χρωματογραφία.

##### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε ελεύθερη φορμαλδεΰδη, που προσδιορίζεται με την παρούσα μέθοδο, εκφράζεται σε εκατοστιαίο πλάσσο κατά μάζα φορμαλδεΰδης.

##### 3. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

##### 3.1. Αρχή

Η φορμαλδεΰδη ελεύθερη και δεσμευμένη, παρέχει, σε περιβάλλον θετικών ιόντων, ροζ και μωβ χρωματισμό παρουσία του αντιδραστήριου Schiff.

##### 3.2. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και το νερό να είναι απιονισμένο.

##### 3.2.1. Φουξίνη.

##### 3.2.2. Ένυδρο θειώδες νάτριο με 7 μόρια H<sub>2</sub>O.

##### 3.2.3. Πυκνό υδροχλωρικό (d=1,19).

##### 3.2.4. Θειικό οξύ 1 M.

##### 3.2.5. Αντιδραστήριο Schiff.

Μέσα σε ποτήρι ζέσεως ζυγίζονται 100 mg φουξίνης (3.2.1). Διαλύονται σε 75 ml νερού σε 80 °C. Αφού ψυχθούν, προστίθενται 2.5 g θειώδους νατρίου (3.2.2) και 1.5 ml υδροχλωρικού οξέος (3.2.3). Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 ml.

Διατηρείται επί 2 εβδομάδες.

- 3.3. Πορεία εργασίας
- 3.3.1. Σε ποτήρι ζέσεως 10 ml εισάγονται περίπου 2 g δείγματος.
- 3.3.2. Προστίθενται 2 σταγόνες  $H_2SO_4$  (3.2.4) και 2 ml αντιδραστήριου Schiff (3.2.5). Το αντιδραστήριο αυτό πρέπει να είναι τελείως άχρωμο τη στιγμή της χρησιμοποίησης.
- Το μείγμα αναδεύεται και αφήνεται να παραμείνει επί 5 min.
- 3.3.2. Αν παρατηρηθεί χρωματισμός ροζ ή μωβ στο διάστημα των 5 λεπτών, η ποσότητα της υπάρχουσας φορμαλδεϋδης είναι μεγαλύτερη από 0,01 %. Ακολουθεί τότε προσδιορισμός της ελεύθερης και δεσμευμένης ουσίας σύμφωνα με το σημείο 4 και, αν χρειάζεται, με το σημείο 5.

#### 4. ΓΕΝΙΚΟΣ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕ ΑΚΕΤΥΛΑΚΕΤΟΝΗ

- 4.1. Αρχή
- Η φορμαλδεϋδή αντιδρά με την ακετυλακετόνη, παρουσία οξικού αμμωνίου, προς σχηματισμό της 3-5 διακετυλο 1-4 διϋδρολουτιδίνης. Η ένωση αυτή εκχυλίζεται με βουτανόλη-1. Μετράται η απορρόφηση του εκχυλίσματος στα 410 nm.
- 4.2. Αντιδραστήρια
- Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και το νερό να είναι απιονισμένο.
- 4.2.1. Άνυδρο οξικό αμμώνιο.
- 4.2.2. Οξικό οξύ  $d_{420} = 1,05$ .
- 4.2.3. Ακετυλακετόνη, πρόσφατα απσταγμένη υπό ελαττωμένη πίεση, 25 mm Hg 25°C που παρουσιάζει μηδενική απορρόφηση στα 410 nm.
- 4.2.4. Βουτανόλη -1.
- 4.2.5. Υδροχλωρικό οξύ 1 M.
- 4.2.6. Υδροχλωρικό οξύ περίπου 0,1 M.
- 4.2.7. Υδροξειδίο του νατρίου 1M.
- 4.2.8. Διάλυμα αμύλου πρόσφατα παράσκευασμένο σύμφωνα με την ευρωπαϊκή φαρμακοποιία (1g/50 ml νερό) 2η έκδοση 1980, 1ο μέρος I-VII-1-1.
- 4.2.9. Φορμαλδεϋδη, 37-40 %.
- 4.2.10. Τιτλοδοτημένο διάλυμα ιωδίου 0,05 M.
- 4.2.11. Τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 M.
- 4.2.12. Αντιδραστήριο ακετυλακετόνης.

Σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml διαλύονται:

- 150 g οξικού αμμωνίου (4.2.1).
- 2 ml ακετυλακετόνης (4.2.3).

3 ml οξικού οξέος (4.2.2).

Συμπληρώνεται ο όγκος στα 1000 ml με νερό (pH του διαλύματος περίπου 6,4).

Το αντιδραστήριο αυτό πρέπει να έχει παρασκευαστεί πρόσφατα.

4.2.13. Αντιδραστήριο (4.2.12) χωρίς ακετυλακετόνη.

4.2.14. Πρότυπο διάλυμα φορμαλδεϋδης: μητρικό διάλυμα

Σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml, εισάγονται 5 g φορμαλδεϋδης (4.2.9) και συμπληρώνεται ο όγκος στα 1 000 ml με νερό. Τίτλοδοση του μητρικού διαλύματος: Λαμβάνονται 10,00 ml προστίθενται 25,00 ml τιτλοδοτημένου διαλύματος ιωδίου (4.2.7) (4.2.10) και 100,00 ml υδροξειδίου του νατρίου.

Αφήνεται σε ηρεμία 5 min.

Οξινίζεται με 11 ml HCl (4.2.5) και η περίσσεια του ιωδίου ογκομετρείται με τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου (4.2.11) παρουσία διαλύματος αμύλου (4.2.8) ως δείκτη.

1 ml διαλύματος ιωδίου (4.2.10) που καταναλώνεται αντιστοιχεί σε 1,5 mg φορμαλδεϋδης.

4.2.15. Πρότυπο διάλυμα φορμαλδεϋδης: διάλυμα χρήσεως

5 ml προτύπου διαλύματος φέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και συμπληρώνεται με νερό. 5 ml του πιο πάνω διαλύματος φέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml και συμπληρώνεται με νερό.

1 ml αυτού του διαλύματος περιέχει περίπου 1 µg φορμαλδεϋδης.

Υπολογίζεται η ακριβής περιεκτικότητα.

4.3. Συσκευές και όργανα

4.3.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

4.3.2. Ηθμός «διαχωρισμός φάσεων» στοιχεία Whatman 1 PS (ή ανάλογος).

4.3.3. Φυγόκεντρος.

4.3.4. Υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους 60 °C.

4.3.5. Φασματοόμετρο.

4.3.6. Κυψελίδες υάλου οπτικής διατεμής 1 cm.

4.4. Πορεία εργασίας

4.4.1. Διάλυμα δείγματος

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml ζυγίζεται, με ακρίβεια 0,001 g, μάζα δείγματος (σε g), που αντιστοιχεί σε κατ' εκτίμηση ποσότητα φορμαλδεϋδης περίπου 150 µg. // // Συμπληρώνεται ο όγκος στα 100 ml με νερό, και αναμειγνύεται (διάλυμα S).

Εξακριβώνεται αν το pH είναι στην περιοχή του 6, διαφορετικά η διάλυση γίνεται με το διάλυμα υδροχλωρικού οξέος (4.2.6).

Σε κωνική φιάλη των 50 ml προστίθενται:

- 10,00 ml διαλύματος S,
- 5,00 ml αντιδραστηρίου ακετυλακετόνης (4.2.12)
- και νερό για να ληφθεί όγκος 30 ml.

#### 4.4.2. Μάρτυρας

Η ενδεχόμενη παρεμβολή χρωματισμού υποβάθρου στο δείγμα ελέγχου εξουδετερώνεται ως εξής:

Σε κωνική φιάλη των 50 ml προστίθενται:

- 10,00 ml διαλύματος S,
- 5,00 ml αντιδραστηρίου ακετυλακετόνης (4.2.13).
- και νερό για να ληφθεί όγκος 30 ml.

#### 4.4.3. Τυφλός προσδιορισμός

Σε κωνική φιάλη των 50 ml προστίθενται:

5,0 ml αντιδραστηρίου ακετυλακετόνης (4.2.12), και νερό για να ληφθεί όγκος 30 ml.

#### 4.4.4. Προσδιορισμός

##### 4.4.4.1. Αναδεύονται τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν στα σημεία 4.4.1, 4.4.2, 4.4.3.

Βυθίζονται οι κωνικές φιάλες σε υδατόλουτρο, 60 °C επί 10 min σε παγόλουτρο.

##### 4.4.4.2. Τα μείγματα μεταγγίζονται σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml που περιέχει ακριβώς 10 ml βουτανόλης -1 (4.2.4). Εκπλύνονται με 3 έως 5 ml νερού. Αναδεύεται ισχυρά το μείγμα επί 30 sec ακριβώς. Αφήνεται να διαχωρισθεί.

##### 4.4.4.3 Η στιβάδα της βουτανόλης διηθείται με ηθμό «διαχωρισμού φάσεων» (4.3.2) μέσα στις κυψελίδες μετρήσεως ή (3 000 g επί 5 min).

##### 4.4.4.4. Μετράται η απορρόφηση A1 στα 410 nm του εκχυλίσματος του διαλύματος δείγματος που λαμβάνεται στο σημείο (4.4.1) έναντι του εκχυλίσματος του μάρτυρα (4.4.2).

##### 4.4.4.5. Κατά τον ίδιο τρόπο μετράται και η απορρόφηση A2 του εκχυλίσματος του τυφλού προσδιορισμού που λαμβάνεται στο (4.4.3) έναντι της βουτανόλης -1.

Σημείωση: Όλοι οι εν λόγω χειρισμοί πρέπει να πραγματοποιηθούν σε διάστημα 25 min από τη στιγμή που η κωνική φιάλη τοποθετείται στο υδατόλουτρο των 60 °C.

#### 4.4.5. Καμπύλη αναφοράς

##### 4.4.5.1. Σε κωνική φιάλη των 50 ml εισάγονται:

- 5,00 ml προτύπου διαλύματος χρήσεως (4.2.15),
- 5,00 ml αντιδραστηρίου ακετυλακετόνης (4.2.12),
- και νερό για να ληφθεί όγκος 30 ml.

##### 4.4.5.2. Η εργασία συνεχίζεται σύμφωνα με τα υποδεικνυόμενα στο σημείο (4.4.4) και μετράται η απορρόφηση έναντι της βουτανόλης -1 (4.2.4).

##### 4.4.5.3. Επανλαμβάνεται η διαδικασία με 10, 15, 20, 25 ml προτύπου διαλύματος χρήσεως (4.2.15).

##### 4.4.5.4. Για να ληφθεί η τιμή σημείου 0 (που αντιστοιχεί στο χρωματισμό των αντιδραστηρίων) ακολουθείται η διαδικασία (4.4.4.5).



- 4.4.5.5. Σχεδιάζεται η καμπύλη αναφοράς, αφού αφαιρεθεί η τιμή του σημείου 0 από καθεμία από τις τιμές απορρόφησης που καταγράφονται στα σημεία (4.4.5.1 και 4.4.5.3). Ο νόμος του Beer ισχύει για ποσότητα φορμαλδεϋδης μέχρι 30 µg.
- 4.5. Υπολογισμός
- 4.5.1. Αφαιρείται το A2 από το A1 και διαβάζεται στην καμπύλη αναφοράς (4.4.5.5) η ποσότητα C, εκφρασμένη σε µg φορμαλδεϋδης, που περιέχεται στο διάλυμα του σημείου (4.4.1).
- 4.5.2. Η περιεκτικότητα του δείγματος σε φορμαλδεϋδη (% m/m) υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\text{φορμαλδεϋδη \%} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

όπου

m = μάζα του δείγματος ελέγχου σε g.

#### 4.6. Επαναληπτικότητα (1)

Για περιεκτικότητα σε φορμαλδεϋδη 0,2 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών, που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το:

0,005 % για το χρωματομετρικό προσδιορισμό με ακετυλακετόνη.

Αν από τον προσδιορισμό της ελεύθερης φορμαλδεϋδης προκύψουν αποτελέσματα:

α) μεταξύ 0,05 % και 0,2 % για προϊόν χωρίς ετικέτα

β) πάνω από 0,2 % για προϊόν με ή χωρίς ετικέτα, εφαρμόζεται υποχρεωτικά η μέθοδος που περιγράφεται στο σημείο 5.

### 5. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΟΥΣΙΩΝ ΠΟΥ ΕΛΕΥΘΕΡΩΝΟΥΝ ΦΟΡΜΑΛΔΕΪΔΗ

#### 5.1. Αρχή

Η διαχωρισθείσα φορμαλδεϋδη μετατρέπεται σε λουτιδινικό παράγωγο με ακετυλακετόνη σε μία μεταστήλη. Το σχηματισθέν παράγωγο ανιχνεύεται με απορρόφηση στα 420 nm.

#### 5.2. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και το νερό απιονισμένο.

##### 5.2.1 Νερό.

##### 5.2.2 Άνυδρο οξικό αμμώνιο.

##### 5.2.3 Οξικό οξύ d4 20 = 1,05.

##### 5.2.4 Ακετυλακετόνη (διατηρείται στους 4 °C).

##### 5.2.5 Άνυδρο όξινο φωσφορικό νάτριο.

- 5.2.6. Φωσφορικό οξύ 85 % ( $d = 1,7$ ).
- 5.2.7. Μεθανόλη.
- 5.2.8. Διχλωρομεθάνιο.
- 5.2.9. Φορμαλδεϋδη 37 - 40 %.
- 5.2.10. Υδροξειδίο του νατρίου 1 M.
- 5.2.11. Υδροχλωρικό οξύ 1 M.
- 5.2.12. Υδροχλωρικό οξύ 0,002 M.
- 5.2.13. Διάλυμα αμύλου παρασκευασμένο σύμφωνα με την ευρωπαϊκή φαρμοκοπία.
- 5.2.14. Τιτλοδοτημένο διάλυμα ιωδίου 0,05 M.
- 5.2.15. Τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 M.

5.2.16. Κινούμενη φάση:

Υδατικό διάλυμα οξίνου φωσφορικού νατρίου (5.2.5) 0,006 M, του οποίου το pH ρυθμίζεται στην τιμή 2,1 με φωσφορικό οξύ (5.2.6).

5.2.17. Αντιδραστήριο μεταστήλης:

Σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml διαλύονται:

- ο 62,5 g οξικού αμμωνίου (5.2.2),
- ο 7,5 ml οξικού οξέος (5.2.3),
- ο 5 ml ακετυλακετόνης (5.2.4),
- ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι τα 1 000 ml με νερό (5.2.1).

Το αντιδραστήριο αυτό προφυλάσσεται από το φως.

Διατήρηση: τρεις ημέρες ή εφόσον δεν παρατηρείται εμφάνιση χρώματος.

5.2.18. Πρότυπο διάλυμα φορμαλδεϋδης: μητρικό διάλυμα

Σε ογκομετρική φιάλη των 1 000 ml φέρονται 10 g φορμαλδεϋδης (5.2.9) και ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι τα 1 000 ml με νερό.

Τιτλοδότηση του μητρικού διαλύματος:

Λαμβάνονται 5,00 ml προστίθενται 25,00 ml του τιτλοδοτημένου διαλύματος ιωδίου (5.2.14) και 10,00 ml διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (5.2.10).

Το μείγμα αφήνεται σε ημερία 5 min. Οξινίζεται με 11,00 ml HCl (5.2.11) και η περίσσεια του ιωδίου ογκομετρείται με τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου (5.2.15) παρουσία διαλύματος αμύλου (5.2.13) ως δείκτη. 1 ml διαλύματος ιωδίου (5.2.14) που καταναλώνεται αντιστοιχεί σε 1,5 mg φορμαλδεϋδης.

5.2.19. Πρότυπο διάλυμα φορμαλδεϋδης - διάλυμα χρήσεως

Παρασκευάζεται αραιώση 1/100 του μητρικού διαλύματος στην κινούμενη φάση (5.2.16). 1,00 ml του διαλύματος αυτού περιέχει περίπου 37 mg φορμαλδεϋδης. Υπολογίζεται η ακριβής περιεκτικότητά του.

5.3. Συσκευές και όργανα

- 5.3.1 Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
- 5.3.2 Αντλία HPLC χωρίς διακυμάνσεις πίεσης
- 5.3.3 Αντλία χαμηλής πίεσης χωρίς διακυμάνσεις για το αντιδραστήριο ή μια δεύτερη αντλία HPLC
- 5.3.4 Δικλείδα έγχυσης εφοδιασμένη με δακτύλιο 10 μl
- 5.3.5 Διάταξη μεταστήλης κατασκευασμένη ως εξής:
- Τρίλιμη σφαιρική φιάλη RIN3 του 1 λίτρου,  
 + θερμαντήρας του 1 λίτρου  
 + 2 στήλες Vigreux τουλάχιστον δέκα πλακών 2 RIN3 (αερόψυκτες)  
 + ανοξείδωτος σωλήνας (για την ανταλλαγή θερμότητας) πάχους 1,6 mm  
 εσωτερική διάμετρος 0,23 mm - μήκος = 400 mm  
 + σωλήνας Teflon πάχους 1,66 mm - εσωτερική διάμετρος 0,30 mm μήκος = 5  
 mm (Tritonin) (βλέπε παράρτημα)  
 + 1 Tap χωρίς νεκρό χώρο (Valco ή ανάλογο)  
 + 3 σύνδεσμοι Union χωρίς νεκρό χώρο  
 ή διάταξη μεταστήλης Applied Biosystems PCRS 520 ή ισοδύναμος με  
 αντιδραστήριο του 1 ml.
- 5.3.6 Ηθμός μεμβράνης 0,45 μ
- 5.3.7 Φύσιγγα SEP PAKR C18 ή ανάλογη
- 5.3.8 Στήλες έτοιμες για χρήση
- Bischoff Hypersil RP 18 τύπου NC, στοιχεία C 25.46 1805) (πάχος 5 μ - μήκος = 250 mm εσωτερική διάμετρος = 4,6 mm)
  - ή Dupont, Zorbax ODS (πάχος 5 μ - μήκος = 250 mm - εσωτερική διάμετρος = 4,6 mm)
  - ή Phase SEP, Spherisorb ODS 2 (πάχος 5 μ - μήκος = 250 mm - εσωτερική διάμετρος = 4,6 mm)
- 5.3.9 Προστήλη
- Bischoff K1 Hypersil RP 18 (στοιχεία K1 G 6301 1805) // // πάχος 5 μ - μήκος = 10 mm ή ανάλογη
- 5.3.10 Η στήλη και η προστήλη συνδέονται με σύστημα EcoTube (στοιχεία A 15020508 Bischoff) ή ανάλογο.
- 5.3.11 Το σύστημα (5.3.5) συναρμολογείται όπως δείχνει το σχήμα του παραρτήματος 2. Οι συνδέσεις μετά τη δικλείδα έγχυσης πρέπει να είναι όσο το δυνατόν κοντύτερα. Σε αυτήν την περίπτωση ο ανοξείδωτος σωλήνας, που τοποθετείται ανάμεσα στην έξοδο του αντιδραστήρα και την είσοδο του ανιχνευτή, αποσκοπεί στην ψύξη του μείγματος πριν από την ανίχνευση. Η θερμοκρασία μέσα στον ανιχνευτή δεν είναι γνωστή αλλά παραμένει σταθερή.
- 5.3.12 Ανιχνευτής ορατού - υπεριώδους UVIS.
- 5.3.13 Καταγραφέας
- 5.3.14 Φυγόκεντρος
- 5.3.15 Λουτρό υπερήχων
- 5.3.15. Δονητικός αναδευτήρας (τύπου Vortex ή ανάλογος)

## 5.4. Πορεία εργασίας

## 5.4.1 Καμπύλη αναφοράς

Ευρίσκεται με μέτρηση των υψών των κορυφών που εξαρτώνται από τη συγκέντρωση. Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάζονται με αραιώση του προτύπου διαλύματος της φορμαλδεϋδης (5.2.19) στην κινούμενη φάση (5.2.16):

- 1,00 ml προτύπου διαλύματος (5.2.19) αραιωμένο στα 20,00 ml περίπου 5  
μg/100 ml
- 2,00 ml προτύπου διαλύματος (5.2.19) αραιωμένα στα 20,00 ml περίπου 370 μg/100 ml
- 5,00 ml προτύπου διαλύματος (5.2.19) αραιωμένα στα 25,00 ml περίπου 740 μg/100 ml
- 5,00 ml προτύπου διαλύματος (5.2.19) αραιωμένα στα 20,00 ml περίπου 925 μg/100 ml

Τα πρότυπα διαλύματα φυλάσσονται 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου και πρέπει να έχουν παρασκευασθεί πρόσφατα.

Η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς είναι καλή για τις συγκεντρώσεις που κυμαίνονται μεταξύ 1,0 και 15 μg/ml.

## 5.4.2. Προετοιμασία των δειγμάτων

## 5.4.2.1. Γαλακτώματα (κρέμες, fond de teint, eyeliner)

Σε φιαλίδιο με πάμα των 100 ml, ζυγίζονται, με ακρίβεια 0,001 g, μάζα (m) του προς έλεγχο δείγματος που αντιστοιχεί σε κατ' εκτίμηση ποσότητα φορμαλδεϋδης περίπου 100 μg. Προστίθενται 20,00 ml διχλωρομεθανίου (5.2.8) και 20,00 ml υδροχλωρικού οξέος (5.2.12) μετρημένα με ακρίβεια. Το σύνολο αναδεύεται στο δονητικό αναδευτήρα (5.3.16) και με υπερήχους (5.3.15). Οι δύο στιβάδες διαχωρίζονται με φυγοκέντρηση (3.000 g, 2 min). Παράλληλα, εκπλύνεται μία φύσιγγα (5.3.7) με 2,00 ml μεθανόλης (5.2.7) και κατόπιν ρυθμίζεται με 5,00 ml, νερού (5.2.1).

4,00 ml της υδατικής στιβάδας του εκχυλίσματος διοχετεύονται μέσω της ρυθμισμένης φύσιγγας. Τα πρώτα 2 ml απορρίπτονται και συλλέγεται το επόμενο κλάσμα.

## 5.4.2.2. Λοσιόν, σαμπουάν

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml ζυγίζεται, με ακρίβεια 0,001 g, ποσότητα δείγματος m (σε g), που αντιστοιχεί σε κατ' εκτίμηση ποσότητα φορμαλδεϋδης περίπου 500 μg.

Ο όγκος συμπληρώνεται μέχρι τα 100 ml με την κινούμενη φάση (5.2.16).

Το διάλυμα συμπληρώνεται με τον ηθμό (5.3.6) και εγχέεται ή διοχετεύεται σε φύσιγγα (5.3.7), η οποία έχει ρυθμιστεί όπως στο (5.4.2.1).

Όλα τα διαλύματα πρέπει να εγχέονται αμέσως μετά την παρασκευή τους.

## 5.4.3. Συνθήκες της χρωματογραφίας

- παροχή της κινούμενης φάσης: ml/min
- παροχή του αντιδραστήριου: 0.5 ml/min // // - ολική παροχή στην έξοδο του ανιχνευτή: 1,5 ml/min
- εισαγόμενος όγκος: 10 μl.

- θερμοκρασία έκλουσης: στους δύσκολους διαχωρισμούς η στήλη βυθίζεται σε παγόλουτρο: περιμένετε να αποκατασταθεί ισορροπία στις θερμοκρασίες (15 έως 20 min)
- θερμοκρασία της αντίδρασης μεταστήλης: 100 °C // // - ανίχνευση: 420 nm // //

Σημείωση: Το σύνολο του συστήματος χρωματογραφίας και μεταστήλης πρέπει να εκπλύνεται με νερό (5.2.1) μετά τη χρήση. Σε περίπτωση διακοπής της λειτουργίας του για περισσότερο από 2 ημέρες, ακολουθεί έκπλυση με μεθανόλη (5.2.7). Πριν επαναρυθμιστούν οι συνθήκες του συστήματος, διοχετεύεται νερό για να αποφευχθούν οι αναक्रυσταλλώσεις.

#### 5.5. Υπολογισμοί

Γαλακτώματα (σύμφωνα με το 5.4.2.1):

περιεκτικότητα (%) σε φορμαλδεϋδη (m/m):

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{5m} = \frac{C \cdot 10^{-1}}{5m}$$

Λοσιόν, σαμπουάν: (σύμφωνα με το (5.4.2.2):

Ο τύπος γίνεται:

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{m} = \frac{C \cdot 10^{-1}}{m}$$

όπου

$\mu$  = η μάζα σε g του δείγματος που υποβάλλεται σε ανάλυση

C = η συγκέντρωση φορμαλδεϋδης σε  $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$  όπως διαβάζεται στην καμπύλη αναφοράς (5.4.1).

#### 5.6. Επαναληπτικότητα (1)

Για περιεκτικότητα σε φορμαλδεϋδη 0,05 % η διαφορά των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών, που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,001 %.

Για περιεκτικότητα σε φορμαλδεϋδη 0,2 % η διαφορά των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών, που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,005 %.

### Προσάρτημα 1

#### ΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

#### ΕΞΑΡΤΗΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗ ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

-ξύλινος κύλινδρος:

εξωτερικής διαμέτρου 5 cm στο μέσο του οποίου διανοίγεται τρύπα 1,5 cm. Καρφώνονται τέσσερις χαλύβδινες ακίδες με τρόπο ώστε να είναι ισοδίαστατη (βλέπε σχεδιάγραμμα του κυλίνδρου σχήμα 1 και σχήμα 2). Η απόσταση μεταξύ δύο ακίδων είναι 1,8 cm ενώ απέχουν 0.5 cm από την τρύπα.

Ένα άκαμπτο στέλεχος (είδος ακίστρου) για το σχημασμό των θηλιών από σωλήνα teflon.

Σωλήνας teflon πάχους 1,6 mm εσωτερική διάμετρος 0,3 mm μήκος = 5 μέτρα.

#### ΔΗΜΙΟΥΡΓΙΑ ΤΟΥ ΠΛΕΓΜΑΤΟΣ

Για να αρχίσει να σχηματίζεται το πλέγμα, πρέπει ο σωλήνας teflon να περάσει, από πάνω προς τα κάτω, μέσα από την κεντρική τρύπα του κυλίνδρου (αφήνοντας να περισσεύουν από τη χαμηλότερη πλευρά περίπου 10 cm σωλήνα, ώστε να είναι δυνατόν να τραβηχτεί ελαφρά η κατασκευασζόμενη αλυσίδα) έπειτα, ο σωλήνας τυλίγεται γύρω από καθεμία από τις τέσσερις ακίδες ώστε να συμπληρωθεί ο πρώτος κύκλος (βλέπε σχήμα 3).

Η είσοδος και η έξοδος του πλέγματος στερεώνεται με δακτυλίους και πιεστικούς κοχλίες προσοχή να μη συνθλιβεί το teflon κατά την ένωση.

Από τη δεύτερη σειρά και για τις επόμενες, ο σωλήνας περνά από την εξωτερική πλευρά κάθε ακίδας για να σχηματισθεί έπειτα θηλιά ως εξής:

ο σωλήνας της χαμηλότερης σειράς περνά πάνω από το σωλήνα της επόμενης με τη βοήθεια του άκαμπτου στελέχους (βλέπε σχήμα 4).

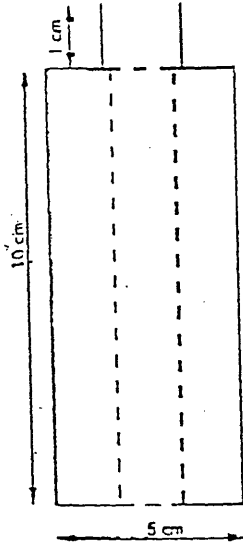
Η εργασία αυτή επαναλαμβάνεται σε καθεμία από τις ακίδες 1-2-3-4 με τη σειρά και μέχρι να εξαντληθούν τα πέντε μέτρα ή να επιτευχθεί το επιθυμητό μήκος.

Αφήνονται 10 cm σωλήνα περίπου για να κλείσει η αλυσίδα. Ο σωλήνας περνά μέσα από κάθε μια από τις τέσσερις θηλιές και τραβιέται ελαφρά: με τον τρόπο αυτό κλείνει η αλυσίδα.

Σημείωση: Υπάρχουν στην αγορά έτοιμα πλέγματα για αντιδράσεις μεταστήλης (Supelco).

Σχήμα του κυλίνδρου

Σχήμα 1

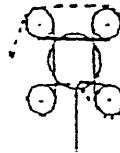


Σχήμα 3



1<sup>ος</sup> κύκλος

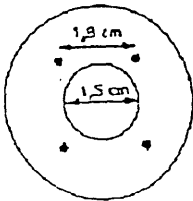
Σχήμα 4



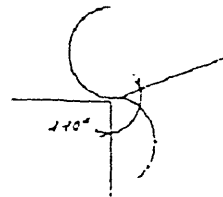
2<sup>ος</sup> κύκλος

Για να σχηματιστεί η θηλιά λαμβάνεται ο κάτω σωλήνας (συνεχής γραμμή) και φέρεται πάνω από το 2<sup>ο</sup> σωλήνα (διακεκομμένη γραμμή)

Σχήμα 2

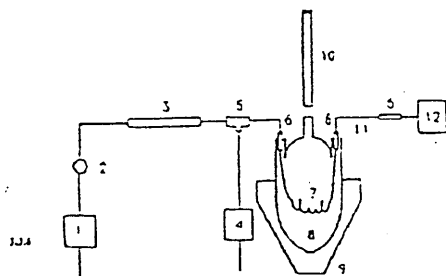
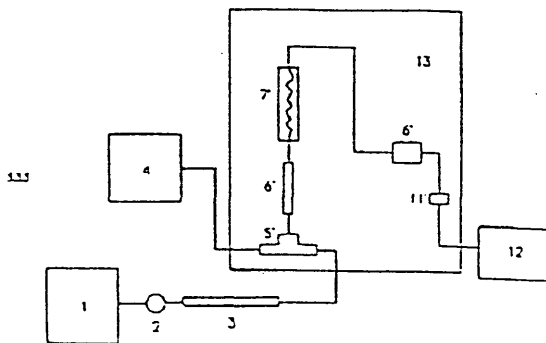


Σχήμα 5



## Προσάρτημα 2

1. = αντλία HPLC (5.3.2)
2. = δικλείδα έγχυσης (5.3.4)
3. = στήλη με προστήλη
4. = αντλία αντιδραστήριου
5. = ταυ χωρίς νεκρό χώρο
- 5'. = ταυ (Vortex)
- 6-6'. = σύνδεσμος U-tipe χωρίς νεκρό χώρο
7. = πλέγμα
- 7'. = αντιδραστήρας
8. = τριλιπιμη φιάλη με βραστό νερό
9. = θερμαντήρας
10. = ψυκτήρας
11. = ανοξείδωτος σωλήνας - εναλλάκτης θερμότητας
- 11'. = εναλλάκτης θερμότητας
12. Ανιχνευτής ορστού-υπεριώδους
13. = διάταξη μεταστήλης PCRS 520



Μέσο έκλουσης

Αντιδραστήριο



## V. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΡΕΣΟΡΚΙΝΗΣ ΣΤΑ ΥΓΡΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΛΟΥΣΕΩΣ ΚΑΙ ΠΕΡΙΠΟΙΗΣΕΩΣ ΤΗΣ ΚΩΜΗΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό της ρεσορκίνης στα υγρά παρασκευάσματα λούσεως και περιποίησης της κώμης με αέριο χρωματογραφία. Εφαρμόζεται σε συγκεντρώσεις 0,1 έως 2,0 % της μάζας του προϊόντος.

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα σε ρεσορκίνη, σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε εκατοστιαίο ποσοστό της μάζας ρεσορκίνης.

### 3. ΑΡΧΗ

Η ρεσορκίνη και το 3,5-διυδροξυτολουόλιο, που χρησιμοποιείται σαν εσωτερικό πρότυπο, διαχωρίζονται από το δείγμα, με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Οι δύο ενώσεις απομονώνονται με παραλαβή του υποστρώματος και εκχύλιση με μεθανόλη. Τα υπολείμματα, στη συνέχεια, ξηραίνονται, σιλυλοποιούνται και προσδιορίζονται με αέριο χρωματογραφία.

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 4.1. Υδροχλωρικό οξύ 25 % ( m/m )

#### 4.2. Μεθανόλη

#### 4.3. αιθανόλη 96 % ( v/v )

#### 4.4. Πλάκες από διοξείδιο πυριτίου επάνω σε υπόστρωμα πλαστικό ή από αργίλιο με φθορίζοντα δείκτη, έτοιμες για χρησιμοποίηση και απενεργοποιημένες. Η ετοιμασία είναι η εξής: οι πλάκες από διοξείδιο του πυριτίου ψεκάζονται με νερό, μέχρις ότου καταστούν στιλπνές, και στη συνέχεια ξηραίνονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 1 έως 3 ώρες.

Σημείωση: Αν οι πλάκες δεν έχουν απενεργοποιηθεί μπορεί να επέλθουν απώλειες ρεσορκίνης, από μη αναστρέψιμη εισρόφηση στο διοξείδιο του πυριτίου.

#### 4.5. Διαλύτης ανατύξεως: ακετόνη- χλωροφόρμιο-εξικό οξύ ( 20-75-5 v )

#### 4.6. Πρότυπο διάλυμα ρεσορκίνης: διαλύονται 400 mg ρεσορκίνης σε 100 ml αιθανόλης ( 4.3 ) 96 % ( 1 ml αντιστοιχεί σε 4 000 μg ρεσορκίνης ).

- 4.7. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου : διαλύονται 400 mg 3,5-διυδροξυτολουολίου ( DIT ) σε 100 ml αιθανόλης 96 % ( 1 ml αντιστοιχεί σε 4 000, μg DIT ) .
- 4.8. Πρότυπο μίγμα : αναμιγνύονται 10 ml διαλύματος ( 4.6 ) και 10 ml διαλύματος ( 4.7 ) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml , συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι της χαραγής , με αιθανόλη 96 % , και ακολουθεί ανάμιξη ( 1 ml αντιστοιχεί σε 400 μg ρεσορκίνης και 400 μg DIT ) .
- 4.9. Αντιδραστήρια σιλυλιώσεως
- 4.9.1. Ν,ο-δισ-(τριμεθυλοσιλυλο)τριφθοροακεταμιδίο ( BSTFA )
- 4.9.2. Εξαμεθυλοδιισιλαζάνιο ( HMDS )
- 4.9.3. Τριμεθυλοχλωροσιλάνιο ( TMCS )
5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας και αέριες φάσεως
- 5.2- Υάλινα σκεύη εργαστηρίου
6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ
- 6.1. Προετοιμασία του δείγματος
- 6.1.1. Σε ποτήρι των 150 ml , ζυγίζεται με ακρίβεια δοκίμιο του προϊόντος ( m γραμμάρια ) , που περιέχει περίπου 20 έως 50 mg ρεσορκίνης .
- 6.1.2. Ακολουθεί οξίνιση με υδροχλωρικό οξύ ( 4.1 ) ( περίπου 2 έως 4 ml ) . Προστίθενται 10 ml ( 40 mg DHT ) εσωτερικού διαλύματος ( 4.7 ) και το όλο αναμιγνύεται . Γίνεται μετάγγιση σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml με τη βοήθεια αιθανόλης . Συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι της χαραγής , με αιθανόλη ( 4.3 ) και ακολουθεί ανάμιξη .
- 6.1.3. Αποτίθενται 250 μl του διαλύματος ( 6.1.2 ) σε απενεργοποιημένη πλάκα διοξειδίου του πυριτίου ( 4.4 ) σε συνεχή γραμμή . μήκους περίπου 8 cm . Απαιτείται προσοχή ώστε να ληφθεί μια ταινία όσο το δυνατόν λεπτότερη .
- 6.1.4. Κατά τον ίδιο τρόπο ( 6.1.3 ) αποτίθενται στην ίδια πλάκα 250 μl από το πρότυπο μίγμα ( 4.8 ) .
- 6.1.5. Στη γραμμή εκκινήσεως ( 6.1.3 ) και ( 6.1.4 ) αποτίθενται 2 κηλίδες των 5 μl από κάθε διάλυμα ( 4.6 ) και ( 4.7 ) . για να διευκολυνθεί η εντόπιση έπειτα από την ανάπτυξη της πλάκας .

6.1.6. Σε θάλαμο μη κορεσμένο , αναπτύσσεται η πλάκα με το διαλύτη αναπτύξεως ( 4.5 ) , μέχρις ότου ο διαλύτης διανύσει 12 cm από τη γραμμή εκκινήσεως ( 45 min ) . Η πλάκα ξηραίνεται στον αέρα και εντοπίζεται η ζώνη ρεσορκίνη/DIT στο υπεριώδες φως στα 254 nm . Τα δύο προϊόντα έχουν περίπου την ίδια τιμή Rf . Παράλαμβάνονται οι ζώνες , που έχουν επισημανθεί με τον τρόπο αυτό και συγκεντρώνεται το προσρόφημα κάθε μιας σε φιάλη των 10 ml .

6.1.7. Το προσρόφημα που περιέχει το δείγμα και εκείνο που περιέχει το πρότυπο μίγμα εκχυλίζονται κατά τον ακόλουθο τρόπο:

Προστίθενται 2 ml μεθανόλης ( 4.2 ) και ακολουθεί εκχύλιση επί 1 ώρα υπό συνεχή ανάδευση . Διηθείται το μίγμα και επαναλαμβάνεται η εκχύλιση επί 15 min με 2 ml μεθανόλης ( 4.2 ) .

6.1.8. Εξατμίζεται ο διαλύτης , από το σύνολο των εκχυλισμάτων με τοποθέτησή τους , επί μία νύκτα , σε ξηραντήρα κενού στον οποίο υπάρχει κατάλληλο ξηραντικό . Η εξαίμιση δεν πρέπει να πραγματοποιηθεί εν θερμώ .

6.1.9. Σιλυλιώνονται τα υπολείμματα ( 6.1.8 ) , όπως υποδεικνύεται είτε στο ( 6.1.9.1 ) είτε στο ( 6.1.9.2 ) .

6.1.9.1. Προστίθενται 200 ml BSTFA ( 4.9.1 ) και αφήνεται το μίγμα επί 12 ώρες σε κλεισμένο δοχείο σε θερμοκρασία περιβάλλοντος .

6.1.9.2. Προστίθενται διαδοχικά 200 ml HMDS ( 4.9.2 ) και 10 ml TMCS ( 4.9.3 ) και θερμαίνεται το μίγμα επί 30 min στους 60 ° C σε κλεισμένο δοχείο . Ακολουθεί ψύξη .

6.2. Αέρια χρωματογραφία

6.2.1. Συνθήκες εργασίας

Η στάσιμη φάση πρέπει να δίνει βαθμό διαχωρισμού ίσο ή ανώτερο του 1,5

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

όπου:

$r_1$  και  $r_2$  = χρόνοι κατακρατήσεως σε min για τις 2 κορυφές .

$w_1$  και  $w_2$  = εύρος των ιδίων κορυφών στο μέσο του ύψους .

$d'$  = ταχύτητα εκτυλίξεως του χαρτού σε mm/min .

Το αποτέλεσμα αυτό λαμβάνεται υπό τις ακόλουθες συνθήκες :

στήλη : ανοξειδωτος χάλυβας

μήκος : 200 cm :

διάμετρος : ~ mm ( 1/8" )

Πλήρωση : 10 % OV 17 επί chromosorb WAW 100-120 mesh

Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας :

Θερμοκρασίες :

στήλη : 185 ° C ισόθερμη

διάταξη εισαγωγής : 250 ° C

ανιχνευτής : 250 ° C

Αέριο μεταφοράς : άζωτο

παροχή : 45 ml/min.

Για τη ρύθμιση της παροχής του υδρογόνου και του αέρα , ακολουθούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή .

- 6.2.2. Εγχύονται 1 έως 3 μl των διαλυμάτων που ελήφθησαν στο ( 6.1.9 ) . Γίνονται 5 εγχύσεις για κάθε διάλυμα . Μετράται η επιφάνεια των κορυφών με ακρίβεια και υπολογίζεται η σχέση των κορυφών  $S = \text{επιφάνεια κορυφής/ρεσορκίνης/επιφάνεια κορυφής DIT}$

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα σε ρεσορκίνη του δείγματος , εκφρασμένη σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας ( % w/w ) , δίνεται από :

$$\% \text{ resorcinol} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{sample}}}{S_{\text{standard mixture}}}$$

όπου :

M = δοκίμιο σε γραμμάρια ( 6.1.1 ) .

S sample = μέση σχέση , που ελήφθη για τις κορυφές του διαλύματος του δείγματος ( 6.2.2 ) .

S standard mixture = μέση σχέση που ελήφθη για τις κορυφές του προτύπου μίγματος, κατά το ( 6.2.2 ) .

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (3)

Για περιεκτικότητα σε ρεσορκίνη 0,5 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων 2 παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα , δεν πρέπει να υπερβαίνει 0,025 % .

## VI. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΘΑΝΟΛΗΣ ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΑΙΘΑΝΟΛΗ Η ΤΗΝ 2-ΠΡΟΠΑΝΟΛΗ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό της μεθανόλης με αέρια χρωματογραφία , σε όλους τους τύπους των καλλυντικών ( περιλαμβανομένων και των αεροζόλ ) . Εφαρμόζεται σε σχετικές συγκεντρώσεις από 0 έως 10 % .

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα σε μεθανόλη , που προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή , εκφράζεται σε εκατοσπαιο ποσοστό μάζας μεθανόλης σε σχέση με τη μάζα αιθανόλης ή 2-προπανόλης.

### 3. ΑΡΧΗ

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται με αέρια χρωματογραφία .

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας .

#### 4.1. Μεθανόλη

#### 4.2. Απόλυτη αιθανόλη

#### 4.3. 2-προπανόλη

#### 4.4. Χλωροφόρμιο , εκπλυμένο με νερό για την απεμάκρυνση των αλκοολών

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

### 5.1. Χρωματογράφος αέριας φάσεως με ενιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας ( για τα δείγματα προϊόντων με αεροζόλ ) .

Χρωματογράφος αέριας φάσεως με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας ( για τα δείγματα λοιπών προϊόντων ) .

- 5.2. Ογκομετρικές φιάλες των 100 ml
- 5.3. Βαθμολογημένα σιφώνια των 1 , 2 , 20 ml
- 5.4. Μικροσύριγγες των 0 έως 100 μl και 0 έως 5 μl

Για τα δείγματα σε αεροζόλ μόνο , ειδική σύριγγα με αέριο με παλινδρομική βαλβίδα ( βλέπε σχήμα 5 της μεθόδου δειγματοληψίας ) (4)

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

### 6.1. Ετοιμασία των δειγμάτων

6.1.1. Τα προϊόντα σε αεροζόλ επεξεργάζονται , όπως υποδεικνύεται στο Μέρος II του Παραρτήματος II, και αναλύονται με αέρια χρωματογραφία , υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στο ( 6.2.1 ) . Υπολογίζεται η σχέση των επιφανειών των κορυφών (μεθανόλη/αιθανόλη) ή ( μεθανόλη/2- προπανόλη ) . Χρησιμοποιείται καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του εκατοστιαίου ποσοστού της μεθανόλης σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη .

6.1.2. Τα άλλα προϊόντα που έχουν επεξεργαστεί όπως αναφέρεται στο ανωτέρω αναφερθέν κεφάλαιο II , διαλύονται στο νερό μέχρι συγκεντρώσεως 1 έως 2 % αιθανόλης ή 2-προπανόλης , και έπειτα αναλύονται με αέρια χρωματογραφία υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στο ( 6.2.2 ) . Εισάγεται κατάλληλη ποσότητα ( 2 έως 3μ ) . Υπολογίζεται η σχέση των επιφανειών των κορυφών ( μεθανόλη/αιθανόλη ) ή ( μεθανόλη/2- προπανόλη ) . Χρησιμοποιείται καμπύλη αναφοράς για τον προσδιορισμό του εκατοστιαίου ποσοστού μεθανόλης σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη .

### 6.2. Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας

#### 6.2.1. Για τα δείγματα προϊόντων σε αεροζόλ

6.2.1.1 Χρησιμοποιείται στήλη με 10 % Hallcomid M 18 επί chromosorb WAW 100-120 mesh και ανιχνευτής θερμοκικής αγωγιμότητας

6.2.1.2 Η στάσιμη φάση πρέπει να δίνει βαθμό διαχωρισμού ίσο ή ανώτερο του 1.5

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

όπου :

$r_1$  και  $r_2$  = χρόνος κατακρατήσεως εκφρασμένος σε min για τις δύο κορυφές .

$w_1$  και  $w_2$  = εύρος των ιδίων κορυφών στο μέσο του ύψους .

$d'$  = ταχύτητα εκτυλιξεως χάρτη σε mm/min .

6.2.1.3. Τα αποτελέσματα αυτά λαμβάνονται υπό τις ακόλουθες συνθήκες :

στήλη : ανοξειδωτος χάλυβας

μήκος : 3,5 m

διάμετρος : 3 mm

Ρεύμα του ανιχνευτή θερμικής αγωγιμότητας : 150 mA

Αέριο μεταφοράς : Ηλιο

πίεση : 2,5 bars

παροχή : 45 ml/min

Θερμοκρασίες :

διάταξη εγχύσεως : 150 ° C

ανιχνευτής : 150 ° C

στήλη : 65 ° C

6.2.2. Για τα δείγματα άλλων προϊόντων

6.2.2.1. Χρησιμοποιείται στήλη με chrosomorb 105 ή μέ porapak WS και ανιχνευτής ιονισμού φλόγας .

6.2.2.2. Η στάσιμη φάση πρέπει να δίνει βαθμό διαχωρισμού ίσο ή ανώτερο του 1.5

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

όπου :

$r_1$  και  $r_2$  = χρόνος κατακρατήσεως σε min για τις δύο κορυφές .

$w_1$  και  $w_2$  = εύρος των ιδίων κορυφών στο μέσο του ύψους .

$d'$  = ταχύτητα εκτυλίξεως χάρτη σε mm/min .

6.2.2.3. Τα αποτελέσματα αυτά λαμβάνονται υπό τις ακόλουθες συνθήκες :

στήλη : ανοξειδωτος χάλυβας

μήκος : 2 m

διάμετρος : 3 mm

Ηλεκτρόμετρο : ευαισθησία  $8 \cdot 10^{-10}$  A

Αέριο μεταφοράς : άζωτο

πίεση : 2,1 bars

παροχή : 40 ml/min

Βηθητικό αέριο : υδρογόνο

πίεση : 1,5 bars

παροχή : 20 ml/min

Θερμοκρασίες :

διάταξη εγχύσεως : 150 ° C

ανιχνευτής : 230 ° C

στήλη : 120 ° C - 130 ° C

## 7. ΚΑΜΠΥΛΕΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

- 7.1. Υπό τις συνθήκες που περιγραφόνται στο ( 6.2.1 ) ( στήλη Hallcomid M 18 ) , χρησιμοποιούνται τα πρότυπα μίγματα που καθορίζονται κατωτέρω . Τα μίγματα αυτά ετοιμάζονται με ογκομετρική μέτρηση , αλλά προσδιορίζεται η ακριβής ποσότητα που αποδόθηκε , ζυγίζοντας αμέσως μετά από κάθε προσθήκη .



Σχετική συγκέντρωση % m/m	Μεθανόλη ml	αιθανόλη ml( ή 2-προπανόλη )	Χλωροφόρμιο μέχρις όγκου
2,5 % περίπου	0,5	20	100 ml
5,0 % περίπου	1,0	20	100 ml
7,5 % περίπου	1,5	20	100 ml
10,0 % περίπου	2,0	20	100 ml

Εγχύονται στον χρωματογράφο 2 έως 3 ml σύμφωνα με τις διαδικασίες που περιγράφονται στο ( 6.2.1 ).

Υπολογίζεται η σχέση των επιφανειών των κορυφών ( μεθανόλη/αιθανόλη ) ή ( μεθανόλη/2-προπανόλη ) κάθε μίγματος . Χαράσσεται η καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας :

ως άξονα των X : το εκατοστιαίο ποσοστό της μεθανόλης σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη .

ως άξονα των Y : τη σχέση των επιφανειών των κορυφών ( μεθανόλη/αιθανόλη ) ή ( μεθανόλη/2-προπανόλη ) .

- 7.2. Τα πρότυπα μίγματα που καθορίζονται κατωτέρω χρησιμοποιούνται υπό τις συνθήκες που περιγράφονται στο ( 6.2.2 ) ( Porapak QS ή Chromosorb 105 ) . Τα μίγματα αυτά ετοιμάζονται με ογκομετρική μέτρηση , αλλά προσδιορίζεται η ακριβής ποσότητα που αποδόθηκε ζυγίζοντας αμέσως μετά από κάθε προσθήκη .

Σχετική συγκέντρωση % m/m	Μεθανόλη ml	αιθανόλη ( ή 2-προπανόλη ) ml	Νερό μέχρις όγκου
2,5 % περίπου	50	2	100 ml
5,0 % περίπου	100	2	100 ml
7,5 % περίπου	150	2	100 ml
10,0 % περίπου	200	2	100 ml

Εισάγονται στον χρωματογράφο 2 έως 3 ml σύμφωνα με τις διαδικασίες που περιγράφονται στο 6.2.2 .

Υπολογίζεται η σχέση των επιφανειών των κορυφών ( μεθανόλη/αιθανόλη ) ή ( μεθανόλη/2-προπανόλη ) κάθε μίγματος . Χαράσσεται η καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας :

ως άξονα των Χ : το εκατοστιαίο ποσοστό της μεθανόλης σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη .

ως άξονα των Υ : τη σχέση των επιφανειών των κορυφών ( μεθανόλη/αιθανόλη ) ή ( μεθανόλη/2-προπανόλη ) .

7.3. Και στις δύο περιπτώσεις η καμπύλη αναφοράς πρέπει να είναι ευθεία .

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (5)

Για περιεκτικότητα σε μεθανόλη 5 % , σε σχέση με την αιθανόλη ή την 2-προπανόλη , η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων 2 παραλλήλων προσδιορισμών , που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει 0,25 % .

- (1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/5725 .
- (2) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/5725 .
- (3) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/5725 .
- (4) ΕΕ αριθ. L 383 της 31 . 12 . 1980 , σ. 27 .
- (5) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO/5725 .

**ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ**  
**(Κανονισμός 3)****Ι. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΧΛΩΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ 1,1,1-ΤΡΙΧΛΩΡΟΑΙΘΑΝΙΟΥ****1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ**

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό του:

- διχλωρομεθάνιου (μεθυλενοχλωρίδιο)  
1, 1, 1-τριχλωροαιθάνιου (μεθυλοχλωροφόρμιο)  
και εφαρμόζεται στο σύνολο των καλλυντικών που ενδέχεται να περιέχουν αυτές τις ενώσεις.

**2. ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε διχλωρομεθάνιο και σε 1, 1, 1-τριχλωροαιθάνιο, προσδιοριζόμενη κατά την παρούσα μέθοδο, εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας.

**3. ΑΡΧΗ**

Ο προσδιορισμός στηρίζεται σε αεριοχρωματογραφία με χρησιμοποίηση του τριχλωρομεθάνιου (χλωροφόρμιο) ως εσωτερικού προτύπου.

**4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.1. Τριχλωρομεθάνιο ( $\text{CHCl}_3$ ).

4.2. Τετραχλωράνθρακας ( $\text{CCl}_4$ ).

4.3. Διχλωρομεθάνιο ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

4.4. 1, 1, 1-τριχλωροαιθάνιο ( $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ).

4.5. Ακετόνη.

4.6. Αζώτο.

**5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου και χρωματογραφίας αέριας φάσης.

5.2. Χρωματογράφος εφοδιασμένος με ανιχνευτή αγωγιμομετρίας.

5.3. Φιάλη μεταφοράς των 50-100 ml (βλέπε δειγματοληψία 5.3) (1).

5.4. Σύριγγα αερίου υπό πίεση (βλέπε μέθοδο δειγματοληψίας 5.4.4 2) (1).

**6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ**

6.1. Δείγμα συσκευασμένο υπό κανονικές συνθήκες πίεσης

6.2. Δείγμα συσκευασμένο υπό εξασοροπούμενες συνθήκες πίεσης

Χρησιμοποιείται η μέθοδος λήψεως που περιγράφεται στο κεφάλαιο "Δειγματοληψία". Τηρούνται οι παρακάτω λεπτομέρειες:

- 6.2.1. Στη φιάλη μεταφοράς εισάγεται ποσότητα εσωτερικού προτύπου (4.1) ισοδύναμη με την κατ' εκτίμηση ποσότητα των περιεχομένων στο δείγμα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ή/και  $\text{CH}_2\text{CCl}_3$ . Ομοιογενοποιούνται. Εκπλύνεται ο νεκρός όγκος της δικλείδας της φιάλης μεταφοράς με 0,5 ml  $\text{CCl}_4$  (4.2) που αφήνονται να εξατμισθούν. Προσδιορίζεται η μάζα του εσωτερικού προτύπου με διαφορική ζύγιση της φιάλης μεταφοράς.
- 6.2.2. Στο από teflon βύσμα της σύριγγας, έπειτα από την πλήρωση με το δείγμα, πρέπει να διοχετεύεται άζωτο (4.6), έτσι ώστε πριν την εισαγωγή στο χρωματογράφο, να μην παραμένει σε αυτό κανένα υπόλειμμα δείγματος.
- 6.2.3. Έπειτα από κάθε λήψη, το βύσμα της βαλβίδας ή η διάταξη μεταφοράς που ενδεχόμενα χρησιμοποιήθηκε, πρέπει να εκπλύνονται πολλές φορές με ακετόνη (4.5) (με υποδόρεια σύριγγα) και κατόπιν να ξηραίνονται καλά με άζωτο (4.6).
- 6.2.4. Για κάθε ανάλυση οι μετρήσεις πραγματοποιούνται από διαφορετικές φιάλες μεταφοράς με πέντε μετρήσεις ανά φιάλη.

## 7. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ

### 7.1. Προθάλαμος στήλης

Υλικό: σωλήνας ανοξειδωτος.

Μήκος: 30 cm.

Εξωτερική διάμετρος: 3 mm ή 6 mm.

Πλήρωση: chromosorb χαρακτηριστικών ίδιων με εκείνα της στήλης.

### 7.2. Στήλη

Η στάσιμη φάση συνίσταται από hallcomid M 18 επί chromosorb. Πρέπει να δίνει βαθμό διαχωρισμού (R) ίσο τουλάχιστον με 1,5:

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

όπου:

$r_1$  και  $r_2$ : χρόνοι κατακράτησης σε min-

$W_1$  και  $W_2$ : εύρος των κορυφών στο μέσο του ύψους-

d: ταχύτητα εκτύλιξης του χάρτου σε mm/min.

- 7.3. Σαν παράδειγμα, οι ακόλουθες συνθήκες εργασίας δίδουν τα επιζητούμενα αποτελέσματα:

Στήλη		II
Υλικό	ανοξειδωτος σωλήνας	ανοξειδωτος σωλήνας
Μήκος	350 cm	400 cm
Εξωτερική διάμετρος	3 mm	6 mm
Πλήρωση		
chromosorb	WAW	WAW-DMCS-HP
μέγεθος κόκκων	100-120 mesh	60-80 mesh
Στάσιμη φάση	hallocmid M 18	hallocmid M 18
	10 %>	20 %
Θερμοκρασίες		
στήλη	65 °C	75 °C
διάταξη εισόδου	150 °C	125 °C
ανιχνευτής	150 °C	200 °C
Φέρον αέριο: Ήλιον		
παροχή	45 ml/min	60 ml/min
πίεση εισόδου	2,5 bar	2,0 bar
Εισαγόμενη ποσότητα	15 μl	15 μl

## 8. ΚΑΤΑΣΤΡΩΣΗ ΤΩΝ ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΣΥΓΚΡΙΣΗΣ

Συνθέστε εντός κωνικής φιάλης το ακόλουθο μείγμα με επακριβή ζύγιση:  
 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (4.3): 30 % ml/ml διχλωρομεθάνιου  
 $\text{CH}_2\text{CCl}_3$  (4.4): 35 % ml/ml τριχλωροαιθάνιου  
 $\text{CHCl}_3$  (4.1): 35 % ml/ml τριχλωρομεθάνιου

Χρησιμεύει στην κατάστρωση των συντελεστών ποσοτικής σύγκρισης.

## 9. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

9.1. Υπολογισμός ενός συντελεστή ποσοτικής σύγκρισης μιας ουσίας ρ σε σχέση με μια ουσία α επιλεγμένη ως εσωτερικό πρότυπο

Έστω η ουσία ρ:

$k_p$ : ο συντελεστής της σύγκρισης.

$m_p$ : η μάζα της στο μείγμα.

$A_p$ : η επιφάνεια της κορυφής της.

έστω η ουσία α:

$k_a$ : ο συντελεστής της σύγκρισης επιλεγμένος, ίσος με 1.

$m_a$ : η μάζα της στο μείγμα.

$A_a$ : η επιφάνεια της κορυφής της.

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

Σαν παράδειγμα έχουν ληφθεί οι ακόλουθοι συντελεστές σύγκρισης (για  $\text{CHCl}_3$ :  $k = 1$ ):

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :  $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

$\text{CH}_3\text{CCl}_3$ :  $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2.- Υπολογισμός των επί τοις εκατό ποσοστών των παρευρισκομένων στο προς ανάλυση δείγμα  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  και  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$

Έστω:

$k_1$ : ο συντελεστής σύγκρισης του  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,

$k_2$ : ο συντελεστής σύγκρισης του  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ,

$m$ : η μάζα του  $\text{CHCl}_3$ ,

$m_c$ : η μάζα του προς ανάλυση δείγματος,

$A_c$ : η επιφάνεια κορυφής του  $\text{CHCl}_3$ ,

$A_1$ : η επιφάνεια κορυφής του  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,

$A_2$ : η επιφάνεια κορυφής του  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ .

Θα έχουμε:

$$\% (m/m) \text{CH}_2 \text{Cl}_2 = \frac{m_c \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_c \times M_1}$$

$$\% (m/m) \text{CH}_3 \text{CCl}_3 = \frac{m_c \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_c \times M_2}$$

## 10. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (2)

Για περιεκτικότητα σε χλωροπαράγωγα 25 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων επί του ίδιου δείγματος δεν πρέπει να υπερβαίνει το 2,5 %.

## II. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΔΡΟΞΥ-8-ΚΙΝΟΛΕΪΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΘΕΪΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΤΗΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει την ανίχνευση και τον προσδιορισμό της υδροξυ-8-κινόλεϊνης και του θεϊκού παραγώγου της.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε υδροξυ-8-κινολεΐνη προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας υδροξυ-8-κινολεΐνης.

## 3. ΑΡΧΗ

### 3.1. Ανίχνευση

Πραγματοποιείται με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

### 3.2. Προσδιορισμός

Διεξάγεται με φωτοχρωματομετρία στα 410 nm ενός σύμπλοκου χαλκού που λαμβάνεται από αντίδραση με υγρό Fehling.

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

### 4.1. Υδροξυ-8-κινολεΐνη.

### 4.2. Βενζόλιο (λόγω της τοξικότητας του προϊόντος λαμβάνονται οι κατάλληλες προφυλάξεις).

### 4.3. Χλωροφόρμιο.

### 4.4. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 50 % m/m.

### 4.5. Θεικός χαλκός (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O).

### 4.6. Διπλό τρυγικό άλας καλίου και νατρίου.

### 4.7. Υδροχλωρικό οξύ 1 N.

### 4.8. Θειικό οξύ 1 N.

### 4.9. Διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 1 N.

### 4.10. Αιθανόλη.

### 4.11. 1-βουτανόλη.

### 4.12. Οξεικό οξύ glacial.

### 4.13. Υδροχλωρικό οξύ 0.1 N.

### 4.14. Celite 545 ή ισοδύναμο.

### 4.15. Διαλύματα-μάρτυρες

4.15.1. Φέρονται 100 mg υδροξυ-8-κινολεΐνης (4.1) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και διαλύονται σε μικρή ποσότητα θειικού οξέος 1 N (4.8). Συμπληρώνονται μέχρι της χαραγής με θειικό οξύ 1 N (4.8).

4.15.2. Φέρονται 100 mg υδροξυ-8-κινολεΐνης (4.1) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Διαλύονται σε αιθανόλη (4.10). Συμπληρώνονται μέχρι της χαραγής με τον ίδιο διαλύτη και μείγνυνται.

### 4.16. Υγρό Fehling

**Διάλυμα Α**

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml ζυγίζονται 7 g θεικού χαλκού (4.5). Διαλύονται σε μικρή ποσότητα νερού, συμπληρούνται μέχρι της χαραγής με νερό και μείγνυνται.

**Διάλυμα Β**

Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, ζυγίζονται 35 g δπλου τρυγικού άλατος καλίου και νατρίου (4.6) και διαλύονται σε 50 ml νερού. Προστίθενται 20 ml υδροξειδίου του νατρίου 50 % (4.4). Συμπληρούνται με νερό μέχρι της χαραγής και μείγνυνται.

Αμέσως πριν τη χρήση, σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml φέρονται με σιφώνι 10 ml διαλύματος Α και 10 ml διαλύματος Β. Συμπληρούνται με νερό μέχρι της χαραγής και μείγνυνται.

**4.17. Διαλύτες ανάπτυξης**

Διαλύτης I: 1-βουτανόλη/οξείκο οξύ/νερό (80: 20: 20, v/v/v).

Διαλύτης II: Χλωροφόρμιο/οξείκο οξύ (95: 5, v/v).

**4.18. Διάλυμα 1 % χλωριμίδιου διχλωροκινόνης σε αιθανόλη (4.10).****4.19. Διάλυμα ανθρακικού νατρίου 1 % (m/v).****4.20. Διάλυμα 30 % (v/v) αιθανόλης (4.10) σε νερό.****4.21. Διάλυμα δινάτριου άλατος του αιθυλενο-διαμινοτετρα-οξείκου οξέος 5 % (m/v).****4.22. Ρυθμιστικό διάλυμα pH 7**

Ζυγίζονται 27 g  $KH_2PO_4$  και 70 g  $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$  σε ογκομετρική φιάλη του 1 l. Διαλύονται. Συμπληρούνται μέχρι της χαραγής και μείγνυνται.

**4.23. Λεπτές σποινάδες από silice, έτοιμες για χρήση**

Πάχους 0,25 mm (Kieselgel 60 Merck ή ισοδύναμες). Πριν τη χρήση, κάθε πλάκα ψεκάζεται με 10 ml αντιδραστήριο 4.21 και ξηραίνεται στους 80 ° C.

**5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ****5.1. Εσφυρισμένου λαιμού φιάλες με σφαιρικό πυθμένα των 100 ml.****5.2. Φιάλες ογκομετρικές.****5.3. Σιφώνια βαθμολογημένα των 10 και 5 ml.****5.4. Σιφώνια ογκομετρικά των 20, 15, 10 και 5 ml.****5.5. Χοάνες διαχωρισμού των 100, 50 και 25 ml.****5.6. Πτυχωτοί ηβμοί διάμετρου 9 cm.****5.7. Περιστροφικός συμπυκνωτής.****5.8. Ψυκτήρας επαναφοράς με σμύρισμα.****5.9. Φασματοφωτόμετρο.****5.10. Κυψελίδες οπτικής διαδρομής 1 cm.**



- 5.11. Θερμαινόμενος αναδευτήρας.
- 5.12. Στήλη υάλινη για χρωματογραφία, 160 mm ύψους και 8 mm εσωτερικής διαμέτρου, της οποίας το κατώτερο μέρος είναι εφοδιασμένο με μια στένωση γεμισμένη με βύσμα από έριο υάλου και το ανώτερο άκρο είναι κατασκευασμένο έτσι ώστε να υπάρχει δυνατότητα έκλουσης υπό πίεση.
6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ
- 6.1. Ανίχνευση
- 6.1.1. Υγρά δείγματα
- 6.1.1.1. Αφού φέρουμε στο 7,0 το pH ενός μέρους δείγματος προς ανάλυση, αποθέτουμε από αυτό 5 και 10 μl σε καθένα από τα σημεία της γραμμής εκκίνησης μιας πλάκας καλυμμένης από λεπτή στοιβάδα από gel silice, επεξεργασμένης προηγουμένως όπως υποδεικνύεται στο 4.23.
- 6.1.1.2. Σε δύο άλλα σημεία της γραμμής εκκίνησης αποθέτουμε 10 και 30 μl του διαλύματος-μάρτυρα (4.15.2), κατόπιν αναπτύσσουμε την πλάκα στον ένα από τους δύο διαλύτες (4.17).
- 6.1.1.3. Όταν το μέτωπο του διαλύτη φθάσει τα 15 cm, η πλάκα ξηραίνεται στους 110° C επί 15 λεπτά. Κάτω από φως UV (366 nm), οι κηλίδες υδροξυ-8-κινολεΐνης χαρακτηρίζονται από έναν κίτρινο φθορισμό.
- 6.1.1.4. Η πλάκα ψεκάζεται κατόπιν με ένα υδατικό διάλυμα ανθρακικού νατρίου 1 % (4.19) και, έπειτα από ξήρανση, με ένα διάλυμα 1 % χλωριμίδιου διχλωροκινόνης (4.18). Η υδροξυ-8-κινολεΐνη εμφανίζεται με μορφή κυανών κηλίδων.
- 6.1.2. Δείγματα στερεά και κρέμες
- 6.1.2.1. Φέρουμε σε αιώρηση 1 g δείγματος σε 5 ml του ρυθμιστικού διαλύματος pH 7 (4.22). Μεταγγίζουμε με 10 ml χλωροφόρμιου σε διαχωριστική χοάνη και ανακινούμε. Αφού συλλέξουμε τη χλωροφορμική στοιβάδα, εκχυλίζουμε δύο φορές ακόμη το υδατικό αιώρημα με 10 ml χλωροφόρμιου (4.3). Συλλέγουμε και διηθούμε τα χλωροφορμικά διαλύματα σε φιάλη με σφαιρικό πυθμένα των 100 ml (5.1). Συμπυκνώνουμε μέχρι ξηρότητας σχεδόν πλήρους στον περιστροφικό συμπυκνωτή. Αναδιαλύουμε το υπόλειμμα σε 2 ml χλωροφόρμιου και αποθέτουμε 10 και 30 μl του διαλύματος που πάρηκε σε πλάκα gel silice (4.23) ενεργώντας όπως υποδεικνύεται στο 6.1.1.1.
- 6.1.2.2. Αφού αποθέσουμε 10 και 30 μl του διαλύματος-μάρτυρα (4.15.2), ενεργούμε όπως υποδεικνύεται στα 6.1.1.2, 6.1.1.3 και 6.1.1.4.
- 6.2. Προσδιορισμός
- 6.2.1. Δείγματα υγρά
- 6.2.1.1. Σε ευμερισμένη φιάλη με σφαιρικό πυθμένα των 100 ml, ζυγίζονται 5 g του δείγματος. Προστίθεται 1 ml θεικού οξέος 1 N (4.8) και συμπυκνούνται το μείγμα μέχρι ξηρότητας σχεδόν πλήρους υπό μειωμένη πίεση στους 50° C.
- 6.2.1.2. Διαλύουμε αυτό το υπόλειμμα σε 20 ml ζεστού νερού. Μεταφέρουμε σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και ξεπλένουμε τρεις φορές με 20 ml νερού. Συμπληρούμε στα 100 ml με νερό και αναμειγνύουμε.
- 6.2.1.3. Μεταφέρουμε με σιφώνι 5 ml από αυτό το διάλυμα σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml (5.5). Έπειτα από προσθήκη 10 ml υγρού Fehling (4.16) εκχυλίζουμε το σύμπλοκο χαλκού που σχηματίστηκε με τρεις φορές 8 ml χλωροφόρμιου (4.3).

6.2.1.4. Συλλέγουμε τις χλωροφορμικές διηθημένες φάσεις σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml (5.2). Συμπληρούμε μέχρι της χαραγής με χλωροφόρμιο (4.3) και ανακινούμε. Μετράμε την οπτική πυκνότητα του κίτρινου διαλύματος στα 410 nm σε σχέση με το χλωροφόρμιο.

#### 6.2.2. Δείγματα στερεά και κρέμες

6.2.2.1. Σε φιάλη με σφαιρικό πυθμένα των 100 ml (5.1), ζυγίζονται 0,500 g δείγματος. Προστίθενται 30 ml βενζολίου (4.2) και 20 ml υδροχλωρικού οξέος 1 N (4.7). Ζέονται με ψυκτήρα επί 30 λεπτά υπό ανακίνηση.

6.2.2.2. Μεταφέρουμε το περιεχόμενο της φιάλης σε διαχωριστική χοάνη (5.5) των 100 ml και ξεπλύνουμε με 5 ml υδροχλωρικού οξέος 1 N (4.7). Αποσύρουμε την υδάτινη φάση σε φιάλη με σφαιρικό πυθμένα (5.1). Πλύνεται η βενζολική φάση με 5 ml υδροχλωρικού οξέος 1 N (4.7) και συλλέγονται τα ύδατα έκπλυσης μέσα στη φιάλη. Εξακολουθούμε όπως υποδεικνύεται στο 6.2.2.4.

#### 6.2.2.3. Περίπτωση γαλακτωμάτων που παρεμποδίζουν στη συνέχεια της ανάλυσης:

Αναμειγνύουμε 0,500 g δείγματος σε 2 g celite 545 (4.14), έτσι που να ληφθεί μια ρευστή σκόνη. Τοποθετούμε το μείγμα σε μικρές δόσεις μέσα στην υάλινη στήλη για χρωματογραφία (5.12). Έπειτα από κάθε προσθήκη συσσωρεύουμε το περιεχόμενο της στήλης. Όταν το σύνολο του μείγματος δείγμα-celite έχει εισαχθεί μέσα στη στήλη, εκλούουμε με υδροχλωρικό οξύ 0,1 N (4.13) έτσι που να ληφθούν 10 ml εκλούσματος σε 10 λεπτά περίπου. Αν χρειάζεται μπορούμε να προβούμε σε αυτή την έκλυση εφαρμόζοντας ελαφρά πίεση με άζωτο. Κατά τη διάρκεια της έκλυσης καλό είναι να βεβαιωνόμαστε ότι υπάρχει πάντα υδροχλωρικό οξύ υπεράνω του μείγματος δείγμα - celite. Τα 10 πρώτα ml εκλούσματος υφίστανται κατόπιν επεξεργασία, όπως υποδεικνύεται στο 6.2.2.4.

6.2.2.4. Οι υδάτινες φάσεις (6.2.2.2) ή τα εκλούσματα (6.2.2.3) συλλέγονται και συμπυκνούνται μέχρι ξηρότητας σχεδόν πλήρους υπό μειωμένη πίεση στον περιστροφικό συμπυκνωτή.

6.2.2.5. Διαλύουμε το υπόλειμμα σε 6 ml του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 1 N (4.9). Προστίθενται 20 ml υγρού Fehling (4.16) και μεταγγίζουμε σε διαχωριστική χοάνη των 50 ml (5.5). Πλύνεται η φιάλη με 8 ml χλωροφόρμιου (4.3) και μεταγγίζουμε μέσα στη διαχωριστική χοάνη. Έπειτα από ανακίνηση, η χλωροφορμική φάση διηθείται και συλλέγεται σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml (5.2).

6.2.2.6. Η υδάτινη φάση εκχυλίζεται και πάλι με τρεις φορές 8 ml χλωροφόρμιο (4.3). Οι χλωροφορμικές φάσεις διηθούνται και συλλέγονται στην ογκομετρική φιάλη των 50 ml. Συμπληρούμε μέχρι τη χαραγή με χλωροφόρμιο και ανακινούμε. Μετράται η οπτική πυκνότητα του κίτρινου διαλύματος στα 410 nm σε σχέση με χλωροφόρμιο.

### 7. ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Μέσα σε φιάλες με σφαιρικό πυθμένα των 100 ml (5.1), που περιέχουν καθεμία 3 ml από ένα υδατικό διάλυμα αιθανόλης 30 % (4.20), εισάγονται με σιφώνι 5, 10, 15 και 20 ml από το διάλυμα-μάρτυρα (4.15.1) και ενεργούμε όπως υποδεικνύεται στο 6.2.1.

### 8. ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

#### 8.1. Δείγματα υγρά

Υδροξυ-8-κινολεινή % (π/m) =  $a/m \times 100$

όπου:

a: ο αριθμός των mg υδροξυ-8-κινολεΐνης υπολογισμένων από την καμπύλη αναφοράς (7).

m (mg): η μάζα του δείγματος (6.2.1.1).

#### 8.2. Δείγματα στερεά και κρέμες

Υδροξυ-8-κινολεΐνη % (m/m) =  $2a/m \times 100$

όπου:

a: ο αριθμός των mg υδροξυ-8-κινολεΐνης υπολογισμένων από την καμπύλη αναφοράς (7).

m (mg): η μάζα του δείγματος (6.2.2.1).

#### 9. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (3)

Για μια περιεκτικότητα σε υδροξυ-8-κινολεΐνη της τάξης του 0,3 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να ξεπερνά το 0,02%.

### III. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΑΜΜΩΝΙΑΣ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον προσδιορισμό της ελεύθερης αμμωνίας στο σύνολο των καλλυντικών.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε αμμωνία προσδιορισμένη σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας  $\text{NH}_3$ .

#### 3. ΑΡΧΗ

Ένα διάλυμα χλωριούχου βαρίου προστίθεται στο καλλυντικό σε περιβάλλον μεθανόλης - νερού. Το ίζημα που ενδεχόμενα σχηματίζεται διηθείται ή φυγοκεντρείται. Με αυτό τον τρόπο ενέργειας αποφεύγεται, κατά τη διάρκεια της απόσταξης με υδρατμό, να συμπαρασυρθούν ορισμένα άλατα αμμωνίου όπως ανθρακικά, όξινα ανθρακικά, άλατα λιπαρών οξέων κλπ., με εξαίρεση το οξείκο αμμώνιο.

Η αμμωνία παρασύρεται με ατμό από το διήθημα ή το υγρό που επιπλέει και προσδιορίζεται με επανογκομέτρηση μέχρις αλλαγής δείκτη ή με άμεση ογκομετρική σγωγιμομετρία.

#### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

##### 4.1. Μεθανόλη.

##### 4.2. Διάλυμα χλωριούχου βαρίου με δύο μόρια νερού 25 % (m/v).

##### 4.3. Διάλυμα ορθο-βορικού οξέος 4 % (m/v).

##### 4.4. Τίτλοδοτημένο διάλυμα θειικού οξέος 0.5 N.

- 4.5. Υγρό αντιαφριστικό.
- 4.6. Τίτλοδοτημένο διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 0,5 N.
- 4.7. Δείκτης: Μειγνύνται 5 ml ενός διαλύματος ερυθρού μεθυλίου, 0,1 % σε αιθανόλη, και 2 ml ενός διαλύματος κυανού μεθυλενίου, 0,1 % σε νερό.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
- 5.2. Φυγόκεντροι με κλειστούς σωλήνες.
- 5.3. Συσκευή απόσταξης με ατμό.
- 5.4. Ποτενσιογράφος.
- 5.5. Ηλεκτρόδιο υάλου και ηλεκτρόδιο αναφοράς καλομέλανα.

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

- 6.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, ζυγίζουμε με ακρίβεια 1 mg μια μάζα δείγματος (m) που αντιστοιχεί το πολύ σε 150 mg  $\text{NH}_3$ .
- 6.2. Προστίθενται:  
 10 ml νερό,  
 10 ml μεθανόλη (4.1),  
 10 ml διάλυμα χλωριούχου βαρίου (4.2).  
 Συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (4.1).
- 6.3. Ομοιογενοποιούμε και αφήνουμε μία νύχτα στο ψυγείο (5 °C).
- 6.4. Το διάλυμα ακόμη κρύο διηθείται ή φυγόκεντρείται σε κλειστούς σωλήνες επί 10 λεπτά, έτσι που να ληφθεί ένα διαυγές υγρό επίπλευσης.
- 6.5. Εισάγονται με σιφώνι 40 ml του διαυγούς διαλύματος στη συσκευή απόσταξης (5.3) και κατόπιν, ενδεχόμενα, 0,5 ml αντιαφριστικού (4.5).
- 6.6. Αποστάζουμε και συλλέγουμε 200 ml απόσταγμα σε ποτήρι των 250 ml που περιέχει 10 ml θειικό οξύ 0,5 N (4.4) και 0,1 ml δείκτη (4.7).
- 6.7. Επανογκομετρείται το θειικό οξύ σε περίσσεια με το διάλυμα του υδροξειδίου του νατρίου (4.6).
- 6.8. Σημείωση:  
 Σε περίπτωση προσδιορισμού ποτενσιομετρικού συλλέγονται 200 ml απεσταγματος σε ποτήρι των 250 ml που περιέχει 25 ml διάλυμα ορθοβορικού οξέος (4.3) και ογκομετρείται με το θειικό οξύ 0,5 N (4.4).
- ## 7. ΕΚΦΡΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ
- 7.1. Προσδιορισμός με επανογκομέτρηση με δείκτη
- Έστω:
- $V_1$  (ml): ο όγκος του διαλύματος του υδροξειδίου του νατρίου 0,5 N (4.6) που χρησιμοποιήθηκε.

T<sub>1</sub>: ο τίτλος του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 0,5 N (4.6),

T<sub>2</sub>: ο τίτλος του διαλύματος του θειικού οξέος 0,5 N (4.4),

m (mg): η μάζα του δείγματος (6.1).

$$\text{αμμοιοπία \% (m/m)} = \frac{(20M_2 - V_1M_1) \times 17 \times 100}{0.4m} = \frac{(20M_2 - V_1M_1) \times 4250}{m}$$

#### 7.2. Άμεσος ποτενσιομετρικός προσδιορισμός

Έστω

V<sub>2</sub> (ml): ο όγκος του διαλύματος θειικού οξέος 0,5 N (4.4) που χρησιμοποιήθηκε,

T<sub>2</sub>: ο τίτλος του διαλύματος του θειικού οξέος 0,5 N (4.4),

m (mg): η μάζα του δείγματος (6.1).

$$\text{αμμοιοπία \% (m/m)} = \frac{V_2 \times M_2 \times 17 \times 100}{0.4m} = \frac{4250 V_2 M_2}{m}$$

#### 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (4)

Για μια περιεκτικότητα σε NH<sub>3</sub> της τάξης του 6 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,6 %.

### IV. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΝΙΤΡΟΜΕΘΑΝΙΟΥ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή είναι εφαρμόσιμη για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό του νιτρομεθανίου στα καλλυντικά τα συσκευασμένα με μορφή aerosol, για μια συγκέντρωση κατώτερη ή ίση με 0.3 %.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε νιτρομεθάνιο προσδιορισμένη με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας νιτρομεθανίου στο σύνολο του περιεχόμενου του aerosol.

#### 3. ΑΡΧΗ

Το νιτρομεθάνιο ανιχνεύεται με χρωστική αντίδραση. Ο προσδιορισμός του πραγματοποιείται με χρωματογραφία σε αέρια φάση έπειτα από προσθήκη εσωτερικού προτύπου.

#### 4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

##### 4.1. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.1.1. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 0,5 N.

4.1.2. Αντιδραστήριο Folin:

Διαλύονται στο νερό 0,1 g μετά νατρίου άλατος του 1,2-ναφθοκινονο-σουλφονικού-4-οξέος και φέρονται στα 100 ml.

4.2. Τρόπος ενέργειας

Προσθέτουμε 10 ml 4.1.1 και 1 ml 4.1.2 σε 1 ml δείγματος. Μια ιώδης χρώση υποδεικνύει την παρουσία νιτρομεθάνιου.

## 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

5.1. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

5.1.1. Χλωροφόρμιο (εσωτερικό πρότυπο αριθ. 1).

5.1.2. 2,4-διμεθυλοεπτάνιο (εσωτερικό πρότυπο αριθ. 2).

5.1.3. Αιθανόλη 95 %.

5.1.4. Νιτρομεθάνιο.

5.1.5. Διάλυμα αναφοράς σε χλωροφόρμιο

Σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml προεζυγισμένη εισάγουμε 650 mg περίπου χλωροφόρμιο (5.1.1.) Ζυγίζουμε εκ νέου με προσοχή τη φιάλη και το περιεχόμενό της. Συμπληρούμε στα 25 ml με αιθανόλη 95 % (5.1.3).

Ζυγίζουμε και υπολογίζουμε το επί τοις εκατό ποσοστό μάζας χλωροφόρμιου σε αυτό το διάλυμα.

5.1.6. Διάλυμα αναφοράς σε διμεθυλοεπτάνιο

Ενεργούμε όπως για το διάλυμα αναφοράς σε χλωροφόρμιο, αλλά εισάγουμε 270 mg 2,4-διμεθυλοεπτάνιο (5.1.2.) σε φιάλη ογκομετρική των 25 ml.

5.2. Εξοπλισμός

5.2.1. Χρωματογράφος αέριας φάσης με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας.

5.2.2. Διάταξη για δειγματοληψία σε aerosol (φιάλη μεταφοράς, μικροσύριγγα, πρσαρμωστής κλπ.), όπως περιγράφεται στο Μέρος II του Παραρτήματος I.

5.2.3. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

5.3. Τρόπος ενέργειας

5.3.1. Προετοιμασία του δείγματος

Σε φιάλη μεταφοράς των 100 ml προεζυγισμένη και καθαρισμένη με αέρα (κατά τον τρόπο ενέργειας που περιγράφεται στο σημείο 5, Μέρος II του Παραρτήματος I) ή μέσα στην οποία έχουμε κάνει κενό, εισάγουμε 5 ml περίπου από το ένα ή το άλλο

εσωτερικό πρότυπο (5.1.5. ή 5.1.6). Χρησιμοποιούμε σύριγγα υάλινη των 10 ή 20 ml χωρίς βελόνα, προσαρμοσμένη στο σκεύος μεταφοράς κατά την τεχνική που περιγράφεται στο σημείο 5, Μέρος II του Παραρτήματος I.

Με την ίδια τεχνική, εισάγουμε στη φιάλη 50 g περίπου από το περιεχόμενο του δείγματος aerosol. Ζυγίζουμε εκ νέου προκειμένου να προσδιορίσουμε την ποσότητα δείγματος που εισαγάγαμε. Αναμειγνύουμε προσεκτικά. Ενίομε 10 ml περίπου χρησιμοποιώντας τη μικροσύριγγα (5.2.2). Προβαίνουμε σε 5 ενέσεις.

### 5.3.2. Προετοιμασία της αναφοράς

Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, ζυγίζουμε με ακρίβεια 500 mg περίπου νιτρομεθάνιο (5.1.4.) με 500 mg χλωροφόρμιο (5.1.1) ή 210 mg 2,4-διμεθυεπτάνιο (5.1.2). Φέρουμε μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη 95 % (5.1.3). Αναμειγνύουμε προσεκτικά. Εισάγουμε 5 ml από αυτό το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 20 ml. Φέρουμε μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη 95 % (5.1.3). Ενίομε 10 ml περίπου χρησιμοποιώντας τη μικροσύριγγα (5.2.2). Προβαίνουμε σε 5 ενέσεις.

### 5.3.3. Συνθήκες αέριας χρωματογραφίας

#### 5.3.3.1. Στήλη

Πρόκειται για στήλη από δύο μέρη που το πρώτο περιέχει δι-δεκυλοφθαλικό πάνω σε Gas Chrom Q σαν στατική φάση, το δεύτερο Ucon 50 HB 280X πάνω σε Chrom Q σαν στατική φάση. Η διπλή στήλη που παρασκευάστηκε κατά τα παραπάνω πρέπει να δίνει ένα διαχωρισμό (R) ίσο ή μεγαλύτερο από 1,5, λαμβανομένου υπόψη ότι:

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

όπου:

$r_1$  και  $r_2$ : χρόνοι κατακράτησης σε min,

$W_1$  και  $W_2$ : ευρος κορυφών στο μέσο του ύψους σε mm,

$d$ : ταχύτητα εκτύλιξης σε mm/min.

Σαν παράδειγμα, τα παρακάτω δύο τμήματα δίνουν τον επιζητούμενο διαχωρισμό:

Μέρος A:

υλικό: ανοξειδωτος χάλυβας,

μήκος: 1,5 m,

διάμετρος: 3 mm,

φόρτιση: 20 % δι-δεκυλο-φθαλικό πάνω σε Chrom Q, 100-120 mesh,

Μέρος B:

υλικό: ανοξειδωτος χάλυβας

μήκος: 1,5 m,

διάμετρος: 3 mm,

φόρτιση: 20 % Ucon 50 HB 280X πάνω σε Gas Chrom Q, 100-120 mesh.

#### 5.3.3.2. Ανιχνευτής - Ιονισμός φλόγας

Το ηλεκτρόμετρο του ανιχνευτή πρέπει να στηρίζεται σε μια ευαισθησία από 8 x 10 10A.

### 5.3.3.3. Θερμοκρασίες

Διάταξη εισαγωγής: 150 ° C.

Ανιχνευτής: 150 ° C.

Στήλη: μεταξύ 50 ° C και 80 ° C ανάλογα με τον τύπο της στήλης και της συσκευής.

### 5.3.3.4. Αέρια

Φέρον αέριο: άζωτο.

Πίεση: 2,1 bar.

Παροχή: 40 ml/min.

Ανιχνευτής: αέριο που συνιστάται από τον κατασκευαστή.

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

- 6.1. Συντελεστής απάντησης νιτρομεθάνιου, υπολογισμένος σε αναφορά προς το εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιήθηκε

Αν η παριστά το νιτρομεθάνιο:

$k_n$ : το συντελεστή του απάντησης,

$m_n$ : τη μάζα του σε g μέσα στο μείγμα,

$S_n$ : την επιφάνεια της κορυφής του-

αν  $c$  παριστά το εσωτερικό πρότυπο (χλωροφόρμιο ή 2,4-διμεθυλοεπτάνιο):

$m_c$ : τη μάζα του σε g μέσα στο μείγμα,

$S_c$ : την επιφάνεια της κορυφής του,

ο τύπος θα είναι:

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

(Το  $k_n$  εξαρτάται από τη συσκευή.)

- 6.2. Συγκέντρωση του νιτρομεθάνιου στο δείγμα

Αν η παριστά το νιτρομεθάνιο:

$k_n$ : ο συντελεστής του απάντησης,

$S_n$ : η επιφάνεια της κορυφής του-

αν  $c$  παριστά το εσωτερικό πρότυπο (χλωροφόρμιο ή 2,4-διμεθυλοεπτάνιο):

$m_c$ : η μάζα του σε g στο μείγμα.

$S_c$ : η επιφάνεια της κορυφής του.

$M$ : η μάζα του σε g δείγματος aerosol που έχει μεταφερθεί,

το εκατοστιαίο ποσοστό  $m/m$  νιτρομεθάνιου μέσα στο δείγμα θα είναι ίσο με:

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



## 7. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (6)

Για μια περιεκτικότητα σε νιτρομεθάνιο της τάξης του 0,3 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να ξεπερνά το 0,03 %.

## V. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΘΕΙΟΓΛΥΚΟΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΚΑΤΣΑΡΩΜΑ Ή ΤΟ ΙΣΙΩΜΑ ΤΩΝ ΜΑΛΛΙΩΝ ΚΑΙ ΣΤΑ ΑΠΟΤΡΙΧΩΤΙΚΑ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει την ανίχνευση και τον προσδιορισμό του θειογλυκολικού οξέος στα προϊόντα για το κατσάρωμα ή το ίσιωμα των μαλλιών και τα αποτριχωτικά, παρουσία, ενδεχόμενα, άλλων αναγωγικών.

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε θειογλυκολικό οξύ, προσδιορισμένη σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, εκφράζεται σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας του θειογλυκολικού οξέος.

### 3. ΑΡΧΗ

Το θειογλυκολικό οξύ ανιχνεύεται είτε με χρωστική αντίδραση είτε με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας. Ο προσδιορισμός του πραγματοποιείται είτε με ιωδιομετρία είτε με χρωματογραφία σε αέρια φάση.

### 4. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

#### 4.1. Ανίχνευση με χημική οδό

##### 4.1.1. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

##### 4.1.1.1. Χάρτης ποτισμένος με οξεικό μόλυβδο.

##### 4.1.1.2. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1:1.

#### 4.1.2. Τρόπος ενέργειας

##### 4.1.2.1. Ανίχνευση του θειογλυκολικού οξέος με χρωστική αντίδραση με τον οξεικό μόλυβδο

Αποθέτουμε μία σταγόνα δείγματος προς ανάλυση πάνω σε χάρτη οξεικού μολύβδου (4.1.1.1). Αν λάβουμε μια χρώση έντονη κίτρινη έχουμε πιθανή παρουσία θειογλυκολικού οξέος.

Ευαισθησία: 0,5 %.

##### 4.1.2.2. Χαρακτηρισμός θειούχων με σχηματισμό $H_2S$ έπειτα από οξίνιση

Σε δοκιμαστικό σωλήνα, εισάγονται μερικά mg του προς μελέτη δείγματος. Προστίθενται 2 ml αποσταγμένου νερού και 1 ml HCl 1:1 (4.1.1.2). Παρατηρείται έκλυση  $H_2S$  αναγνωριζόμενη από την οσμή και από το σχηματισμό μαύρου ιζήματος  $PbS$  πάνω σε χαρτί ποτισμένο με οξεικό μόλυβδο (4.1.1.1)

Ευαισθησία: 50 ppm.

4.1.2.3. Χαρακτηρισμός θειωδών με σχηματισμό SO<sub>2</sub> έπετα από οξίνιση.

Ενεργούμε όπως στο 4.1.2.2. Φέρουμε σε βρασμό. Το SO<sub>2</sub> αναγνωρίζεται από την οσμή και τις αναγωγικές του ιδιότητες έναντι MnO<sub>4</sub> σαν παράδειγμα.

4.2. Ανίχνευση με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

4.2.1. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια, πλην αντίθετης μνείας, πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

4.2.1.1. Θειογλυκολικό οξύ ελεγμένο ιωδιμετρικά: καθαρότητα 98 % (ATG).

4.2.1.2. Διθειογλυκολικό οξύ: καθαρότητα 99 % (ADTG).

4.2.1.3. Θειογαλακτικό οξύ: καθαρότητα 95 % (ATL).

4.2.1.4. 3-μερκαπτοπροπιονικό οξύ: καθαρότητα 98 % (AMP).

4.2.1.5. 1-θειογλυκερίνη: καθαρότητα 98 % (TG).

4.2.1.6. Gel silice G-HR ή πλάκες έτοιμες για χρήση που αντιστοιχούν σε πάχος 0,25 mm ενεργοποιημένες στους 110 ° C επί 30 λεπτά.

4.2.1.7. Οξειδιο αργιλίου F 254, τύπος E Merck (ή ισοδύναμο), ή πλάκες έτοιμες για χρήση πάχους 0,25 mm.

4.2.1.8. Υδροχλωρικό οξύ πυκνό (d420 = 1,19).

4.2.1.9. Οξεικό αιθύλιο.

4.2.1.10. Χλωροφόρμιο.

4.2.1.11. Διισοπροπυλαιθέρας.

4.2.1.12. Τετραχλωράνθρακας.

4.2.1.13. Οξεικό οξύ glacial.

4.2.1.14. Υδατικό διάλυμα ιωδιούχου καλίου 1 % (m/v).

4.2.1.15. Υδατικό διάλυμα χλωριούχου ψευδάργυρου 0,1 % (m/v).

4.2.1.16. Διαλύτες ανάπτυξης

4.2.1.16.1. Οξεικό αιθύλιο - χλωροφόρμιο - διισοπροπυλαιθέρας - οξεικό οξύ glacial (20:20:10:10) (κατ' όγκον).

4.2.1.16.2. Χλωροφόρμιο - οξεικό οξύ glacial (90:20) (κατ' όγκον).

4.2.1.17. Διαλύματα εμφάνισης.

4.2.1.17.1. Αναμειγνύουμε αμέσως πριν τη χρήση ίσους όγκους από το διάλυμα και το διάλυμα 4.2.1.15.

4.2.1.17.2. Διάλυμα βρωμίου 5 % (m/v):

Διαλύονται 5 g βρωμίου σε 100 ml  $CCl_4$  (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Διάλυμα φλουορεσκεΐνης 0,1 % (m/v):

Διαλύονται 100 mg φλουορεσκεΐνης σε 100 ml αιθανόλης 95 %.

4.2.1.17.4. Υδατικό διάλυμα μολυβδαινικού αμμωνίου 10 % (m/v).

4.2.1.18. Διαλύματα αναφοράς

4.2.1.18.1. Υδατικό διάλυμα θειογλυκολικού οξέος 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.2. Υδατικό διάλυμα διθειογλυκολικού οξέος 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.3. Υδατικό διάλυμα θειογαλακτικού οξέος 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.4. Υδατικό διάλυμα 3-μερκαπτοπροπιονικού οξέος 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.5. Υδατικό διάλυμα 1-θειογλυκερίνης 0,4 % (m/v).

4.2.2. Εξοπλισμός

Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

4.2.3. Τρόπος ενέργειας

4.2.3.1. Επεξεργασία των δειγμάτων

Οξινίζουμε με μερικές σταγόνες υδροχλωρικού οξέος (4.2.1.8.) μέχρι pH 1 και διηθούμε αν χρειάζεται. Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να οδηγηθούμε σε αραιώση του δείγματος. Σε αυτές τις περιπτώσεις οξινίζουμε με υδροχλωρικό οξύ πριν πραγματοποιήσουμε την αραιώση.

4.2.3.2. Ανάπτυξη

Αποθέτουμε πάνω στην πλάκα 1 μl από το διάλυμα δείγματος 4.2.3.1. και 1 μl από καθένα από τα πέντε διαλύματα αναφοράς (4.2.1.18). Ξηραίνουμε προσεκτικά με ασθενές ρεύμα αζώτου και αναπτύσσουμε με τους διαλύτες ανάπτυξης 4.2.1.16.1 ή 4.2.1.16.2. Ξηραίνουμε το συντομότερο δυνατό κάτω από άζωτο, έτσι που να αποφευχθεί οξειδωση των θειολών.

4.2.3.3. Εμφάνιση.

Ψεκάσουμε πάνω στην πλάκα το αντιδραστήριο 4.2.1.17.1 ή 4.2.1.17.3 ή 4.2.1.17.4. Όταν η πλάκα έχει ψεκαστεί με το αντιδραστήριο 4.2.1.17.3, τοποθετείται σε κορεσμένο με βρωμίο θάλαμο (4.2.1.17.2) μέχρις ότου οι κηλίδες καταστούν ορατές. Όταν η πλάκα έχει ψεκαστεί με το αντιδραστήριο 4.2.1.17.4, η εμφάνιση δεν θα είναι καλή παρά μόνο αν ο χρόνος ξήρανσης της στοιβάδας δεν έχει υπερβεί 1/2 της ώρας.

4.2.3.4. Ανάγνωση

Συγκρίνουμε τις τιμές των  $R_f$  και τα χρώματα των διαλυμάτων αναφοράς με εκείνα του διαλύματος δείγματος. Τα μέσα  $R_f$  επί στοιβάδας  $silice$  δίδονται παρακάτω ενδεικτικά και δεν έχουν παρά μια συγκριτική αξία. Στην πράξη εξαρτώνται:

- από την κατάσταση ενεργοποίησης της στοιβάδας τη στιγμή της χρωματογραφίας.
- από τη θερμοκρασία του θαλάμου χρωματογραφίας.

## Πίνακας Rf για σποιβάδα silice

	Διαλύτες ανασπύξης	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Θειογλυκολικό οξύ	0,25	0,80
Θειογαλακτικό οξύ	0,40	0,95
Διθειογλυκολικό οξύ	0,00	0,35
3-μερκαπτοπροπιονικό οξύ	0,45	0,95
1-θειογλυκερίνη	0,45	0,35

## 5. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ (7)

Αρχίζουμε πάντα με μια ιωδιομετρία.

## 5.1. Ιωδιομετρία

## 5.1.1. Αρχή

Ο προσδιορισμός πραγματοποιείται με οξείδωση της ομάδας SH με το I<sub>2</sub> σε όξινο περιβάλλον σύμφωνα με την αντίδραση:



## 5.1.2. Αντιδραστήρια

Τιτλοδοτημένο διάλυμα ιωδίου 0,1 N.

## 5.1.3. Εξοπλισμός

Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

## 5.1.4. Τρόπος ενέργειας

Σε κωνική κλειόμενη φιάλη των 150 ml που περιέχει 50 ml απεσταγμένου νερού. Ζυγίζονται με ακρίβεια 0,500 έως 1 g δείγματος.

Προστίθενται 5 ml HCl 1:1 (4.1.1.2) (pH του διαλύματος πλησίον στο 0) και ογκομετρούμε με το ιώδιο 0,1 N (5.1.2) μέχρις εμφανίσεως κίτρινης χροιάς. Μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε δείκτη (άρμυλο, χλωροφόρμιο).

## 5.1.5. Υπολογισμός

Η περιεκτικότητα σε θειογλυκολικό οξύ υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% (\text{m} / \text{m}) = \frac{92 \times n \times 100}{1\,000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 \, n}{m}$$

όπου:

m: η μάζα σε g του υποδείγματος.

n: ο όγκος του ιωδίου 0,1 N που καταναλώθηκε.

## 5.1.6. Παρατήρηση

Αν το αποτέλεσμα, υπολογισμένο σε θειογλυκολικό οξύ είναι κατώτερο από 0,1 % στις μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις, δεν χρειάζεται να προχωρήσουμε σε άλλους υπολογισμούς. Αν το αποτέλεσμα είναι ίσο ή ανώτερο από τις μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις και αν η ανίχνευση έδειξε την παρουσία πολλών αναγωγικών, είναι πλέον απαραίτητο να προχωρήσουμε σε προσδιορισμό με χρωματογραφία σε αέρια φάση.

## 5.2. Χρωματογραφία σε αέρια φάση

### 5.2.1. Αρχή

Το θειογλυκολικό οξύ διαχωρίζεται από το έκδοχο με καταβύθιση με μορφή μερκαπτιδίου του καδμίου.

Έπειτα από μεθυλίωση με διαζωμεθάνιο παρασκευασμένο είτε αμέσως πριν τη χρήση είτε από προηγούμενως σε αιθερικό διάλυμα, το μεθυλιωμένο παράγωγο του θειογλυκολικού οξέος προσδιορίζεται με χρωματογραφία αέρια/υγρή με καπρυλικό μεθύλιο σαν εσωτερικό πρότυπο.

### 5.2.2. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 5.2.2.1. Θειογλυκολικό οξύ, καθαρό (γνωστού τίτλου).

#### 5.2.2.2. Υδροχλωρικό οξύ πυκνό $d_{420} = 1,19$ .

#### 5.2.2.3. Μεθανόλη.

#### 5.2.2.4. Υδατικό διάλυμα οξεϊκού καδμίου $2H_2O$ , 10 % (m/v).

#### 5.2.2.5. Διάλυμα καπρυλικού μεθυλίου 2 % (m/v) σε μεθανόλη.

#### 5.2.2.6. Οξεϊκό ρυθμιστικό διάλυμα pH 5:

οξεϊκό νάτριο,  $3H_2O$ : 77 g,  
οξεϊκό οξύ glacial: 27,5 ml,  
απιονισμένο νερό q.s.q.: 1 l.

#### 5.2.2.7. Πρόσφατα διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 3 N σε μεθανόλη.

#### 5.2.2.8. N-μεθυλο-N-νιτρωδο-N-νιτρογουανιδίνη.

#### 5.2.2.9. Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου 5 N.

#### 5.2.2.10. Τίτλοδοτημένο διάλυμα ιωδίου 0.1 N.

#### 5.2.2.11. Διαιθυλοξειδίο.

#### 5.2.2.12. Διάλυμα διαζωμεθάνιου παρασκευασμένο από N-μεθυλο-N-νιτρωδο-ρ. τολουολσουλφοναμίδιο κατά Fieser (*Reagents for organic synthesis*, Ed. Wiley 1967)

Το διάλυμα που λαμβάνεται περιέχει περίπου 1,5 g διαζωμεθάνιο σε 100 ml διαιθυλοξειδίο (5.2.2.11). Επειδή το διαζωμεθάνιο είναι αέριο τοξικό και πολύ ασταθές, είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν όλα τα πειράματα κάτω από ισχυρό απαγωγό και επίσης να αποφευχθεί η χρησιμοποίηση σκευών με εσμμρισμένες συνδεσμολογίες.

## 5.2.3. Εξοπλισμός

## 5.2.3.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

5.2.3.2. Διάταξη για παρασκευή διαζωμεθάνιου αμέσως πριν τη χρήση (An. Chem. 45, 1973, 2302).

5.2.3.3. Διάταξη για από πριν παρασκευη διαζωμεθάνιου κατά Fieser.

## 5.2.4. Προετοιμασία του δείγματος

Σε σωλήνα φυγοκέντρησης των 50 ml ζυγίζουμε με ακρίβεια μάζα του δείγματος τέτοια που η υποτιθέμενη ποσότητα θειογλυκολικού οξέος να είναι της τάξης των 50 έως 70 mg. Οξινίζουμε με μερικές σταγόνες πυκνού HCl (5.2.2.2) μέχρι λήψεως pH γειτονικού στο 3.

Προσθέτουμε: 5 ml απιονισμένο νερό.

10 ml οξεικού ρυθμιστικού διαλύματος (5.2.2.6).

Εξακριβώνουμε με χάρτινο δείκτη ότι το pH είναι γειτονικό στο 5.

Κατόπιν προσθέτουμε 5 ml διαλύματος οξεικού καδμίου (5.2.2.4).

Περιμένουμε 10 λεπτά και φυγοκεντρούμε επί 15 τουλάχιστον λεπτά στα 4 000 g. Διαχωρίζουμε το υγρό που επιπλέει. Μπορεί να συμβεί το υγρό τούτο να περιέχει ένα αδιάλυτο λιπαρό (περίπτωση κρέμας), που δεν πρέπει να συγχυστεί με το μερκαπτιδίο του καδμίου που έχει συγκεντρωθεί με ενιαίο τρόπο στον πυθμένα του σωλήνα.

Εξακριβώνουμε την απουσία ιζήματος κατά τη διάρκεια της προσθήκης μέσα στο υγρό επίπλευσης μερικών σταγόνων διαλύματος οξεικού καδμίου (5.2.2.4). Στην περίπτωση όπου οι προηγούμενες διερευνήσεις δείχνουν απουσία αναγωγικών παραγόντων άλλων από θειόλες, εξακριβώνουμε με κωδικομετρία ότι η παρουσία θειολών στο υγρό επίπλευσης δεν υπερβαίνει το 6 έως 8 % της αρχικής ποσότητας.

Στο σωλήνα φυγοκέντρησης που περιέχει το ίζημα εισάγονται 10 ml μεθανόλης (5.2.2.3), κατανέμει ομοιόμορφα το ίζημα με τη βοήθεια ράβδου, φυγοκεντρούμε εκ νέου επί 15 τουλάχιστον λεπτά στα 4 000 g. Μεταγίζουμε το υγρό που επιπλέει και εξακριβώνουμε με ιωδομετρία την απουσία θειολών.

Ένα δεύτερο πλύσιμο πραγματοποιείται με τις ίδιες συνθήκες.

Στο σωλήνα φυγοκέντρησης, πάντοτε, προστίθενται:

- 2 ml διαλύματος καπρυλικού μεθυλίου (5.2.2.5).

- 5 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος με μεθανόλη (5.2.2.7).

Διαλύουμε πλήρως το μερκαπτιδίο (δυνατόν να συμβεί να παραμείνει ένα μικρό ποσοστό αδιάλυτου που θα οφείλεται στο έκδοχο).

Λαμβάνεται το διάλυμα S.

Σε ένα μέρος του διαλύματος S εξακριβώνουμε ιωδομετρικά την περιεκτικότητα σε θειόλες που πρέπει να είναι τουλάχιστον ίση με το 90 % εκείνης που λήφθηκε στο σημείο 5.1.

## 5.2.5. Μεθυλίωση

Η μεθυλίωση πραγματοποιείται είτε αμέσως πριν από τη χρήση, κατά τη μέθοδο που περιγράφεται στο σημείο 5.2.5.1, είτε με τη βοήθεια ενός διαλύματος διαζωμεθάνιου παρασκευασμένου από πριν κατά το σημείο 5.2.5.2.

#### 5.2.5.1. Μεθυλίωση αμέσως πριν από τη χρήση

Μέσα στη διάταξη (5.2.3.2) που περιέχει 1 ml διαιθυλοξειδίου (5.2.2.11), εισάγουμε 50 ml από το διάλυμα S. Μεθυλιώνουμε κατά τη μέθοδο που αναφέρεται στο σημείο

με 300 mg N-μεθυλο-N-νιτροωδο-N-νιτρογουανιδίνη (5.2.2.8).

Έπειτα από 15 λεπτά, εξακριβώνουμε ότι το διάλυμα περιέχει περίσσεια διαζωμεθάνιου (διάλυμα κίτρινο) και μεταγγίζουμε σε φιαλίδιο των 2 ml κλειόμενο ερμητικά. Το φιαλίδιο τοποθετείται σε ψυγείο επί μία νύχτα.

Πραγματοποιούμε ταυτόχρονα δύο μεθυλίωσεις.

#### 5.2.5.2. Μεθυλίωση με το διάλυμα διαζωμεθάνιου παρασκευασμένο από πριν (5.2.2.12).

Σε κλειόμενη φιάλη των 5 ml εισάγεται 1 ml διαζωμεθάνιου (5.2.2.12), κατόπιν 50 ml διαλύματος S. Αφήνουμε σε ψυγείο επί μία νύχτα.

#### 5.2.6. Προετοιμασία του προτύπου

Παρασκευάζουμε ένα πρότυπο διάλυμα θειογλυκολικού οξέος γνωστού τίτλου που περιέχει περίπου 60 mg θειογλυκολικού οξέος σε έναν όγκο 2 ml. Λαμβάνουμε το διάλυμα E.

Προβαίνουμε στην καθίζηση, στους προσδιορισμούς και στη μεθυλίωση όπως υποδεικνύεται στα σημεία 5.2.4. και 5.2.5.

#### 5.2.7. Συνθήκες χρωματογραφίας σε αέρια φάση

##### 5.2.7.1. Στήλη: Υλικό: ανοξειδωτος χάλυβας.

Μήκος: 2 m.

Εσωτερική διάμετρος: 3 mm.

##### 5.2.7.2. Πλήρωση: Φεαλικό διδεκύλιο 20 % πάνω σε Chrom WAN 80-100 mesh.

##### 5.2.7.3. Ανιχνευτής:

Ιονισμός φλόγας.

Είναι καλύτερα το ηλεκτρόμετρο να βασίζεται σε μια ευαισθησία από 8 x 10<sup>10</sup> A.

##### 5.2.7.4. Αέρια:

φέρον αέριο: άζωτο: πίεση 2,2 bar,

παροχή 35 ml/min-

βοηθητικό αέριο: υδρογόνο: πίεση 1,8 bar,

παροχή 15 ml/min-

ανιχνευτής: αέριο που συνιστάται από τον παρασκευαστή.

## 5.2.7.5. Θερμοκρασίες:

περιοχή εισαγωγής: 200 ° C

ανιχνευτής: 200 ° C

στήλη: 90 ° C

## 5.2.7.6. Καταγραφείας:

εκτύλιξη: 5 mm/min.

## 5.2.7.7. Ενιόμενη ποσότητα: 3 μl.

Γίνονται πέντε πειράματα σε κάθε μεθυλωμένο δείγμα.

## 5.2.7.8. Οι συνθήκες χρωματογραφίας δίδονται ενδεικτικά και επιτρέπουν να ληφθεί ένας διαχωρισμός R 1,5, δεδομένου ότι:

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

όπου:

 $r_1$  και  $r_2$ : χρόνοι κατακράτησης σε min, $W_1$  και  $W_2$ : εύρος κορυφών στο μισό του ύψους σε mm,

d: ταχύτητα εκτύλιξης σε mm/min.

Συνιστάται να περατωθεί η χρωματογραφία με έναν προγραμματισμό από 90 στους 150 ° C, με 10 ° C/min, προκειμένου να αποφευχθούν οι ουσίες που δυνατόν να παρέμβουν κατά τις μετρήσεις που ακολουθούν.

## 5.2.8. Υπολογισμοί

## 5.2.8.1. Συντελεστής αναλογίας του θειογλυκολικού οξέος

Έχει υπολογιστεί σε σχέση με το καπρυλικό μεθύλιο ξεκινώντας από πρότυπο μείγμα.

Έστω:

t: το θειογλυκολικό οξύ.

kt: ο συντελεστής του αναλογίας.

mt: η μάζα του (σε mg) στο μείγμα.

St: η επιφάνεια της κορυφής του.

c: το καπρυλικό μεθύλιο.

mc: η μάζα του (σε mg) στο μείγμα.

Sc: η επιφάνεια της κορυφής του.



$$k_1 = \frac{m_i}{m_c} \times \frac{S_c}{S_i}$$

Ο συντελεστής αυτός είναι συνάρτηση της συσκευής.

#### 5.2.8.2. Συγκέντρωση του θειογλυκολικού οξέος στο δείγμα

Έστω:

$l$ : το θειογλυκολικό οξύ,

$k_1$ : ο συντελεστής τού αναλογίας,

$S_l$ : η επιφάνεια της κορυφής του,

$c$ : το καπρυλικό μεθύλιο,

$m_c$ : η μάζα του (σε mg) στο μείγμα,

$S_c$ : η επιφάνεια της κορυφής του,

$M$ : η μάζα (σε mg) του αρχικού υποδείγματος-  
το εκατοστιαίο ποσοστό (m/m) του θειογλυκολικού οξέος στο μείγμα ισούται με:

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_1 \times S_l}{S_c} \times 100$$

### 6. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ(8)

Για μια περιεκτικότητα σε θειογλυκολικό οξύ από 8 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,8 %.

## VI. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΕΞΑΧΛΩΡΟΦΑΙΝΙΟΥ

### A. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος εφαρμόζεται σε όλα τα καλλυντικά.

#### 2. ΑΡΧΗ

Το εξαχλωροφαίνιο που περιέχεται στο δείγμα εκχυλίζεται με οξείκο αιθύλιο και ταυτοποιείται με χρωματογραφία λεπτής στειβάδας.

#### 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 3.1. Διάλυμα θειικού οξέος 8 N.

- 3.2. Celite AW.
- 3.3. Οξείκό αιθύλιο.
- 3.4. Διαλύτης ανάπτυξης:  
Βενζόλιο που περιέχει 1 % (v/v) οξείκό οξύ glacial.
- 3.5. Εμφανιστής I:  
Διάλυμα ροδαμίνης Β: διαλύονται 100 mg ροδαμίνης Β σε μείγμα από 150 ml διαιθυλοξείδιου, 70 ml απόλυτης αιθανόλης και 16 ml νερού.
- 3.6. Εμφανιστής II:  
Διάλυμα 2,6-διβρωμωκόκκινοχλωριμίδιου: διαλύονται 400 mg 2,6-διβρωμοκίνοχλωριμίδιου σε 100 ml μεθανόλης (παρασκευάζεται καθημερινά).  
Διάλυμα ανθρακικού νατρίου: διαλύονται 10 g ανθρακικού νατρίου σε 100 ml απιονισμένου νερού.
- 3.7. Πρότυπο διάλυμα:  
Διάλυμα 0,05 % (m/v) εξαχλωροφαίνιου σε οξείκό αιθύλιο (3.3).
4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 4.1. Πλάκες CCM από silice F 254 20 x 20 cm.
- 4.2. Συνθήκες εξοπλισμός εργαστηρίου για χρωματογραφία λεπτής σταιβάδας.
- 4.3. Λουτρό με θερμοστάτη για 25 ° C.
5. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
- 5.1. Αναμειγνύουμε προσεκτικά 1 g δείγματος ομοιογενοποιημένου με 1 g celite AW (3.2) και 1 ml διάλυμα θειικού οξέος (3.1).
- 5.2. Ξηραίνουμε στους 100 ° C επί 2 ώρες.
- 5.3. Ψύχουμε και μετατρέπουμε το ξηραμμένο υπόλειμμα σε λεπτή σκόνη.
- 5.4. Εχχυλίζουμε δύο φορές με κάθε φορά 10 ml οξείκού αιθυλίου (3.3).  
Φυγοκεντρούμε έπειτα από κάθε εχχύλιση και συλλέγουμε τις φάσεις οξείκού αιθυλίου.
- 5.5. Εξατμίζουμε στους 60 ° C.
- 5.6. Διαλύουμε το ίζημα σε 2 ml οξείκού αιθυλίου (3.3).
6. ΤΡΟΓΙΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ
- 6.1. Φέρουμε 2 ml από το διάλυμα δείγματος (5.6) και 2 ml διάλυμα αναφοράς (3.7) πάνω σε πλάκα CCM (4.1).
- 6.2. Κορέννεται θερμοστατικά ρυθμισμένος στους 26 ° C θάλαμος με το διαλύτη ανάπτυξης (3.4).
- 6.3. Τοποθετείται η πλάκα CCM μέσα στο θάλαμο και αναπτύσσεται μέχρι τα 15 cm.

- 6.4. Αποσύρεται η πλάκα και ξηραίνεται στο πυριαντήριο στους 105 ° C.
- 6.5. Εμφάνιση:
- Εμφανίζουμε τις κηλίδες εξαχλωροφαίνιου όπως υποδεικνύεται στα σημεία 6.5.1 ή 6.5.2.
- 6.5.1. Ψεκάζουμε τον εμφανιστή I (3.5) κατά ομοιόμορφο τρόπο επί της πλάκας. Έπειτα από 30 λεπτά εξετάζεται η πλάκα κάτω από φως UV στα 254 nm.
- 6.5.2. Ψεκάζουμε τον εμφανιστή II (3.6) χρησιμοποιώντας διαδοχικά το διάλυμα διβρωμοκινονοχλωριμίδιου, κατόπιν το διάλυμα ανθρακικού νατρίου. Εξετάζεται η πλάκα στο διάχυτο φως (ημέρας) έπειτα από 10 λεπτά ξήρανσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

## 7. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

- 7.1. Εμφανιστής I (3.5):
- Το εξαχλωροφαίνιο εμφανίζεται με μορφή κυανωπών κηλίδων σε φόντο κίτρινο-πορτοκαλί, φθορίζον, και παρουσιάζει ένα Rf περίπου 0,5.
- 7.2. Εμφανιστής II (3.6):
- Το εξαχλωροφαίνιο εμφανίζεται με μορφή κηλίδων κυανών έως κυανοπρασίνων σε φόντο λευκό και παρουσιάζει ένα Rf περίπου 0,5.

## B. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος ισχύει για όλα τα καλλυντικά.

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε εξαχλωροφαίνιο, προσδιορισμένη με αυτή τη μέθοδο, εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας εξαχλωροφαίνιου.

### 3. ΑΡΧΗ

Έπειτα από μετατροπή σε μεθυλωμένο παράγωγο, το εξαχλωροφαίνιο προσδιορίζεται με χρωματογραφία αέριας φάσης, με ανιχνευτή πρόσληψης ηλεκτρονίων. Η μέθοδος επιβάλλει τη χρησιμοποίηση εσωτερικού προτύπου.

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Οξείκο αιθύλιο
- 4.2. N-μεθύλο-N-νιτρωδο-p-τολουολοσουλφοναμίδιο (diazald).
- 4.3. Δισαιλοξειδίο.
- 4.4. Μεθανόλη.
- 4.5. Δισαιθυλενο-γλυκολο-μονοαιθυλαιθέρας (carbitol).
- 4.6. Φορμικό οξύ.

4.7. Υδροξειδίο του καλίου, υδατικό διάλυμα 50 % (m/m), παρασκευασμένο αμέσως πριν τη χρήση

4.8. Εξάνιο για φασματοφωτομετρία.

4.9. Βρωμοχλωροφαίνιο (πρότυπο αριθ. 1)

4.10. Thiobis (2-υδροξυ-3,5-διχλωρο-φαινόλιο) (πρότυπο αριθ. 2).

4.11. 2,4,4-τριχλωρο-2-υδροξυ-διφαινυλαιθέρας (πρότυπο αριθ. 3).

4.12. Ακετόνη.

4.13. Θεϊκό οξύ 8 N.

4.14. Celite AW.

4.15. Διάλυμα φορμικού οξέος σε οξείκο αιθύλιο 10 % (v/v).

4.16. Εξαχλωροφαίνιο.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

5.2. Μικροσυσκευή για την παρασκευή του διαζωμεθάνιου (Anal. Chem. 45, 1973, 2302,-3).

5.3. Χρωματογράφος αέριας φάσης, εφοδιασμένος με ανιχνευτή πρόσληψης ηλεκτρονίων πηγή (63 Ni).

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

6.1. Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων

Το πρότυπο εκλέγεται έτσι ώστε να μην παρεμβαίνει με καμιά ουσία που περιέχεται στο έκδοχο του προς ανάλυση προϊόντος. Γενικά το πρότυπο αριθ. 1 (4.9) ταιριάζει περισσότερο.

6.1.1. Ζυγίζουμε προσεκτικά περίπου 50 mg πρότυπο αριθ. 1 (4.9), αριθ. 2 (4.10) ή αριθ. 3 (4.11) και 50 mg εξαχλωροφαίνιου (4.16) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με οξείκο αιθύλιο (4.1) (διάλυμα Α). Διαλύουμε 10 ml από το διάλυμα Α στα 100 ml με οξείκο αιθύλιο (4.1) (διάλυμα Β).

6.1.2. Ζυγίζουμε προσεκτικά περίπου 50 mg πρότυπο αριθ. 1 (4.9), αριθ. 2 (4.10) ή αριθ. 3 (4.11) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με οξείκο αιθύλιο (4.1) (διάλυμα Γ).

6.2. Προετοιμασία του δείγματος(9)

Ζυγίζεται με ακρίβεια 1 g δείγματος, ομοιογενοποιείται και αναμειγνύεται προσεκτικά με 1 ml θειικού οξέος (4.13), 15 ml ακετόνης (4.12) και 8 g celite AW (4.1). Ξηραίνουμε στον αέρα το μείγμα επί 30 λεπτά πάνω σε ατμόλουτρο, κατόπιν ξηραίνουμε επί 1 ώρα και 30 λεπτά σε αεριζόμενο φούρνο. Ψύχουμε, κονιοποιούμε το υπόλειμμα και μεταφέρουμε μέσα σε σάβηλο στήλη. Εκλούουμε με οξείκο αιθύλιο και συλλέγουμε 100 ml. Προσθέτουμε 2 ml εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (διάλυμα Γ) (6.12).

6.3. Μεθυλίωση του δείγματος

Ψύχουμε όλα τα αντιδραστήρια και τον εξοπλισμό μεταξύ 0 ° C και 4 ° C επί 2 ώρες. Φέρουμε 1,2 ml από το διάλυμα που πάρθηκε στο 6.2 και 0,1 ml μεθανόλης (4.4) στο εξωτερικό διαμέρισμα της διάταξης για διαζωμεθάνιο.

Τοποθετούμε περίπου 200 mg diazald (4.2) στον κεντρικό υποδοχέα, προσθέτουμε 1 ml carbital (4.5) και 1 ml διαιθυλοξειδίου (4.3) και διαλύουμε. Συναρμολογούμε τις συσκευές, βυθίζουμε κατά το ήμισυ τη διάταξη μέσα σε λουτρό στους 0 ° C και εισάγουμε στον κεντρικό υποδοχέα, με τη βοήθεια μιας σύριγγας, περίπου 1 ml διαλύματος υδροξειδίου του καλίου ψυγμένο (4.7). Παράγεται μια χρώση κίτρινη που πρέπει να είναι διαρκείας. Αν η κίτρινη χρώση εξαφανιστεί επαναλαμβάνουμε τη μεθυλίωση με ακόμη 200 mg diazald (4.2) (10).

Η διάταξη αποσύρεται από το λουτρό έπειτα από 15 λεπτά, κατόπιν αφήνεται κλειστή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί 12 ώρες. Ανοίγουμε τη συσκευή, απομακρύνουμε την περίσσεια διαζωμεθάνιου προσθέτοντας μερικές σταγόνες διαλύματος φορμικού οξέος σε οξείκο αιθύλιο (4.15) και μεταφέρουμε το οργανικό διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml. Σύμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με εξάνιο (4.8). Ενίουμε 1,5 ml από το διάλυμα αυτό στο χρωματογράφο.

#### 6.4. Μεθυλίωση του πρότυπου διαλύματος

Ψύχουμε όλα τα αντιδραστήρια και τη διάταξη σε θερμοκρασία που περιλαμβάνεται μεταξύ 0 ° C και 4 ° C επί 2 ώρες. Εισάγουμε στο εξωτερικό διαμέρισμα της συσκευής του διαζωμεθάνιου:

0,2 ml διαλύματος Β (6.1.1),

1,0 ml οξείκου αιθυλίου (4.1),

0,1 ml μεθανόλης (4.4).

Συνεχίζουμε τη μεθυλίωση όπως περιγράφεται στο 6.3. Ενίουμε 1,5 ml από το διάλυμα που πάρθηκε μέσα στο χρωματογράφο.

#### 7. ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΕ ΑΕΡΙΑ ΦΑΣΗ

Η στατική φάση πρέπει να δώσει ένα βαθμό διαχωρισμού (R) τουλάχιστον ίσο με 1,5.

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

όπου:

$r_1$  και  $r_2$ : χρόνοι κατακράτησης εκφρασμένοι σε min,

$4W_1$  και  $W_2$ : εύρος κορυφών στο μέσο του ύψους,

$d$ : ταχύτητα εκτύλιξης χάρτου σε mm/min.

Οι παραπάνω συνθήκες τρόπου εργασίας επιτρέπουν να ληφθεί αυτό το αποτέλεσμα

Υλικό της στήλης	ανοξειδωτος σωλήνας
Μήκος	170 cm
Διάμετρος	3 mm
Πλήρωση	
chlomacolb	WAW
μέγεθος κόκκων	80-100 mesh
Στάσιμη φάση	OV-17 10
Θερμοκρασίες	
στήλη	280 oC
διάταξη εισόδου	280 oC
ανχνευτής	280 oC
Φέρον αέριο	Άζωτο U απαλλαγμένο οξυγόνου
παροχή	30 ml/min
πίεση	2,3 bar

## 8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

### 8.1. Συντελεστής αναλογίας εξαχλωροφαιίνου

Υπολογίζεται σύμφωνα με το πρότυπο που εκλέχτηκε σε σχέση με το πρότυπο μείγμα.

Έστω:

$h$ : το εξαχλωροφαιίνιο,

$k_h$ : ο συντελεστής του αναλογίας,

$m_h$ : η μάζα του στο πρότυπο μείγμα σε g,

$A_h$ : η επιφάνεια της κορυφής του,

$S$ : το πρότυπο που εκλέχτηκε,

$m_s$ : η μάζα του στο μείγμα σε g,

$A_s$ : η επιφάνεια της κορυφής του-

από όπου:

$$k_h = \frac{m_h}{m_s} \times \frac{A_s}{A_h}$$

### 8.2. Ποσότητα εξαχλωροφαιίνου στο δείγμα

Έστω:

$h$ : το εξαχλωροφαιίνιο,

$k_h$ : ο συντελεστής του αναλογίας,

$A_h$ : η επιφάνεια της κορυφής του,

S: το πρότυπο που εκλέχθηκε,

$m_s$ : η μάζα του στο μείγμα σε g,

$A_s$ : η επιφάνεια της κορυφής του,

M: η μάζα του δείγματος που πάρθηκε σε g?

από όπου το επί τοις εκατό ποσοστό μάζας εξαχλωροφαίνιου μέσα στο δείγμα δίνεται από τον τύπο:

$$\frac{m_s \times k_n \times \lambda_n \times 100}{M \times \lambda_s}$$

#### 9. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (11)

Για μια περιεκτικότητα σε εξαχλωροφαίνιο 0,1 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιούμενων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να ξεπερνάει το 0,005 %.

### VII. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥ ΜΕ ΝΑΤΡΙΟ ΤΟΥ ΠΑΡΑ-ΤΟΛΟΥΟΛΟΣΟΥΛΦΟΧΛΩΡΑΜΙΔΙΟΥ (ΧΛΩΡΑΜΙΝΗ Τ)

#### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον προσδιορισμό του παράγωγου με νάτριο του παρα-τολουολοσσουλφοναμιδίου (χλωραμίνη Τ) στο σύνολό του μέσα στα καλλυντικά προϊόντα με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

#### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε χλωραμίνη Τ, προσδιορισμένη με τη μέθοδο αυτή, εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας.

#### 3. ΑΡΧΗ

Σε υδροχλωρικό διάλυμα εν θερμώ, η χλωραμίνη Τ υδρολύεται πλήρως σε 4-τολουολοσσουλφοναμίδιο. Η ποσότητα του 4-τολουολοσσουλφοναμιδίου που σχηματίζεται προσδιορίζεται με φωτοοπκνομετρία μετά από χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

#### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Παράγωγο νατρίου του παρα-τολουολοσσουλφοναμιδίου (χλωραμίνη Τ).
- 4.2. Πρότυπο διάλυμα 4-τολουολοσσουλφοναμιδίου: 50 mg 4-τολουολοσσουλφοναμιδίου διαλύονται σε 100 ml αιθανόλης (4.5).
- 4.3. Υδροχλωρικό οξύ 37 % (m/m)  $d_{420} = 1,18$ .
- 4.4. Διαθειλαιθέρας.

- 4.5. Αιθανόλη 96 % (v/v).
- 4.6. Διαλύτης ανάπτυξης.
- 4.6.1. Βουτανόλη-1/αιθανόλη 96 % (4.5)/νερό (40:4:9, v/v/v) ή
- 4.6.2. Χλωροφόρμιο/ακετόνη (6:4, v/v).
- 4.7. Πλάκες CCM από silica gel 60 χωρίς φθορίζοντα δείκτη.
- 4.8. Υπερμαγγανικό κάλιο.
- 4.9. Υδροχλωρικό οξύ 15 % (m/m).
- 4.10. Αντιδραστήριο ψεκασμού: διάλυμα 1 % (m/v) ο-τολουιδίνης σε αιθανόλη (4.5).

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
- 5.2. Συνήθης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.
- 5.3. Φωτοπυκνόμετρο.

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

### 6.1. Υδρόλυση

Ζυγίζουμε επεκκριβώς σε σφαιρική φιάλη των 50 ml, περίπου 1 g (m) δείγματος, προσθέτουμε 5 ml νερό, 5 ml υδροχλωρικού οξέος (4.3) και ζέουμε επί 1 ώρα κάτω από ψυκτήρα. Μεταγγίζουμε αμέσως το αιώρημα ακόμη θερμό, με νερό, μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, ψύχουμε και συμπληρούμε μέχρι της χαραγής με νερό. Φυγοκεντρούμε τουλάχιστον επί 5 λεπτά στις 3 000 στροφές στο λεπτό και διηθούμε το υγρό που επιπλέει.

### 6.2. Εκχύλιση

- 6.2.1. Παραλαμβάνουμε 30 ml από το διήθημα και εκχυλίζουμε τρεις φορές με 15 ml διαιθυλαιθέρα (4.4). Ξηραίνουμε, αν χρειάζεται, τις αιθερικές φάσεις και τις συλλέγουμε σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, συμπληρώνουμε μέχρι της χαραγής με διαιθυλαιθέρα (4.4).
- 6.2.2. Παραλαμβάνουμε 25 ml από το αιθερικό εκχύλισμα, εξατμίζουμε μέχρι ξηρού σε ρεύμα αζώτου. Επαναδιαλύουμε το εκχύλισμα σε 1 ml αιθανόλης (4.5).

### 6.3. Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

- 6.3.1. Αποθέτουμε στάγδην πάνω σε πλάκα silica gel 60 (4.7) 20 μl από το διαλυμένο υπόλειμμα σε αιθανόλη (6.2). Αποθέτουμε κατά τον ίδιο τρόπο 8, 12, 16 και 20 μl από το πρότυπο διάλυμα 4-τολουοσουλφοναμίδιου (4.2).
- 6.3.2. Αναπτύσσουμε στη συνέχεια μέχρις ύψους 15 cm περίπου μέσα στο διαλύτη (4.6.1. ή 4.6.2.).
- 6.3.3. Έπειτα από πλήρη εξάτμιση του διαλύτη, τοποθετούμε την πλάκα επί δύο έως τρία λεπτά σε ατμόσφαιρα ατμών χλωρίου που λαμβάνουμε χύνοντας περίπου 100 ml υδροχλωρικού οξέος (4.9) επί 2 g περίπου υπερμαγγανικού καλίου (4.8) μέσα σε κλειστό δοχείο. Εκδιώκουμε την περίσσεια χλωρίου θερμαίνοντας την πλάκα στους 100 ° C επί 5 λεπτά. Ψεκάζουμε πάνω στην πλάκα το αντιδραστήριο (4.10).



## 6.4. Μέτρηση

Έπειτα από περίπου μία ώρα μετρούμε την ένταση των ιωδών κηλίδων με φωτοπυκνομετρία στα 525 nm (5.3).

## 6.5. Κατάστρωση της πρότυπης καμπύλης

Με βάση τα ύψη των κορυφών που λήφθηκαν, χαράσσεται η ευθεία των προτύπων σε σχέση με τις ποσότητες (4, 6, 8, 10 µug) του 4-τολουολοσουλφοναμίδιου.

## 7. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ

Η μέθοδος μπορεί να ελέγχεται με βάση τα διαλύματα 0,1 ή 0,2 % χλωραμίνης Τ (4.1), κατεργασμένα κάτω από τις ίδιες με το δείγμα συνθήκες (6).

## 8. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος εκφρασμένη σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας υπολογίζεται με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου:

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

όπου:

1,33: συντελεστής μετατροπής του 4-τολουολοσουλφοναμίδιου σε χλωραμίνη Τ,

a: ποσότητα 4-τολουολοσουλφοναμίδιου εκφρασμένη σε µug, που περιέχεται στο δείγμα και διαβάζεται πάνω στην ευθεία των προτύπων,

m: μάζα του υποδείγματος που πάρεθηκε, εκφρασμένη σε g.

## 9. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (12)

Για μια περιεκτικότητα σε χλωραμίνη Τ της τάξης του 0,2 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,03 %.

## VIII. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΦΘΟΡΙΟΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΣΤΙΣ ΟΔΟΝΤΟΚΡΕΜΕΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό ολικού φθορίου και περιέχεται στις οδοντοκρέμες. Είναι κατάλληλη για περιεκτικότητες που δεν υπερβαίνουν το 0,25 %.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε φθόριο προσδιορισμένη σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας.

## 3. ΑΡΧΗ

Το φθόριο του φθοριοπαράγωγου μετατρέπεται σε τριμεθυλοφθοροισιάνιο (TEFS) με απευθείας αντίδραση με τριαεθυλοχλωροισιάνιο (TECS) σε όξινο περιβάλλον, και,

ταυτόχρονα, εκχυλίζεται με ξυλόλιο που περιέχει κυκλοεξάνιο σαν εσωτερικό πρότυπο. Το διάλυμα που πάρθηκε εξετάζεται με χρωματογραφία σε αέρια φάση.

#### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Φθοριούχο νάτριο, ξηραμένο στους 120 ° C μέχρι σταθερής μάζας.
  - 4.2. Νερό διςαποσταγμένο ή ποιότητας ισοδύναμης.
  - 4.3. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ d420 = 1,19.
  - 4.4. Κυκλοεξάνιο (CH).
  - 4.5. Ξυλόλιο που δεν αφήνει να φανούν κορυφές πάνω στο χρωματογράφημα πριν από την κορυφή του διαλύτη, όταν χρωματογραφείται κάτω από τις ίδιες συνθήκες με τα δείγματα (6.1). Αν χρειάζεται, καθαρίζεται με απόσταξη (5.8).
  - 4.6. Τριαιθυλοχλωροσιλάνιο (TECS Merck ή ισοδύναμο).
  - 4.7. Πρότυπα διαλύματα φθοριούχων
    - 4.7.1. Πρότυπο διάλυμα 0,250 mg φθοριούχου ανά ml. Ζυγίζουμε ακριβώς 138,1 mg φθοριούχου νατρίου (4.1) και τα διαλύουμε σε νερό (4.2). Μεταφέρουμε ποσοτικά το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml (5.5). Συμπληρώνουμε μέχρι της χαραγής με νερό (4.2) και αναμειγνύουμε.
    - 4.7.2. Αραιωμένο πρότυπο διάλυμα (0,050 mg φθοριούχου ανά ml):  
Μεταφέρουμε με τη βοήθεια σιφωνίου 20 ml από το διάλυμα (4.7.1) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (5.5). Συμπληρώνουμε μέχρι της χαραγής με νερό (4.2) και αναμειγνύουμε.
  - 4.8. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου  
Αναμειγνύουμε 1 ml κυκλοεξάνιου (4.4) και 5 ml ξυλόλιου (4.5).
  - 4.9. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου τριαιθυλοχλωροσιλάνιου  
Μεταφέρουμε με τη βοήθεια σιφωνίου (5.7) 0,6 ml TECS (4.6) και 0,12 ml από το διάλυμα εσωτερικού προτύπου (4.8) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml. Συμπληρώνουμε με ξυλόλιο (4.5) μέχρι της χαραγής και αναμειγνύουμε. Διάλυμα που παρασκευάζεται καθημερινά.
  - 4.10. Υπερχλωρικό οξύ 70 % (m/v).
  - 4.11. Υπερχλωρικό οξύ 20 % (m/v) σε νερό (4.2).
- #### 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
  - 5.2. Χρωματογράφος αέριας φάσης εφοδιασμένος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας.
  - 5.3. Ομοιογενοποιητής Vortex ή ισοδύναμος.
  - 5.4. Αναδευτήρας Buehler τύπου SMB1 ή ισοδύναμου.

- 5.5. Ογκομετρικές φιάλες των 100 και 250 ml από πολυπροπυλένιο.
- 5.6. Σωλήνες φυγοκέντρησης των 20 ml από γυαλί με πώματα ελικωτά καλυμμένα από teflon Sovirel, τύπου 611-56 ή ισοδύναμου. Καθαρίζουμε τους σωλήνες και τα πώματα ως εξής: βυθίζουμε επί πολλές ώρες μέσα σε υπερχλωρικό οξύ (4.11), ξεπλένουμε πέντε φορές με νερό (4.2) και ξηραίνουμε στους 100 οC.
- 5.7. Σιφώνια ρυθμιζόμενα, κατάλληλα να παρέχουν όγκους 50 έως 200 ml με πλαστικό θύλακα μιας χρήσης.
- 5.8. Συσκευή απόσταξης εφοδιασμένη με στήλη Schneider με τρία σφαιρίδια ή με μια στήλη Vigreux ισοδύναμη.

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

### 6.1. Ανάλυση του δείγματος

- 6.1.1. Εκλέγουμε σωλήνα οδοντόκρεμας που δεν έχει ακόμη ανοιχτεί και τον ανοίγουμε. Μεταφέρουμε το σύνολο του περιεχομένου σε υποδοχέα από πλαστικό, αναμειγνύουμε προσεκτικά και διατηρούμε κάτω από συνθήκες που εμποδίζουν την αλλοίωση.
- 6.1.2. Ζυγίζουμε προσεκτικά 150 mg (m) δείγματος μέσα σε σωλήνα φυγοκέντρησης (5.6), προσθέτουμε 5 ml νερό (4.2) και ομοιογενοποιούμε (5.3).
- 6.1.3. Προσθέτουμε 1 ml ξυλόλιου (4.5).
- 6.1.4. Προσθέτουμε στάγδην 5 ml υδροχλωρικού οξέος (4.3) και ομοιογενοποιούμε (5.3).
- 6.1.5. Προσθέτουμε με τη βοήθεια σιφωνίου 0,5 ml από το διάλυμα εσωτερικού πρότυπου τριακυλοχλωροσίλάνιου (4.9) μέσα στο σωλήνα φυγοκέντρησης (5.6).
- 6.1.6. Κλείνουμε το σωλήνα φυγοκέντρησης με τη βοήθεια ελικωτού πώματος και αναμειγνύουμε προσεκτικά επί 45 λεπτά με τη βοήθεια αναδευτήρα (5.4) ρυθμισμένου στις 150 ωθήσεις στο λεπτό.
- 6.1.7. Φυγοκεντρούμε επί 10 λεπτά με μια ταχύτητα τέτοια ώστε να πάρουμε ένα σαφή διαχωρισμό των φάσεων, αποπωματίζουμε το σωλήνα, συλλέγουμε την οργανική φάση και ενίοτε από αυτή 3 ml μέσα στη στήλη του χρωματογράφου αέριας φάσης (5.2).

Σημείωση:

Χρειάζονται περίπου 20 λεπτά ώστε όλα τα συστατικά να έχουν εκλουστεί.

- 6.1.8. Επαναλαμβάνουμε την ένεση, υπολογίζουμε τη μέση σχέση της επιφάνειας των κορυφών (ATEFS/ACH) και διαβάζουμε πάνω στην πρότυπη καμπύλη (6.3) την ποσότητα φθορίου που αντιστοιχεί σε mg (m1).
- 6.1.9. Υπολογίζουμε την περιεκτικότητα σε ολικό φθόριο του δείγματος σε επί τοις εκατό ποσοστά μάζας φθορίου όπως υποδεικνύεται στο 7.

### 6.2. Συνθήκες χρωματογραφίας

#### 6.2.1. Στήλη

Υλικό: Ανοξειδωτος χάλυβας

Μήκος: 180 cm

Διάμετρος εξωτερική: 3 mm

Πλήρωση: Gaschrom Q 80-100 mesh

Στάσιμη φάση: Έλαιο σιλικόνης DC-200 ή ισοδύναμο 20 %

Θερμοκρασίες:

στήλη: 70 ° C

περιοχή ένεσης: 150 ° C

ανιχνευτής: 250 ° C

Φέρον αέριο: Άζωτο

Παροχή φέροντος αερίου: 35 ml/min

Σταθεροποιούμε τη στήλη επί μία ολόκληρη νύκτα στους 100 ° C, με παροχή φέροντος αερίου 25 ml/min αζώτου. Αυτή η εργασία επαναλαμβάνεται κάθε νύκτα.

Κάθε 4 ή 5 ενέσεις ξανασταθεροποιούμε τη στήλη με θέρμανση επί μισή ώρα στους 100 ° C.

### 6.3. Πρότυπη καμπύλη

- 6.3.1. Εισάγουμε με τη βοήθεια σιφωνιού σε μια σειρά από 6 σωλήνες φυγοκέντρησης (5.6) 0, 1, 2, 3, 4, και 5 ml από το αραιωμένο πρότυπο διάλυμα φθοριούχου (4.7.2). Συμπληρώνουμε τον όγκο κάθε σωλήνα μέχρι 5 ml με νερό (4.2).
- 6.3.2. Συνεχίζουμε όπως στο σημείο 6.1.3 μέχρι το σημείο 6.1.6. περιλαμβανόμενο.
- 6.3.3. Ενίουμε 3 ml από την οργανική φάση μέσα στη στήλη του χρωματογράφου αέριας φάσης (5.2).
- 6.3.4. Επαναλαμβάνουμε την ένεση και υπολογίζουμε τη μέση σχέση της επιφάνειας των κορυφών (ATEFS/ACH).
- 6.3.5. Καταstrώνουμε μια πρότυπη καμπύλη συσχετίζοντας τη μάζα φθοριούχου (mg) στα πρότυπα διαλύματα (6.3.1) και τη σχέση των επιφανειών των κορυφών ATEFS/ACH που μετρήθηκαν στο 6.3.4. Χαράσσεται η πρότυπη καμπύλη.

### 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η συγκέντρωση ολικού φθορίου στο δείγμα, σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας, λαμβάνεται από τον παρακάτω τύπο:

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

όπου:

m : κλάσμα του δείγματος σε mg (6.1.2).

m<sub>1</sub>: ποσότητα φθοριούχου που έχει ληφθεί από την πρότυπη καμπύλη σε mg (6.1.8).

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (13)

Για μια περιεκτικότητα σε φθόριο της τάξης των 0,15 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,012 %.

## ΙΧ. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΟΡΓΑΝΟΥΔΡΑΡΓΥΡΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

### ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή επιτρέπει την ανίχνευση στα καλλυντικά για τα μάτια των οργανουδραργυρικών παραγώγων που χρησιμοποιούνται σαν συντηρητικά. Εφαρμόζεται στο αιθυλοϋδραργυρικό θειοσαλικυλικό νάτριο (thiomersal) καθώς και στον φαινυλικό υδράργυρο και τα άλατά του.

### A. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ

#### 1. ΑΡΧΗ

Τα οργανουδραργυρικά παράγωγα σχηματίζουν σύμπλοκα με diithizone. Έπειτα από εκχύλιση των συμπλόκων με τετραχλωράνθρακα, προβαίνουμε σε χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας από silica gel. Οι κηλίδες των συμπλόκων diithizone εμφανίζονται χρωματισμένες πορτοκαλίες.

#### 2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

2.1. Θειικό οξύ 25 % (v/v).

2.2. Διάλυμα diithizone: 0,8 mg diithizone σε 100 ml τετραχλωράνθρακα (2.4).

2.3. Αζωτο.

2.4. Τετραχλωράνθρακας.

2.5. Διαλύτης ανάπτυξης: εξάνιο/ακετόνη 90:10 (v/v).

2.6. Πρότυπα διαλύματα 0,001 % σε νερό:

- αιθυλοϋδραργυρικό θειοσαλικυλικό νάτριο,
- χλωριούχος αιθυλοϋδράργυρος ή χλωριούχος μεθυλοϋδράργυρος,
- νιτρικός ή οξεικός φαινυλικός υδράργυρος,
- χλωριούχος ή οξεικός υδράργυρος.

2.7. Πλάκες από silica gel έτοιμες για χρήση (Merck 5721 ή ισοδύναμες).

2.8. Χλωριούχο νάτριο.

#### 3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

3.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

3.2. Συνήθης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας.

3.3. Ηθμός διαχωριστικός των φάσεων.

#### 4. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

##### 4.1. Εκχύλιση

- 4.1.1. Σε σωλήνα φυγοκέντρησης, διαλύουμε με λειοτριβήση ένα γραμμάριο δείγματος σε 20 ml αποσταγμένου νερού. Κατανέμουμε κατά το ανώτερο δυνατό θερμαίνοντας στους 60 ° C σε υδατόλουτρο. Προσθέτουμε 4 g χλωριούχο νάτριο (2.8), ανακινούμε και αφήνουμε να ψυχθεί.
- 4.1.2. Φυγοκεντρούμε επί τουλάχιστον 20 λεπτά στις 4 500 στροφές στο λεπτό έτσι ώστε να διαχωριστεί το μεγαλύτερο μέρος της στερεάς φάσης. Διηθούμε σε διαχωριστική χοάνη και προσθέτουμε 0,25 ml από το διάλυμα θειικού οξέος (2.1).
- 4.1.3. Εκχυλίζουμε πολλές φορές με 2 ή 3 ml διαλύματος dithizone (2.2) μέχρις ότου η τελευταία οργανική φάση παραμείνει πράσινη.
- 4.1.4. Διηθούμε επί ηθμού διαχωριστικού φάσεων (3.3) κάθε οργανική φάση.
- 4.1.5. Εξατμίζουμε μέχρι ξηρού κάτω από ρεύμα αζώτου (2.3).
- 4.1.6. Επαναδιαλύουμε με 0,5 ml τετραχλωράνθρακα (2.4). Αποθέτουμε αμέσως αυτό το διάλυμα όπως υποδεικνύεται στο 4.2.1.

##### 4.2. Διαχωρισμός και ταυτοποίηση

- 4.2.1. Αποθέτουμε αμέσως πάνω στην πλάκα από silice gel (2.7) 50 μl από το διάλυμα σε τετραχλωράνθρακα που πάρθηκε στο 4.1.6.

Επεξεργαζόμαστε ταυτόχρονα, όπως υποδεικνύεται στο 4.1, 10 μl πρότυπου διαλύματος (2.6) και αποθέτουμε πάνω στην ίδια πλάκα 50 μl από τα διαλύματα που πάρθηκαν (4.1.6).

- 4.2.2. Αναπτύσσεται η πλάκα μέσα στο διαλύτη (2.5) σε ένα ύψος 15 cm. Τα οργανοϋδραργυρικά παράγωγα εμφανίζονται με μορφή έγχρωμων κηλίδων των οποίων ο χρωματισμός είναι σταθερός, υπό την προϋπόθεση ότι θα καλυφθεί η πλάκα αμέσως μετά την εξάτμιση του διαλύτη.

Σε ενδεικτικές τιμές τα R<sub>f</sub> που λαμβάνονται είναι:

	R <sub>f</sub>	Χρώμα
Thiomersal	0.33	πορτοκαλί
Χλωριούχος αιθυλοϋδράργυρος	0.29	πορτοκαλί
Χλωριούχος μεθυλοϋδράργυρος	0.29	πορτοκαλί
Φαινυλικός υδράργυρος και τα άλατά του	0.21	πορτοκαλί
Χλωριούχος υδράργυρος	0.10	πορτοκαλί
Οξείκος υδράργυρος	0.10	πορτοκαλί
Dithizone	0.09	ροζ

**B. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ****1. ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε οργανοϋδραργυρικές ενώσεις, προσδιορισμένη με αυτή τη μέθοδο, εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας.

**2. ΑΡΧΗ**

Η μέθοδος συνίσταται σε έναν προσδιορισμό του ολικού υδράργυρου. Είναι λοιπόν απαραίτητο να έχουμε από πριν διαπιστώσει την απουσία μεταλλικού υδράργυρου και ταυτοποιήσει την οργανοϋδραργυρική ουσία που περιέχεται μέσα στο δείγμα. Έπειτα από υγρή ανοργανοποίηση, ο υδράργυρος που ελευθερώθηκε προσδιορίζεται με ατομική απορρόφηση χωρίς φλόγα.

**3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

3.1. Πυκνό νιτρικό οξύ ( $d_{420} = 1,41$ ).

3.2. Πυκνό θειικό οξύ ( $d_{420} = 1,84$ ).

3.3. Νερό δισποσταγμένο.

3.4. Υπερμαγγανικό κάλιο: διάλυμα 7 % (m/v).

3.5. Υδροχλωρική υδροξυλαμίνη: διάλυμα 1,5 % (m/v).

3.6. Υπερθειικό κάλιο: διάλυμα 5 % (m/v).

3.7. Χλωριούχος δισθενής κασσίτερος: διάλυμα 10 % (m/v).

3.8. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ ( $d_{420} = 1,18$ ).

3.9. Έριο υάλου ποτισμένο με χλωριούχο παλλάδιο (1 % m/m).

**4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

4.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.

4.2. Συσκευή για προσδιορισμό του υδράργυρου με ατομική απορρόφηση χωρίς φλόγα (τεχνική ψυχρού ατμού) και υαλοργικά. Ελάχιστο μήκος της κυψελίδας μέτρησης: 10 cm.

**5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ**

Λαμβάνονται όλες οι κατάλληλες προφυλάξεις για τον προσδιορισμό ιχνών υδραργύρου.

5.1. Ανοργανοποίηση

5.1.1. Ζυγίζουμε ακριβώς 150 mg (m) περίπου δείγματος. Προστίθενται 10 ml νιτρικού οξέος (3.1) και αφήνουμε να χωνευτούν επί 3 ώρες στο υδατόλουτρο στους 55 ° C σε ερμητικά κλεισμένη φιάλη αναδεύοντας τακτικά. Πραγματοποιούμε παράλληλα ένα λευκό προσδιορισμό.

- 5.1.2. Έπειτα από ψύξη, προσθέτουμε 10 ml θειικού οξέος (3.2) και επανατοποθετούμε 30 λεπτά σε υδατόλουτρο στους 55 ° C.
- 5.1.3. Τοποθετούμε τη φιάλη σε παγόλουτρο και προσθέτουμε με προσοχή 20 ml νερού (3.3).
- 5.1.4. Προσθέτουμε ποσότητες των 2 ml από ένα διάλυμα υπερμαγγανικού καλίου (3.4) μέχρις ότου το σύνολο παραμείνει χρωματισμένο. Επανατοποθετούμε για 15 λεπτά στο υδατόλουτρο στους 55 ° C.
- 5.1.5. Προσθέτουμε 4 ml υπερθειικού καλίου (3.6) και συνεχίζουμε τη θέρμανση στο υδατόλουτρο στους 55 ° C επί 30 λεπτά.
- 5.1.6. Ψύχουμε και μεταφέρουμε το περιεχόμενο της φιάλης σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Πλένουμε με 5 ml υδροχλωρικής υδροξυλαμίνης (3.5), κατόπιν με 4 φορές 10 ml νερού (3.3). Το σύνολο πρέπει να είναι χρωματισμένο. Συμπληρούμε μέχρι της χαραγής με νερό (3.3).
- 5.2. Προσδιορισμός
- 5.2.1. Παραλαμβάνουμε 10 ml από το διάλυμα ανοργανοποίησης (5.1.6) στον υάλινο υποδοχέα που χρησιμεύει για προσδιορισμό του υδράργυρου με τη μέθοδο του ψυχρού ατμού (4.2). Αραιούμε με 100 ml νερό (3.3), κατόπιν με 5 ml θειικού οξέος (3.2) και 5 ml χλωριούχου δισθενούς κασσίτερου (3.7). Αναμειγνύουμε μετά από κάθε προσθήκη. Περιμένουμε 30 δευτερόλεπτα. Τα ιόντα Hg<sup>++</sup> ανάγονται με μεταλλικό υδράργυρο. Πραγματοποιούμε τη μέτρηση. Έστω n ο αριθμός που σημειώθηκε.
- 5.2.2. Τοποθετούμε έριο υάλου ποτισμένο σε χλωριούχο παλλάδιο (3.9) μεταξύ του δοχείου αναγωγής και της κυψελίδας μέτρησης του οργάνου (4.2). Επαναλαμβάνεται η εργασία που αναφέρεται στο σημείο 5.2.1. Αν n δεν είναι ίσο με 0, η ανοργανοποίηση δεν είναι πλήρης και η ανάλυση πρέπει να ξαναρχίσει.

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος, εκφρασμένη σε υδράργυρο σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας, υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου:

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

όπου:

n: η ποσότητα του υδράργυρου σε mg που διαβίβηκε πάνω στο όργανο,

m: η μάζα σε mg του υποδείγματος.

## 7. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- 7.1. Για να βελτιωθεί η ανοργανοποίηση μπορεί να χρειάζεται να προβούμε προκαταβολικά σε μια διάλυση του υποδείγματος.
- 7.2. Σε περίπτωση που υποπτευόμαστε μια προσκόλληση του υδράργυρου στο υπόστρωμα με προσρόφηση, θα ήταν απαραίτητο να προβούμε σε έναν προσδιορισμό με προσθήκη προτύπου.

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (14)



Για περιεκτικότητα σε υδράργυρο 0,007 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,00035% .

#### Χ.ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΘΕΙΟΥΧΩΝ ΤΩΝ ΑΛΚΑΛΙΩΝ ΚΑΙ ΑΛΚΑΛΙΚΩΝ ΓΑΙΩΝ 1.

##### ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον προσδιορισμό των θειούχων στα καλλυντικά.

Η παρουσία θειολών ή άλλων αναγωγικών ουσιών (περιλαμβανομένων των θειωδών) δεν δημιουργεί παρεμβολές στον προσδιορισμό.

##### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε θειούχο, προσδιορισμένη σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο, εκφράζεται σε επί τοις εκατό ποσοστό μάζας θείου.

##### 3. ΑΡΧΗ

Έπειτα από οξείνιση του μέσου, το υδρόθειο που σχηματίζεται παρασύρεται από ένα ρεύμα αζώτου, κατόπιν δεσμεύεται με μορφή θειούχου καδμίου. Το τελευταίο, έπειτα από διήθηση και έκπλυση, προσδιορίζεται ιωδιομετρικά.

##### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 4.1. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ ( $d_{420} = 1,19$ )
- 4.2. Τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 N.
- 4.3. Διάλυμα ιωδίου 0,1 N.
- 4.4. Θειούχο νάτριο.
- 4.5. Οξεικό κάδμιο.
- 4.6. Πυκνή αμμωνία ( $d_{420} = 0,90$ ).
- 4.7. Αμμωνιακό διάλυμα οξεικού καδμίου: διαλύονται 10 g οξεικού καδμίου (4.5) σε 50 ml περίπου νερού, προστίθεται η αμμωνία (4.6) μέχρις επαναδιαλύσεως του ιζήματος (περίπου 20 ml) και συμπληρούμε στα 100 ml με νερό.
- 4.8. Άζωτο.
- 4.9. Διάλυμα αμμωνίας M.
5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου.
- 5.2. Σφαιρική φιάλη των 100 ml με τρεις λαιμούς εσφυρισμένους, τυποποιημένους.
- 5.3. Δύο κωνικές φιάλες των 150 ml με εσφυρισμένους λαιμούς εφοδιασμένες με διάταξη που περιλαμβάνει ένα σωλήνα βύθισης και μια πλευρική συνδεσμολογία για την απόδοση του αερίου μεταφοράς.
- 5.4. Χωνί με μακρύ μίσχο.

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

### 6.1. Παράσυση των θειούχων

- 6.1.1. Εκλέγουμε μια συσκευασία που δεν έχει ανοιχτεί. Ζυγίζουμε επακριβώς μέσα στη φιάλη (5.2) μια ποσότητα προϊόντος που να αντιστοιχεί το πολύ σε 30 mg θειούχων ιόντων. Εισάγουμε 60 ml νερού και δύο σταγόνες υγρού αναφριστικού.
- 6.1.2. Σε καθεμιά από τις κωνικές φιάλες (5.3) εισάγουμε 50 ml από το διάλυμα (4.7).
- 6.1.3. Προσαρμόζουμε στη φιάλη (5.2) μία χοάνη, το σωλήνα βύθισης και το σωλήνα απόδοσης του αερίου μεταφοράς (5.3). Συνδέουμε με τη βοήθεια σωλήνα από PVC το σωλήνα απόδοσης με τις δύο κωνικές φιάλες τοποθετημένες εν σειρά (5.3).

#### Σημείωση:

Ελέγχουμε τη στεγανότητα της συνδεσμολογίας κατά τον ακόλουθο τρόπο: με τις συνθήκες του πειράματος, αντικαθιστούμε το προϊόν προσδιορισμού με 10 ml ενός διαλύματος θειούχων, παρασκευασμένο από 4.4 και που περιέχει  $X$  mg θειούχου (προσδιορισμένου ιωδιμετρικά). Έστω  $Y$  ο αριθμός των mg θειούχου που βρέθηκε στο τέλος της διαδικασίας. Η διαφορά μεταξύ αυτών των δύο ποσοτήτων  $X$  και  $Y$  δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 3 %.

- 6.1.4. Διαβιβάζουμε το αζώτο (4.8) με μια παροχή δύο φυσαλλιδών το δευτερόλεπτο επί 15 λεπτά για να εκδιώξουμε τον αέρα που περιέχεται στη φιάλη (5.2).
- 6.1.5. Θερμαίνουμε τη φιάλη στους  $85^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ .
- 6.1.6. Σταματάμε την παροχή αζώτου και χύνουμε στάγδην 40 ml υδροχλωρικού οξέος (4.1).
- 6.1.7. Αποκαθιστούμε το ρεύμα αζώτου (4.8) όταν ολόκληρη σχεδόν η ποσότητα του οξέος έχει ρέψει, αφήνοντας μέσα στη χοάνη έναν ελάχιστο υγρό δακτύλιο για να αποφευχθούν απώλειες υδρόθειου.
- 6.1.8. Σταματάμε τη θέρμανση έπειτα από 30 λεπτά και αφήνουμε να ψυχθεί η φιάλη (5.2) συνεχίζοντας τη διέλευση του ρεύματος αζώτου (4.8) τουλάχιστον επί 1 ώρα και 30 λεπτά.
- ### 6.2. Τιτλοδότηση
- 6.2.1. Διηθούμε το θειούχο κάδμιο πάνω στο χωνί με το μακρύ μίσχο (5.4).
- 6.2.2. Ξεπλένουμε τις κωνικές φιάλες (5.3) πρώτα με ένα διάλυμα αμμωνιακό M (4.9) και το φέρουμε επί του ηθμού. Ξεπλένουμε κατόπιν με νερό και χρησιμοποιούμε αυτό το νερό για να πλύνουμε το ίζημα που κατακρατήθηκε πάνω στον ηθμό.
- 6.2.3. Τελειώνουμε το πλύσιμο του ιζήματος με 100 ml νερού.
- 6.2.4. Τοποθετούμε τον χάρτινο ηθμό μέσα στην πρώτη κωνική φιάλη που κατακράτησε το ίζημα. Προσθέτουμε 25 ml από το διάλυμα ιωδίου 0,1 N (4.3), περίπου 20 ml υδροχλωρικού οξέος (4.1) και 50 ml νερού.
- 6.2.5. Προσδιορίζουμε την περίσσεια ιωδίου με το τιτλοδοτημένο διάλυμα θειοθειικού νατρίου 0,1 N (4.2). Έστω  $n$  2 ο αριθμός των ml που χρησιμοποιήθηκε.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος, εκφρασμένη σε θείο σε εκατοστιαίο ποσοστό μάζας, υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου που ακολουθεί:

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

όπου:

$n_1$ : αριθμός ml του τιτλοδοτημένου διαλύματος ιωδίου που χρησιμοποιήθηκαν (4.3),

$X_1$ : τίτλος αυτού του διαλύματος,

$n_2$ : αριθμός ml του τιτλοδοτημένου διαλύματος θειοθειικού νατρίου (4.2),

$X_2$ : τίτλος αυτού του διαλύματος,

$m$ : μάζα του υποδείγματος (6.1.1) εκφρασμένη σε g.

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (15)

Για μια περιεκτικότητα σε θείο της τάξης του 2 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών πραγματοποιημένων πάνω στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,2 %.

(1) ΕΕ αριθ. L 383 της 31. 12. 1980, σ. 27.

(2) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(3) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(4) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(5) ΕΕ αριθ. L 383 της 31. 12. 1980, σ. 27.

(6) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(7)(i) Σημείωση: Ο προσδιορισμός του θειογλυκολικού οξέος πρέπει να γίνει σε προϊόντα που δεν έχουν ακόμη χρησιμοποιηθεί και είναι πρόσφατα αποσφραγισμένα, έτσι ώστε να αποφευχθεί κάθε οξείδωση.

(8) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(9) Λόγω της μεγάλης ποικιλίας των προϊόντων στα οποία το εξαχλωροφαίνιο μπορεί να υπάρχει, είναι σημαντικό να εξακριβωθεί πρώτα η ανσκήση του εξαχλωροφαινίου από το δείγμα με τη μέθοδο αυτή πριν καταχωρηθούν τα αποτελέσματα. Αν οι ανσκήσεις είναι μικρές, μπορούν να γίνουν τροποποιήσεις σε συμφωνία με τους ενδιαφερωμένους, όπως να ελασθεί ο διαλύτης (βενζόλιο στη θέση του οξέου αιθύλιου κλπ)

(10) Η εμφάνιση αυτής της κίτρινης χρωστικής υποδεικνύει περίσσεια διοξωμεθένιου που είναι απαραίτητη για να εξασφαλιστεί πλήρης μεθύλωση του δείγματος.

(11) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(12) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(13) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(14) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

(15) Κατά το πρότυπο ISO 5725.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

## (Κανονισμός 3)

I. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ 1-(4-ΑΜΙΝΟΒΕΝΖΟΪΚΟΥ)  
ΓΛΥΚΕΡΙΝΕΣΤΕΡΑ

## A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοσθεί για τον ποιοτικό προσδιορισμό του 1-(4-αμινοβενζοϊκού) γλυκερινεστέρα ή 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα. Μπορεί, επίσης, να πιστοποιηθεί η ύπαρξη του 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου (βενζοκαΐνη INN) που μπορεί να συνυπάρχει σαν πρόσμειξη.

## 2. ΑΡΧΗ

Ο ποιοτικός προσδιορισμός γίνεται με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας σε πλάκα silicagel με φθορίζοντα δείκτη. Η ελεύθερη πρωταταγής αμινομάδα ανιχνεύεται σε σχηματισμό ενός διαζοχρώματος στην πλάκα.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

3.1. Διαλύτης: κυκλοεξάνιο-ισοπροπανόλη-σταθεροποιημένο διχλωρομεθάνιο: 48-64-9 (v/v/v).

3.2. Διαλύτης αναπτύξεως: πετρελαϊκός αιθέρας-βενζόλιο-ακετόνη-διάλυμα NH<sub>3</sub> (τουλάχιστον 25 % NH<sub>3</sub>): 35-35-35-21 (v/v/v/v).

3.3. Διαλύτης εμφάνσεως: α) 1,0 g νιτρώδες νάτριο σε 100 ml HCl 1 M, που παρασκευάζεται τη στιγμή της χρησιμοποίησης· β) 0,2 g ναφθόλη -2 σε 100 ml KOH 1 M.

3.4. Πρότυπα διαλύματα: 4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας: 0,050 g σε 100 ml διαλύτη 3.1. 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο: 0,050 g σε 100 ml διαλύτη 3.1.

3.5. Πλάκες silicagel 60 F254, πάχους 0,25 mm διαστάσεων 20 x 20 cm.

## 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

4.1. Συνήθης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

4.2. Δονητής υπερήχων.

4.3. Φίλτρο millipore FH 0,5 μm ή ισοδύναμο.

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

## 5.1. Παρασκευή δείγματος

Ζυγίζονται 1,5 g του προς ανάλυση προϊόντος σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml με εσφυρισμένο πώμα και συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με το διαλύτη 3.1. Πλωματίζεται η φιάλη και αφήνεται επί μία ώρα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος σε δονητή υπερήχων (4.2.) Διηθείται από φίλτρο millipore (4.3.) και το διήθημα χρησιμοποιείται για τη χρωματογραφία.

## 5.2. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Τοποθετούνται 10 μl διηθήματος (5.1) και 10 μl από καθένα των προτύπων διαλυμάτων (3.4) στην πλάκα (3.5).

Αναπτύσσεται το χρωματογράφημα μέχρι ύψος 15 cm σε θάλαμο κεκορεσμένο με διαλύτη (3.2). Ξηραίνεται η πλάκα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

## 5.3. Εμφάνιση

5.3.1. Η πλάκα παρατηρείται σε υπεριώδες φως στα 254 nm.

5.3.2. Η τελείως ξηρή πλάκα ψεκάζεται με το διάλυμα 3.3 στοιχείο.

α). Αφήνεται να ξηρανθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος επί ένα λεπτό και αμέσως ψεκάζεται με διάλυμα 3.3 στοιχείο

β). Η πλάκα ξηραίνεται σε κλίβανο στους 60 °C. Οι κηλίδες εμφανίζονται πορτοκαλόχρωμες με τις ακόλουθες τιμές Rf: 4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας 0,07· 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο 0,55.

## B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον προσδιορισμό (4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας). Με την ίδια μέθοδο είναι δυνατό να προσδιοριστεί και το 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο.

Προσδιορίζεται κατ' ανώτατο όριο 5 % (m/m) 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα και 1 % (m/m) 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου.

## 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα και του 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου που προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό ανά μάζα (% m/m) του προϊόντος.

## 3. ΑΡΧΗ

Το προς ανάλυση προϊόν διασπείρεται σε μεθανόλη και μετά κατάλληλη επεξεργασία του γίνεται ο προσδιορισμός με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).

## 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και κατάλληλα για HPLC.

4.1. Μεθανόλη.

4.2. Δισοξίνο-ορθοφωσφορικό κάλιο  $KH_2PO_4$ .

4.3. Οξικός ψευδάργυρος:  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ .

4.4. Οξικό οξύ:  $d_{20}^{25} = 1,05$ .

4.5. Σιδηροκυανιούχο κάλιο:  $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ .

4.6. 4-υδροξυβενζοϊκό αιθύλιο.

4.7. 4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας.

- 4.8. 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο (βενζοκαΐνη).
- 4.9. Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (0,02 M): 2,72 g δισόξνο-ορθο-φωσφορικού καλίου (4.2) διαλύονται σε ένα λίτρο νερού.
- 4.10. Διαλύτης εκλούσεως: ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών (4.9)-μεθανόλη (4.1): 61-39 (v/v).

Η σύνθεση της κινητής φάσης μπορεί να αλλάξει, με σκοπό να επιτευχθεί βαθμός διαχωρισμού R ίσος ή μεγαλύτερος του 1,5

$$R = 2 \frac{d R_2 - d R_1}{W_1 + W_2}$$

όπου:

$R_1$ ,  $R_1$  και  $R_2$  = χρόνοι κατακρατήσεως σε min για τις δύο κορυφές.

$W_1$  και  $W_2$  = το εύρος των αντιστοίχων κορυφών του δείγματος στο μέσο του ύψους εκφρασμένο σε mm.

$d'$  = η ταχύτητα του χαρτιού σε mm/min.

- 4.11. Φυλασσόμενο διάλυμα 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα: ζυγίζονται επακριβώς 40 mg περίπου 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα και φέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Διαλύονται σε 40 ml μεθανόλης (4.1) συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με το ρυθμιστικό διάλυμα (4.9) και αναμειγνύεται.
- 4.12. Φυλασσόμενο διάλυμα 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου: ζυγίζονται επακριβώς 40 mg περίπου 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου και φέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Διαλύονται σε 40 ml μεθανόλης (4.1) και συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με το ρυθμιστικό διάλυμα (4.9) και αναμειγνύεται.
- 4.13. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου: Ζυγίζονται επακριβώς 50 mg περίπου 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλίου (4.6) και διαλύονται σε 40 ml μεθανόλης (4.1). Το διάλυμα μεταγγίζεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με το ρυθμιστικό διάλυμα (4.9) και αναμειγνύεται.
- 4.14. Πρότυπα διαλύματα: Παρασκευάζονται τέσσερα πρότυπα διαλύματα δια διαλύσεως στο διαλύτη εκλούσεως (4.10), σύμφωνα με τον πιο κάτω πίνακα:

Πρότυπο διάλυμα	4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας		4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο		4-υδροξυ-βενζοϊκό αιθύλιο	
	ml (4.11)	μg/ml (*)	ml (4.12)	μg/ml (*)	ml (4.13)	μg/ml (*)
I	2	3	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(\*) Αυτές οι τιμές δίνονται ενδεικτικά και αντιστοιχούν στις ακριβείς μάζες των διαλυμάτων 4.11, 4.12 και 4.13.

Σημείωση. Τα διαλύματα αυτά μπορούν να ληφθούν με διαφορετικό τρόπο.

- 4.15. Διάλυμα Carrez I: 26,5 g σιδηρακυανιούχου καλίου (4.5) διαλύονται σε απεσταγμένο νερό και συμπληρώνεται ο όγκος στα 250 ml.
- 4.16. Διάλυμα Carrez II: 54,9 g οξικού ψευδαργύρου (4.3) και 7,5 ml οξικού οξέος (4.4) διαλύονται σε νερό και συμπληρώνεται ο όγκος στα 250 ml.
- 4.17. Lichrosorb R-18 ή ισοδύναμο των 5 μm.
5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
- 5.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.
- 5.2. Συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσεως με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβλητού μήκους κύματος και θερμοστάση ρυθμισμένο στους 45 °C.
- 5.3. Στήλη από ανοξειδωτο χάλυβα:  
μήκος: 250 mm,  
εσωτερική διάμετρος: 4,6 mm,  
υλικό πλήρωσεως: Lichrosorb RP-18 (4.17).
- 5.4. Λουτρό υπερήχων.
6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ
- 6.1. Προετοιμασία δείγματος
- 6.1.1. Περίπου 1 g δείγματος ζυγίζεται επακριβώς σε ποτήρι των 100 ml και προσθέτονται 10 ml μεθανόλης (4.1).
- 6.1.2. Τοποθετείται το ποτήρι σε λουτρό υπερήχων (5.4) επί 20 λεπτά προς σχηματισμό εναιωρήματος. Το εναιώρημα που επιτυγχάνεται μ' αυτό τον τρόπο μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml με τη βοήθεια 75 ml διαλύτη εκλούσεως (4.10). Προσθέτονται διαδοχικά 1 ml διαλύματος Carrez I (4.15) και 1 ml διαλύματος Carrez II (4.16) και αναμειγνύεται μετά από κάθε προσθήκη. Συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με διαλύτη εκλούσεως (4.10), αναμειγνύεται πάλι και διηθείται από χάρτινο πτυχωτό ηβμό.
- 6.1.3. 3 ml του διηθήματος 6.1.2 και 5 ml του διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.13) φέρονται σε σιφώνιο σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με διαλύτη εκλούσεως (4.10), αναμειγνύεται. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται για τη χρωματογραφική ανάλυση που περιγράφεται στην παράγραφο 6.2.
- 6.2. Χρωματογραφία
- 6.2.1. Ρυθμίζεται η ταχύτητα ροής της κινητικής φάσης (4.10) στα 1,2 ml/min και τοποθετείται η στήλη σε θερμοκρασία 45 °C.
- 6.2.2. Τοποθετείται ο ανιχνευτής (5.2) στα 274 nm.
- 6.2.3. Με μικροσύριγγα ενίενται 20 μl του διαλύματος (6.1.3) στο χρωματογράφο και μετράται το εμβαδόν των κορυφών.
- 6.3. Καμπύλη αναφοράς
- 6.3.1. Ενίενται 20 μl από καθένα από τα πρότυπα διαλύματα (4.14) και μετράται το εμβαδόν των κορυφών.
- 6.3.2. Για κάθε συγκέντρωση υπολογίζεται η σχέση μεταξύ των εμβαδών των κορυφών του 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα και εκείνων του εσωτερικού προτύπου. Οι

σχέσεις αυτές σημειώνονται στον άξονα των Y και οι σχέσεις των αντιστοίχων μαζών στον άξονα των X.

6.3.3. Γίνεται το ίδιο και για το 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

7.1. Από την καμπύλη αναφοράς 6.3 ευρίσκεται η σχέση των μαζών ( $R_{p1}$ ,  $R_{p2}$ ) που αντιστοιχεί στη σχέση των εμβαδών των κορυφών που υπολογίστηκαν στο 6.2.3,

όπου:

$R_{p1}$  = μάζα 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα/μάζα 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλίου·

$R_{p2}$  = μάζα 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου/μάζα 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλίου.

7.2. Από την ευρεθείσα σχέση των μαζών υπολογίζεται η εκατοστιαία περιεκτικότητα (% m/m) του 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα και του 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου με τους παρακάτω τύπους:

$$g \% (m/m) \text{ 4-αμινοβενζοϊκός α-μονογλυκερινεστέρας} = R_{p1} \times \frac{q}{6p}$$

$$g \% (m/m) \text{ 4-αμινοβενζοϊκό αιθύλιο} = R_{p2} \times \frac{q}{6p}$$

όπου:

q = η ποσότητα του 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλίου (εσωτερικό πρότυπο) σε mg που ζυγίστηκε στο 4.13·

p = ποσότητα δείγματος σε g που ζυγίστηκε στο 6.1.1.

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

8.1. Για περιεκτικότητα 4-αμινοβενζοϊκού α-μονογλυκερινεστέρα 5 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που έγιναν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,25 %.

8.2. Για περιεκτικότητα 4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου 1 % (m/m) η διαφορά των αποτελεσμάτων μεταξύ δύο παραλλήλων προσδιορισμών που έγιναν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,10 %.

## 9. ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

9.1. Πριν γίνει ο προσδιορισμός ελέγχεται εάν το δείγμα περιέχει ουσίες που ενδέχεται να συμπέσουν με την κορυφή του εσωτερικού προτύπου (4-αμινοβενζοϊκού αιθυλίου) στο χρωματογράφημα.

9.2. Για τον έλεγχο της απουσίας προσμειξιών, επαναλαμβάνεται ο προσδιορισμός, μεταβάλλοντας την αναλογία της μεθανόλης στην κινητή φάση κατά 10 %.

## II. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΧΛΩΡΟΒΟΥΤΑΝΟΛΗΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοσθεί για τον προσδιορισμό της χλωροβουτανόλης σε συγκέντρωση μέχρι 0.5 % (m/m) σε όλα τα καλλυντικά προϊόντα εκτός των αεροζόλ.

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ



Η περιεκτικότητα της χλωροβουτανόλης που προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό ανά μάζα του προϊόντος (% m/m).

### 3. ΑΡΧΗ

Ο προσδιορισμός γίνεται με τη μέθοδο της αερίου χρωματογραφίας μετά κατάλληλη κατεργασία του προς ανάλυση προϊόντος και χρησιμοποίηση της 2,2,2-τριχλωροαιθανόλης ως εσωτερικού προτύπου.

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

- 4.1. Χλωροβουτανόλη 1,1,1 τριχλωρο-2-μεθυλοπροπανόλη-2.
- 4.2. 2,2,2-τριχλωροαιθανόλη
- 4.3. Απόλυτη αιθανόλη.
- 4.4. Πρότυπο διάλυμα χλωροβουτανόλης: 0,025 g σε 100 ml αιθανόλη (4.3) (m/v).
- 4.5. Πρότυπο διάλυμα 2,2,2-τριχλωροαιθανόλης: 0,004 g σε 100 ml αιθανόλη (4.3) (m/v).

### 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 5.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.
- 5.2. Συσκευή αερίου χρωματογραφίας με ανιχνευτή ηλεκτρονίων 63 Ni.

### 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

#### 6.1. Προετοιμασία του δείγματος

0,1 έως 0,3 g δείγματος ζυγίζονται με ακρίβεια και φέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Διαλύονται σε αιθανόλη (4.3), προστίθεται 1 ml του διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.5) και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη.

#### 6.2. Συνθήκες της αερίου χρωματογραφίας

- 6.2.1. Οι συνθήκες εργασίας πρέπει να είναι τέτοιες ώστε ο βαθμός διαχωρισμού R της στήλης να είναι ίσος ή μεγαλύτερος του 1,5. 1.2.3.4

$$R = 2 \frac{d R_2 - d R_1}{W_1 + W_2}$$

όπου

$R_1, R_2$  = οι χρόνοι κατακρατήσεως σε min για 2 συνεχόμενες κορυφές

$W_1, W_2$  = το εύρος των αντιστοιχών κορυφών στο μέσο του ύψους εκφρασμένο σε mm

$d'$  = η ταχύτητα του χαρτιού σε mm/min.

- 6.2.2. Το αποτέλεσμα αυτό λαμβάνεται υπό τις ακόλουθες συνθήκες εργασίας:

Στήλη	I	II
Υλικό	γυαλί	ανοξειδωτός χάλυβας
Μήκος	1,80 m	3 m
Εσωτερική διάμετρος	3 mm	3 mm
Υλικό πλήρωσως	10 % carbowax 20 M TPA επί Gaschrom Q 80-100 mesh	5 % OV 17 επί chromosorb WAW DMCS 80 έως 100 mesh
Προετοιμασία	2 έως 3 ημέρες στους 190 ° C	-
Θερμοκρασίες		
-σημείο εγχύσεως	200 °C	150 °C
-στήλη	150 °C	100 °C
-ανιχνευτής	200 °C	150 °C
Φέρον αέριο	άζωτο	αργό-μεθάνιο (95/5 v/v)
Ταχύτητα ροής	35 ml/min	32 ml/min

### 6.3. Καμπύλη αναφοράς

Σε πέντε ογκομετρικές φιάλες των 100 ml φέρεται 1 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.5) και 0.20, 0.30, 0.40, 0.50 και 0.60 ml του διαλύματος 4.4 αντίστοιχα. συμπληρώνονται οι φιάλες μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη (4.3) και αναμιγνύονται.

Εγχύεται 1 μl από το καθένα από τα πιο πάνω διαλύματα στο χρωματογράφο με τις συνθήκες εργασίας που περιγράφονται στο σημείο 6.2.2 και χαράσσεται η καμπύλη αναφοράς τοποθετώντας στον άξονα των X τη σχέση των μαζών χλωροβουτανόλης/2,2,2-τριχλωροαιθανόλης και στον άξονα των Y τη σχέση των αντίστοιχων εμβαδών των κορυφών.

6.4. Εγχύεται 1 μl από το διάλυμα που έχει ληφθεί στο σημείο 6.1 και τηρούνται οι συνθήκες που περιγράφονται στο σημείο 6.2.2.

### 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

- 7.1. Από την καμπύλη αναφοράς (6.3) υπολογίζεται η ποσότητα *a*, που εκφράζεται σε µg χλωροβουτανόλης στο διάλυμα 6.1.
- 7.2. Η περιεκτικότητα της χλωροβουτανόλης στα δείγμα % m/m υπολογίζεται σύμφωνα με τον τύπο:

$$\% \text{ χλωροβουτανόλη (m/m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^5} = \frac{a}{p \times 10^3}$$

#### 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα σε χλωροβουτανόλη 0,5 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,01 %.

#### Παρατήρηση

Αν το αποτέλεσμα είναι ίσο με ή υπερβαίνει την ανώτατη επιτρεπτή συγκέντρωση, θα πρέπει να αναζητηθεί ενδεχόμενη παρουσία προσμείξεων.

(1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725.

(1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725.

### III. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΚΙΝΙΝΗΣ

#### A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

##### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της κινίνης σε σαμπουάν και λουσιών μαλλιών.

##### 2. ΑΡΧΗ

Η κινίνη ανιχνεύεται με χρωματογραφία λεπτής σιβάδας σε πλάκα silicagel από τον κυανού φθορισμό που παρουσιάζει σε όζινες συνθήκες στα 360 nm.

Για επιβεβαίωση ο φθορισμός αυτός εξαλείφεται με ατμούς βρωμίου και ακολούθως με ατμούς αμμωνίας εμφανίζεται κίτρινος φθορισμός.

##### 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

- 3.1. Πλάκες silicagel χωρίς δείκτη φθορισμού, πάχους 0,25 mm και διαστάσεων 20 x 20 cm.
- 3.2. Διαλύτης αναπτύξεως: τολουόλιο/διαιθυλαιθέρας/διχλωρομεθάνιο/διαιθυλαμίνη 20-20-20-3 (v/v/v/v).
- 3.3. Μεθανόλη.
- 3.4. Θεϊκό οξύ 96 % (d 20 4 = 1,84).
- 3.5. Διαιθυλαιθέρας.
- 3.6. Αντιδραστήριο εμφάνισης: 5 ml θεϊκού οξέος (3.4) προστίθενται προσεκτικά σε 95 ml διαιθυλαιθέρα (3.5) υπό ψύξη.

- 3.7. Βρώμιο.
- 3.8. Διάλυμα αμμωνίας 28 % (d 20 4 = 0,90).
- 3.9. Άνυδρη κινίνη.
- 3.10. Πρότυπο διάλυμα: ζυγίζονται επακριβώς περίπου 100 mg άνυδρης κινίνης (3.9) και διαλύονται με μεθανόλη μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml.

#### 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 4.1. Συνήθης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής σιβάδας.
- 4.2. Λουτρό υπερήχων.
- 4.3. Φίλτρα millipore FH 0,5 μm ή αντίστοιχα με κατάλληλη συσκευή διήθησεως.

#### 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

##### 5.1. Προετοιμασία του δείγματος

Ζυγίζεται επακριβώς ποσότητα καλλυντικού προϊόντος που ενδέχεται να περιέχει περίπου 100 mg κινίνης. Φέρεται μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, διαλύεται και συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (3.3) Πωματίζεται και αφήνεται σε συσκευή υπερήχων. (4.2) για μια ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Διηθείται με φίλτρο (4.3) και το διήθημα χρησιμοποιείται για τη χρωματογραφία.

##### 5.2. Χρωματογραφία λεπτής σιβάδας

Τοποθετούνται στην πλάκα silicagel (3.1) 1 μl προτύπου διαλύματος (3.10) και 1 μl διαλύματος δείγματος (5.1). Αναπτύσσεται το χρωματογράφημα σε απόσταση 15 cm με διαλύτη 3.2 σε θάλαμο κεκορεσμένο με το διαλύτη (3.2).

##### 5.3. Εμφάνιση

- 5.3.1. Ξηραίνεται η πλάκα σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5.3.2. Ψεκάζεται με αντιδραστήριο 3.6.
- 5.3.3. Η πλάκα ξηραίνεται επί μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5.3.4. Παρατηρείται σε υπεριώδες φως μήκους κύματος 360 m. Η κινίνη εμφανίζεται ως φθορίζουσα έντονη κυανή κηλίδα.

Στον πίνακα που ακολουθεί δίνονται οι τιμές Rf των κυριότερων αλκαλοειδών συγγενών της κινίνης, όταν αναπτύσσονται με το διαλύτη 3.2.

Αλκαλοειδή	Rf
Κινίνη	0,20
Κινιδίνη	0,29
Κιγχονίνη	0,33
Κιγχονιδίνη	0,27
Υδροκινιδίνη	0,17

- 5.3.5. Για επιβεβαίωση της παρουσίας της κινίνης, η πλάκα εκτίθεται σε ατμούς βρωμίου (3.7) για μία περίπου ώρα με αποτέλεσμα την εξαφάνιση του φθορισμού. Όταν η ίδια πλάκα εκτεθεί σε ατμούς αμμωνίας (3.8) οι κηλίδες επανεμφανίζονται με καστανό χρώμα. Τέλος, όταν η πλάκα ξαναξετασθεί στο υπεριώδες φως στα 360 nm εμφανίζεται κιτρινωπός φθορισμός.

Όριο ανιχνεύσεως: 0,1 µg κινίνης.

## B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον ποσοτικό προσδιορισμό της κινίνης στα σαμπουάν και στις λουσιών μαλλιών. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό μέγιστης συγκέντρωσης 0,5 % (m/m) στα σαμπουάν και 0,2 % (m/m) στις λουσιών μαλλιών.

### 2. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα της κινίνης που προσδιορίζεται με αυτή τη μέθοδο εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις % ανά μάζα προϊόντος (% m/m).

### 3. ΑΡΧΗ

Μετά από κατάλληλη κατεργασία του προς ανάλυση προϊόντος, ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσεως (HPLC).

### 4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και κατάλληλα για HPLC.

- 4.1. Ακετονιτρίλιο.
- 4.2. Δισόξινο φωσφορικό κάλιο  $KH_2PO_4$ .
- 4.3. Ορθοφωσφορικό οξύ 85 % (d 20 4 = 1,7).
- 4.4. Βρωμιούχο τετραμεθυλαμμώνιο.
- 4.5. Άνυδρος κινίνη.
- 4.6. Μεθανόλη.
- 4.7. Διάλυμα ορθοφωσφορικού οξέος 0,1 M: διαλύονται 11,53 g ορθοφωσφορικού οξέος (4.3) σε 1 000 ml απεσταγμένου νερού μέσα σε ογκομετρική φιάλη.
- 4.8. Διάλυμα δισόξινου φωσφορικού καλίου 0,1 M: διαλύονται 13,6 g δισόξινου φωσφορικού καλίου (4.2) σε 1 000 ml απεσταγμένου νερού μέσα σε ογκομετρική φιάλη.
- 4.9. Διάλυμα βρωμιούχου τετραμεθυλαμμωνίου: διαλύονται 15,40 g βρωμιούχου τετραμεθυλαμμωνίου (4.4) σε 1 000 ml απεσταγμένου νερού μέσα σε ογκομετρική φιάλη.
- 4.10. Διαλύτης εκλούσεως: ορθοφωσφορικό οξύ 0,1 M (4.3)-δισόξινο φωσφορικό κάλιο 0,1 M (4.2)-βρωμιούχο τετραμεθυλαμμώνιο 0,1 M (4.4)-νερό για HPLC -ακετονιτρίλιο (4.1): 10-50-100-340-90 (v/v/v/v/v). Η σύνθεση της κινητής φάσεως μπορεί να αλλάξει με σκοπό να πετύχουμε βαθμό διαχωρισμού R 1,5.

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

όπου:

$R_1$  και  $R_2$  = οι χρόνοι κατακρατήσεως εκφρασμένοι σε λεπτά για δύο συνεχόμενες κορυφές

$W_1$  και  $W_2$  = το εύρος κορυφών στο μέσο του ύψους εκφρασμένο σε mm.

$d'$  = η ταχύτητα του χαρτιού σε mm/min.

4.11. Silice κατεργασμένη με octadecylsilanisee, 10 mm.

4.12. Διαλύματα προτύπου: ζυγίζονται απακριβώς περίπου 5, 10, 15 και 20 mg κινίνης (4.5) σε μια σειρά ογκομετρικών φιαλών των 100 ml. Συμπληρώνονται μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (4.6) και ανακινείται το περιεχόμενο των φιαλών μέχρι διαλύσεως της κινίνης. Διηθείται το καθένα από τα πιο πάνω δείγματα από φίλτρο (5.5) των 0,5 μm.

## 5. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

5.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

5.2. Λουτρό υπερήχων.

5.3. Συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσεως με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβαλλόμενου μήκους κύματος.

5.4. Στήλη από ανοξειδωτο χάλυβα:

μήκος: 25 cm.

εσωτερική διάμετρος: 4,6 mm.

υλικό πληρώσεως: silice κατεργασμένη με octadecylsilanisee (4.11).

5.5. Φίλτρο millipore FH 0,5 μm ή αντίστοιχο, με κατάλληλη συσκευή διηθήσεως.

## 6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

6.1. Προετοιμασία του δείγματος

Ζυγίζεται επακριβώς κατάλληλη ποσότητα δείγματος που αντιστοιχεί σε 10,0 mg περίπου ανύδρου κινίνης μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Προστίθενται 20 ml μεθανόλης (4.6) και τοποθετείται η φιάλη σε λουτρό υπερήχων (5.2) επί 20 λεπτά. Συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη (4.6) Αναμειγνύεται το διάλυμα και διηθείται μια ποσότητα με το φίλτρο (5.5).

6.2. Σύνθηκες χρωματογραφίας

- Ταχύτητα κινητής φάσης (4.10): 1.0 ml/min.

- Ανιχνευτής: 332 nm.

- Ενιέμενος όγκος: 10.0 μl του διηθημένου διαλύματος (6.1).

- Μέτρηση του εμβαδού των κορυφών.

6.3. Καμπύλη αναφοράς

Ενίεται, τουλάχιστον τρεις φορές, 10 μl από το καθένα από τα διαλύματα προτύπου (4.12), μετράται το εμβαδόν των κορυφών και υπολογίζεται ο μέσος όρος των εμβαδών για κάθε συγκέντρωση.

Χαράσσεται η καμπύλη αναφοράς.

## 7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

- 7.1. Από την καμπύλη αναφοράς (6.3) προσδιορίζεται η ποσότητα της ανύδρου κινίνης, εκφραζόμενη σε μg, που περιέχεται στον όγκο που ενέθηκε.
- 7.2. Η συγκέντρωση της ανύδρου κινίνης στο δείγμα, εκφραζόμενη σε ποσοστό μάζας επί τοις εκατό, ευρίσκεται από τον ακόλουθο τύπο:

$$\% \text{ (m/m) ανύδρου κινίνης} = B/A$$

όπου:

B = η ποσότητα σε μg ανύδρου κινίνης που περιέχεται σε 10 μl του διηθημένου διαλύματος (6.1.1)

A = η μάζα του δείγματος (6.1) σε g.

## 8. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα ανύδρου κινίνης της τάξεως του 0,5 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,02 %.

Για περιεκτικότητα ανύδρου κινίνης της τάξεως του 0,2 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,01 %.

## IV. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΟΡΓΑΝΩΝ ΘΕΙΩΔΩΝ ΚΑΙ ΟΞΙΝΩΝ ΘΕΙΩΔΩΝ

### ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των ανόργανων θειωδών και όξινων θειωδών στα καλλυντικά προϊόντα. Είναι κατάλληλη μόνο για προϊόντα που έχουν υδατική ή αλκοολική φάση και για συγκέντρωση μέχρι 0,2 % εκφραζόμενη σε διοξειδίο του θείου.

### A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

#### 1. ΑΡΧΗ

Το δείγμα θερμαίνεται με υδροχλωρικό οξύ και το απελευθερούμενο διοξειδίο του θείου ανιχνεύεται από την οσμή του ή από τη δράση του πάνω σε δείκτη χάρτου.

#### 2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

##### 2.1. Υδροχλωρικό οξύ (4 M).

##### 2.2. Αμυλο-ιωδικός χάρτης ή άλλος κατάλληλος χάρτινος δείκτης.

**3 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

- 3.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.  
3.2. Σφαιρική φιάλη (25 mg) εφοδιασμένη με μικρό κάθετο ψυκτήρα.

**4. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

- 4.1. Ποσότητα δείγματος 2,5 g περίπου τοποθετείται στη φιάλη (3.2) με 10 ml υδροχλωρικό οξύ (2.1).  
4.2. Αναμιγνύεται και θερμαίνεται μέχρι βρασμού.  
4.3. Γίνεται έλεγχος της έκλυσης του διοξειδίου του θείου από την οσμή ή με το δείκτη χάρτου (2.2).

**B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ****1. ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε θειώδη ή όξινα θειώδη που προσδιορίζεται με αυτή τη μέθοδο εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό μάζας διοξειδίου του θείου.

**2. ΑΡΧΗ**

Το δείγμα οξειδίζεται και το απελευθερούμενο διοξείδιο του θείου αποσπάζεται σε διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου. Το θειικό οξύ που σχηματίζεται ογκομετρείται με πηλοδοτημένο διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου.

**3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

- 3.1. Υπεροξείδιο του υδρογόνου 0.2 % (m/v). Παρασκευάζεται την ημέρα της χρησιμοποίησης.  
3.2. Ορθοφωσφορικό οξύ ( $d_{25}^4 = 1,75$ ). //  
3.3. Μεθανόλη.  
3.4. Τίτλοδοτημένο διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (0,01 M).  
3.5. Αζωτο.  
3.6. Δείκτης: μείγμα 1: 1 (v/v) ερυθρού του μεθυλίου (0.03 % m/v σε αιθανόλη) και κυανού του μεθυλενίου (0.05 % m/v σε αιθανόλη).

Το διάλυμα διηθείται.

**4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

- 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.  
4.2. Συσκευή αποστάξεως (βλέπε σχήμα)

**5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

- 5.1. Ποσότητα δείγματος 2,5 g περίπου ζυγίζονται επακριβώς και εισάγεται στη συσκευή απόσταξης Α. (βλέπε σχήμα).  
5.2. Προσθέτονται 60 ml νερού και 50 ml μεθανόλης (3.3) και αναμιγνύονται.



- 5.3. 10 ml υπεροξειδίου του υδρογόνου (3.1.), 60 ml νερού και μερικές σταγόνες δείκτη (3.6) τοποθετούνται στον υποδοχέα της απόσταξης D (βλέπε σχήμα). Προσθέτονται μερικές σταγόνες υδροξειδίου του νατρίου (3.4) μέχρις ότου ο δείκτης γίνει πράσινος.
- 5.4. Επαναλαμβάνεται το 5.3 στην πλυντρίδα ασφαλείας E (βλέπε σχήμα).
- 5.5. Συνδέεται η συσκευή και ρυθμίζεται η ροή του αζώτου (3.5.) σε περίπου 60 φυσαλίδες το λεπτό.
- 5.6. Χύνονται 15 ml ορθοφωσφορικού οξέος (3.2) από τη χοάνη μέσα στη φιάλη απόσταξης A.
- 5.7. Θερμαίνεται ισχυρά μέχρι βρασμού και μετά αφήνεται σε ήπιο βρασμό επί 30 λεπτά συνολικά.
- 5.8. Αποσυνδέεται ο υποδοχέας απόσταξης D. Εκπλένεται ο σωλήνας. Ακολουθεί ογκομέτρηση με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (3.4) μέχρις ότου ο δείκτης (3.6) γίνει πράσινος.

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε θειώδη ή όξινα θειώδη ανά μάζα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ m/m διοξειδίου του θείου} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

όπου:

M = μοριακή συγκέντρωση του διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου (3.4).

V = όγκος (σε ml) υδροξειδίου του νατρίου (3.4.) που απαιτείται για την ογκομέτρηση (5.8)

m = μάζα (σε g) του δείγματος (5.1).

## 7. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα διοξειδίου του θείου 0.2 % m/m, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0.006 %.

(1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725.

## Ν.ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΧΛΩΡΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΤΩΝ ΑΛΚΑΛΙΩΝ

### ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των χλωρικών στις οδοντόπαστες και άλλα καλλυντικά προϊόντα.

#### A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

##### 1. ΑΡΧΗ

Τα χλωρικά άλατα διαχωρίζονται από τα άλλα αλογονικά με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και ανιχνεύονται από την οξειδωση του ιωδιούχου καλίου σε ιώδιο.

##### 2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

- 2.1. Διαλύματα αναφοράς: πρόσφατα υδατικά διαλύματα χλωρικού, βρωμικού και ιωδικού καλίου (0,2 % m/v).
- 2.2. Διαλύτης αναπτύξεως: διάλυμα αμμωνίας (28 % m/v) /ακετόνη/βουτανόλη (60-130-30 v/v/v).
- 2.3. Υδατικό διάλυμα ιωδιούχου καλίου (5 % m/v).
- 2.4. Διάλυμα αμύλου (1 έως 5 % m/v).
- 2.5. Υδροχλωρικό οξύ, M.
- 2.6. Έτοιμες προς χρήση πλάκες επιστρωμένες με λεπτή στιβάδα κυτταρίνης (πάχος 0,25 mm).

##### 3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Συνήθης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.

##### 4. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- 4.1. Ποσότητα δείγματος 1 g περίπου εκχυλίζεται με νερό, διηθείται και αραιώνεται περίπου στα 25 ml.
- 4.2. Τοποθετείται στη πλάκα (2.6) ξεχωριστά από 2 ml του διαλύματος (4.1) και των τριών διαλυμάτων αναφοράς (2.1).
- 4.3. Η πλάκα (2.6) τοποθετείται σε θάλαμο και αναπτύσσεται με ανιούσα χρωματογραφία μέχρι τα τρία τέταρτα περίπου του ύψους της με διαλύτη (2.2).
- 4.4. Η πλάκα αποσειρείται από το θάλαμο και αφήνεται να εξατμισθεί ο διαλύτης (αυτό μπορεί να διαρκέσει μέχρι δύο ώρες)
- 4.5. Αρχικά ψεκάζεται η πλάκα με ιωδιούχο κάλιο (2.3) και αφήνεται να ξηρανθεί επί πεντάλεπτο περίπου.
- 4.6. Στη συνέχεια ψεκάζεται με διάλυμα αμύλου (2.4) και αφήνεται να ξηρανθεί επί πεντάλεπτο περίπου.
- 4.7. Τέλος ψεκάζεται με υδροχλωρικό οξύ (2.5). //

## 5. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

Η παρουσία χλωρικών αλάτων πιστοποιείται με την εμφάνιση κυανής (ή ενδεχομένως καστανής) κηλίδας μετά μισή ώρα. Οι τιμές των Rf είναι οι εξής:

Ουσία	Rf
Ιωδικά	0 έως 0,2
Βρωμικά	0,5 έως 0,6
Χλωρικά	0,7 έως 0,8

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα βρωμικά και ιωδικά άλατα δίνουν αμέσως αντίδραση και ότι δεν πρέπει να γίνεται σύγκριση μεταξύ των κηλίδων των βρωμικών και χλωρικών ενώσεων.

## B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα των χλωρικών αλάτων που προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό μάζας χλωρικών.

## 2. ΑΡΧΗ

Τα χλωρικά άλατα ανάγονται από σκόνη ψευδαργύρου σε όξινο περιβάλλον. Τα σχηματιζόμενα χλωριούχα άλατα μετρώνται με ποτενσιομετρική ογκομέτρηση χρησιμοποιώντας διάλυμα νιτρικού αργύρου. Ένας ανάλογος προσδιορισμός πριν από την αναγωγή ελέγχει την πιθανή παρουσία αλογονούχων ενώσεων.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

- 3.1. Οξικό οξύ 80 % m/m.
- 3.2. Σκόνη ψευδαργύρου.
- 3.3. Τιτλοδοτημένο διάλυμα νιτρικού αργύρου 0,1 M.

## 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

- 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
- 4.2. Ποτενσιόμετρο με ηλεκτρόδιο ενδείξεως αργύρου

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

## 5.1. Προετοιμασία του δείγματος

Ζυγίζεται επακριβώς ποσότητα δείγματος (m) 2 g περίπου σε σωλήνα φυγοκέντρου. Προστίθενται περίπου 15 ml οξικού οξέος (3.1) και αναμειγνύεται προσεκτικά. Αφήνεται επί 30 λεπτά και φυγοκεντρείται επί 15 λεπτά στις 2 000 στροφές/λεπτό. Μετάφεται το υπερκείμενο διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml. Επαναλαμβάνεται δύο φορές η φυγοκέντρωση με προσθήκη 15 ml. Επαναλαμβάνεται

δύο φορές η φυγοκέντρωση με προσθήκη 15 ml οξικού οξέος (3.1) στο ίζημα. Συλλέγεται το διάλυμα που περιέχει τα χλωρικά άλατα στην ίδια ογκομετρική φιάλη και συμπληρώνεται με οξικό οξύ (3.1) μέχρι τη χαραγή.

#### 5.2. Αναγωγή των χλωρικών

Σε 20 ml από το διάλυμα (5.1) προστίθενται 0,6 g σκόνης ψευδαργύρου (3.2). Φέρονται σε βρασμό σε φιάλη με κάθετο ψυκτήρα. Μετά 30 λεπτά βρασμού, το διάλυμα ψύχεται και διηθείται. Εκπλύνεται η φιάλη με νερό. Τα εκπλύματα διηθούνται και συνενώνονται με το διήθημα.

#### 5.3. Ποσοτικός προσδιορισμός των χλωριούχων

Το διάλυμα (5.2) ογκομετρείται με νιτρικό άργυρο (3.3) με τη βοήθεια ποτενσιομέτρου (4.2). Κατά τον ίδιο τρόπο ογκομετρούνται 20 ml του διαλύματος (5.1) με νιτρικό άργυρο (3.3).

Εάν το προϊόν περιέχει παράγωγα βρωμίου ή ιωδίου, τα οποία μετά την αναγωγή μπορεί να απελευθερώσουν βρωμιούχα ή ιωδιούχα, η καμπύλη ογκομετρήσεως θα παρουσιάσει πολλά σημεία καμπής. Στην περίπτωση αυτή, ο όγκος του διαλύματος νιτρικού αργύρου (3.3) που αντιστοιχεί στα χλωριούχα είναι η διαφορά του τελευταίου και του προτελευταίου σημείου καμπής.

### 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα των χλωρικών στο δείγμα (% m/m) υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% \text{ χλωρικά (ClO}_3^-) \text{ m/m} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

όπου

V= ο όγκος (ml) του διαλύματος νιτρικού αργύρου (3.3) που χρησιμοποιήθηκε για την ογκομέτρηση του διαλύματος (5.2)

V'= ο όγκος (ml) του διαλύματος νιτρικού αργύρου (3.3) που χρησιμοποιήθηκε για την ογκομέτρηση του διαλύματος (5.1)

M = η μοριακότητα (molarity) του διαλύματος νιτρικού αργύρου (3.3)

m = η μάζα (g) του δείγματος (5.1).

### 7. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα χλωρικών 3 έως 5 % m/m, διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβεί το 0,07 % m/m.

## VI. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΩΔΙΚΟΥ ΝΑΤΡΙΟΥ

### ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό του ιωδικού νατρίου στα καλλυντικά που εκπλένονται μετά τη χρήση τους

#### A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

**1. ΑΡΧΗ.**

Το ιωδικό νάτριο διαχωρίζεται από τα άλλα αλογονικά με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και ανιχνεύεται με την οξείδωση των ιωδιούχων σε ιώδιο.

**2. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας.

2.1. Διαλύματα αναφοράς. Υδατικά διαλύματα χλωρικού, βρωμικού και ιωδικού καλίου (0,01 % m/l) παρασκευασμένα πρόσφατα.

2.2. Διαλύτης ανάπτυξης.

Διάλυμα αμμωνίας (28 % m/l) /ακετόνη/βουτανόλη (60/130/30 v/v/v).

2.3. Υδατικό διάλυμα ιωδιούχου καλίου (5 % m/l).

2.4. Διάλυμα αμύλου (1 μέχρι 5 % m/l).

2.5. Υδροχλωρικό οξύ, M.

**3. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

3.1. Έτοιμες πλάκες κυτταρίνης για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (0,25 mm).

3.2. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στιβάδας.

**4. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

4.1. 1 g δείγματος εκχυλίζεται με νερό, διηθείται και αραιώνεται στα 10 ml περίπου.

4.2. Τοποθετούνται 2 ml αυτού του διαλύματος στη γραμμή εκκινήσεως της πλάκας (3.1) μαζί με 2 ml από το καθένα από τα διαλύματα αναφοράς (2.1).

4.3. Τοποθετείται η πλάκα σε θάλαμο και αναπτύσσεται με ανιούσα χρωματογραφία κατά τα τρία τέταρτα περίπου του μήκους της πλάκας με το διαλύτη (2.2).

4.4. Απομακρύνεται η πλάκα από το θάλαμο και αφήνεται να εξατμισθεί ο διαλύτης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (αυτό μπορεί να διαρκέσει μέχρι δύο ώρες).

4.5. Ψεκάζεται η πλάκα με ιωδιούχο κάλιο (2.3) και αφήνεται να ξηρανθεί επί πέντε λεπτά περίπου.

4.6. Ψεκάζεται με διάλυμα αμύλου (2.4) και αφήνεται να ξηρανθεί επί πέντε λεπτά περίπου.

4.7. Τέλος ψεκάζεται με υδροχλωρικό οξύ (2.5).

**5. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ**

Εάν υπάρχουν ιωδικά άλατα εμφανίζεται αμέσως κυανή κηλίδα με τιμή R<sub>f</sub> περίπου 0 έως 0,2 (το χρώμα της κηλίδας μπορεί να είναι καστανό ή να γίνει καστανό κατά τη παραμονή).

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα βρωμικά δίνουν αμέσως αντίδραση με τιμές R<sub>f</sub> 0,5 έως 0,6 ενώ τα χλωρικά μετά 30 λεπτά περίπου, με τιμές R<sub>f</sub> 0,7 έως 0,8.

**B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ**

## 1. ΟΡΙΣΜΟΣ

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε ιωδικό νάτριο που προσδιορίζεται με αυτή τη μέθοδο εκφράζεται σε ποσοστό επί τoις εκατό μάζας ιωδικού νατρίου.

## 2. ΑΡΧΗ

Το ιωδικό νάτριο διαλύεται στο νερό και προσδιορίζεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσεως (HPLC) με χρησιμοποίηση, εν σειρά, μιας στήλης ανεστραμμένης φάσης C18 και μιας ανιο-ανταλλακτικής στήλης.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικού βαθμού καθαρότητας και κατάλληλα για υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσεως (HPLC).

### 3.2. Υδροχλωρικό οξύ, 4M.

### 3.2. Υδατικό διάλυμα θειώδους νατρίου, 5 % m/v.

### 3.3. Φυλασσόμενο διάλυμα ιωδικού νατρίου.

Παρασκευάζεται διάλυμα που να περιέχει 50 mg ιωδικού νατρίου σε 100 ml νερού.

### 3.4. Δισόξυνο ορθοφωσφορικό κάλιο.

### 3.5. Όξινο ορθοφωσφορικό νάτριο, 2H<sub>2</sub>O.

### 3.6. HPLC κινητή φάση: 3,88 g δισόξυνου ορθοφωσφορικού καλίου (3.4) και 1,19 g μονόξυνου ορθοφωσφορικού νατρίου 2H<sub>2</sub>O (3.5) διαλύονται σε ένα λίτρο νερού.

Το pH του προκύπτοντος διαλύματος είναι 6,2.

### 3.7. pH-μετρικός χάρτης γενικής χρήσης, pH 1-11.

## 4. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

### 4.1. Κυκλικός χάρτινος ηθμός, διαμέτρου 110 mm, Schleicher και Schull αριθ. 575 ή ανάλογος.

### 4.2. Συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσεως με ανιχνευτή μεταβλητού μήκους κύματος.

### 4.3. Στήλες: μήκος 120 mm, εσωτερική διάμετρος 4,6 mm. Δύο στήλες συνδεδεμένες σειρά, η πρώτη neclleosil (R) 5 C18 ή ανάλογη, η δεύτερη vydac, TM-301-SB ή ανάλογη.

## 5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

### 5.1. Προετοιμασία των δειγμάτων

#### 5.1.1. Υγρά δείγματα (σαμπουάν)

Ζυγίζεται επτακριβώς ποσότητα δείγματος 1 g περίπου σε βαθμολογημένο γυάλινο σωλήνα με εσφυρισμένο πώμα ή σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml. Συμπληρώνεται με νερό μέχρι τη χαραγή, αναμειγνύεται και εάν είναι απαραίτητο διηθείται.

Προσδιορίζεται η ποσότητα των ιωδικών ανιόντων στο διάλυμα με τη βοήθεια χρωματογραφίας υψηλής πίεσης σε υγρή φάση, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.2.

## 5.1.2. Στερεά δείγματα (σαπούνι)

Το δείγμα λεπτοτεμαχίζεται ζυγίζεται επακριβώς ποσότητα 1 g περίπου. Φέρεται σε βαθμολογημένο γυάλινο κύλινδρο των 100 ml με εσμύρισμένο πάγμα.

Συμπληρώνεται μέχρι 50 ml με νερό και ανακινείται ισχυρά επί ένα λεπτό. Φυγοκεντρείται ή διηθείται από διηθητικό χαρτί ή αφήνεται το μείγμα να παραμείνει τουλάχιστον μία νύχτα. Το ζελατινώδες διάλυμα ανακινείται ισχυρά και διηθείται από διηθητικό χαρτί (4.1). Στο διήθημα γίνεται ο ποσοπικός προσδιορισμός των ιωδικών με HPLC όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.2.

## 5.2. Χρωματογραφία

Ταχύτητα ροής: 1 ml/min.

Μήκος κύματος ανιχνευτή: 210 nm.

Ενιέμενος όγκος: 10 ml.

Μέτρηση: εμβαδόν της κορυφής.

## 5.3. Βαθμονόμηση

Λαμβάνονται από το φυλασσόμενο διάλυμα (3.3) 1,0 - 2,0 - 5,0 - 10,0 και 20,0 ml αντίστοιχα σε ογκομετρικές φιάλες των 50 ml.

Συμπληρώνονται μέχρι την χαραγή και αναμειγνύονται.

Τα διαλύματα που επιτυγχάνονται περιέχουν 0,01 - 0,02 - 0,05 - 0,10 και 0,20 mg ιωδικού νατρίου ανά ml αντίστοιχα.

Ποσότητα 10 μl από κάθε διάλυμα αναφοράς ενίεται στο χρωματογράφο (4.3). Προσδιορίζεται το εμβαδόν των κορυφών για τα ιωδικά άλατα και χαράζεται η καμπύλη που απεικονίζει τη σχέση του εμβαδού των κορυφών με τη συγκέντρωση του ιωδικού νατρίου.

## 6. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα του ιωδικού νατρίου επί τοις εκατό ανά μάζα (% m/m) από τον τύπο:

$$\% \text{ (m/m) ιωδικού νατρίου} = \frac{Vc}{10 m}$$

όπου:

m = η μάζα, σε γραμμάρια, του προς εξέταση δείγματος (5.1)

V = ο συνολικός όγκος του διαλύματος του δείγματος, σε ml που λαμβάνεται, όπως περιγράφεται στο 5.1

c = η συγκέντρωση, σε mg/ml ιωδικού νατρίου, όπως προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς (5.3).

## 7. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ (1)

Για περιεκτικότητα ιωδικού νατρίου 0,1 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παραλλήλων προσδιορισμών που πραγματοποιούνται στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει τα 0,002 %.

## 8. ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ

### 8.1. Αρχή

Στο οξινισμένο διάλυμα του καλλυντικού, τα ιωδικά ( $\text{IO}_3^-$ ) ανάγονται προς ιωδιούχα ( $\text{I}^-$ ) από τα θειώδη και το προκύπτον διάλυμα εξετάζεται με HPLC. Αν μετά την κατεργασία με θειώδη μία κορυφή με χρόνο κατακράτησης αντίστοιχο προς το χρόνο κατακράτησης των ιωδικών εξαφανιστεί, η αρχική αυτή κορυφή μπορεί κατά πάσα πιθανότητα να αποδοθεί στα ιωδικά.

### 8.2. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

5 ml του διαλύματος του δείγματος που λαμβάνεται, όπως περιγράφεται στη παράγραφο 5.1, φέρονται σε κωνική φιάλη.

Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος σε τιμή 3 ή μικρότερη με υδροχλωρικό οξύ (3.1) και pH-μετρικό χάρτη (3.7).

Προστίθενται 3 σταγόνες διαλύματος θειώδους νατρίου (3.2) και αναμειγνύεται.

Ενίεται ποσότητα 10 ml από το διάλυμα στον υγρό χρωματογράφο (4.2). Συγκρίνεται αυτό το χρωματογράφημα με το χρωματογράφημα που λαμβάνεται, όπως περιγράφεται στη παράγραφο 5, για το ίδιο δείγμα.

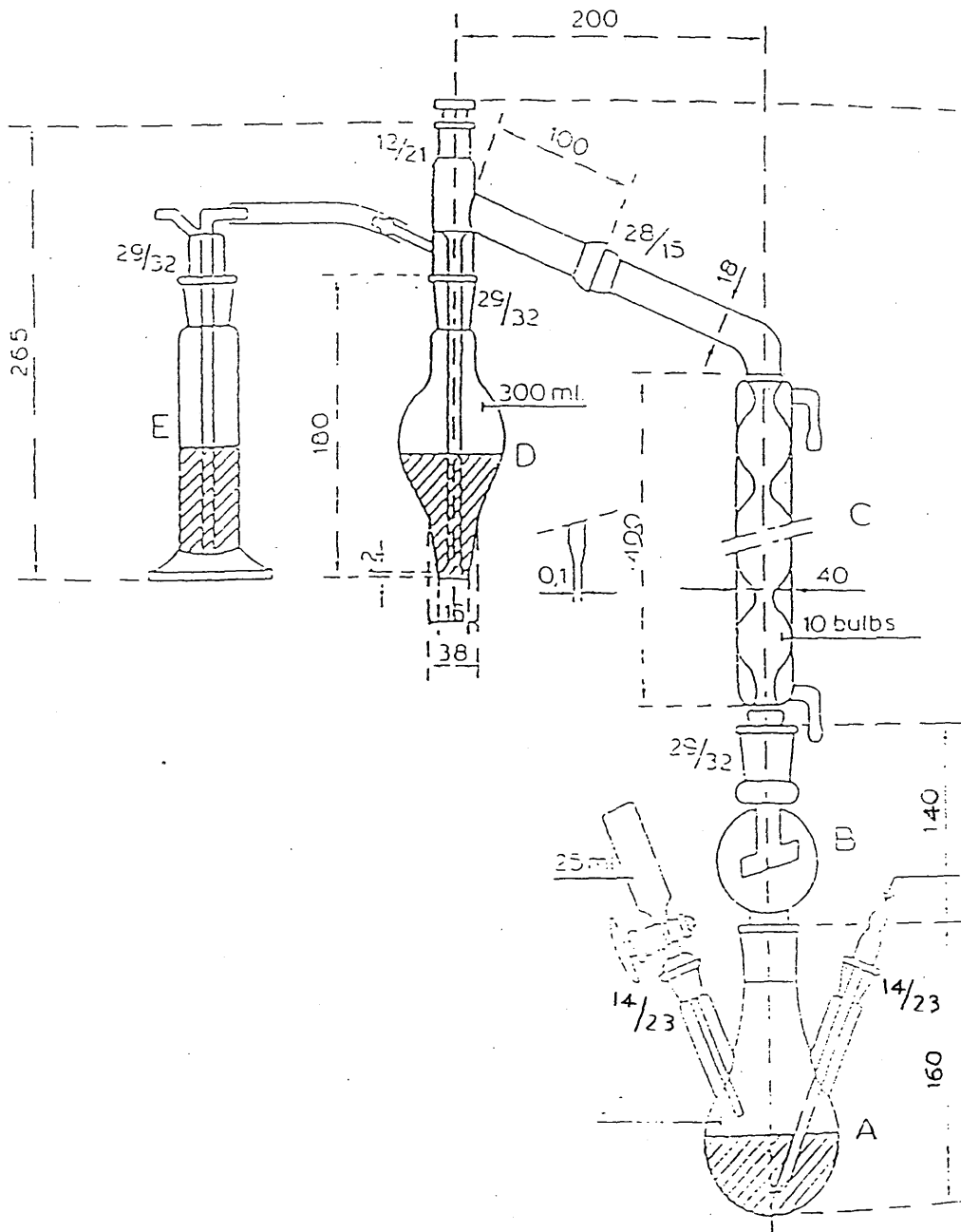
(1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725.

(1) Σύμφωνα με το πρότυπο ISO 5725.



Συσκευή αεριοποίησης διαζωτίου του Τζάνου κατά Tanner

Όλες οι διαστάσεις δίνονται σε mm



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ V

(Κανονισμός 3)

I. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΝΙΤΡΙΚΟΥ ΑΡΓΥΡΟΥ ΣΤΑ  
ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

## A. Ανίχνευση

## 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η παρούσα μέθοδος περιγράφει την ανίχνευση του νιτρικού αργύρου ως αργύρου σε υδατικά καλλυντικά προϊόντα.

## 2. ΑΡΧΗ

Ο άργυρος ανιχνεύεται από το χαρακτηριστικό λευκό ίζημα που σχηματίζει με χλωριούχα ιόντα.

## 3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

## 3.1. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος: 2 M

3.2. Διάλυμα αμμωνίας: αραιώση πυκνού διαλύματος αμμωνίας ( $d_{20} = 0,88 \text{ g/ml}$ ) με ίση ποσότητα νερού και ανάμειξη.

## 3.3. Διάλυμα νιτρικού οξέος (2 M).

## 4. Εξοπλισμός

## 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

## 4.2. Φυγόκεντρος.

## 5. Τρόπος εργασίας

## 5.1. Σε 1 g περίπου δείγματος, που έχει τοποθετηθεί σε σωλήνα φυγοκέντρησης, προστίθεται διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 2 M (3.1) στάγονη μέχρις ότου η καθίζηση ολοκληρωθεί- ακολουθεί ανάμειξη και φυγοκέντρηση.

- 5.2. Απομακρύνεται το υπερκείμενο υγρό και το ίζημα εκπλύνεται μία φορά με 5 σταγόνες κρύου νερού. Τα υγρά της έκπλυσης απορρίπτονται.
- 5.3. Στο σωλήνα προστίθεται ίσος όγκος νερού με τον όγκο του ιζήματος. Το υγρό θερμαίνεται μέχρι βρασμού και αναδεύεται.
- 5.4. Το μείγμα φυγοκεντρείται εν θερμώ και απομακρύνεται το υπερκείμενο υγρό.
- 5.5. Στο ίζημα προστίθενται μερικές σταγόνες διαλύματος αμμωνίας (3.2) και ακολουθεί ανάμειξη και φυγοκέντριση.
- 5.6. Μία σταγόνα του υπερκείμενου υγρού φέρεται σε γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα και προστίθενται μερικές σταγόνες διαλύματος νιτρικού οξέος 2 M (3.3).
- 5.7. Η εμφάνιση λευκού ιζήματος δείχνει την παρουσία αργύρου.

## B. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

### 1. ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η παρούσα μέθοδος είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό του νιτρικού αργύρου ως αργύρου σε καλλυντικά προϊόντα που προορίζονται για τη βαφή των βλεφαριδών ή των φρυδιών.

### 2. ΑΡΧΗ

Ο άργυρος προσδιορίζεται στο προϊόν με φασματοφωτομερία ατομικής απορρόφησης.

### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

3.1. Διάλυμα νιτρικού οξέος (0,02 M)

3.2. Πρότυπα διαλύματα αργύρου.

3.2.1. Μητρικό διάλυμα αργύρου 1 000 µg/ml σε διάλυμα νιτρικού οξέος, 0,05 M (Spectrosol ή ισοδύναμο).

3.2.2. Πρότυπο διάλυμα αργύρου (100 µg/ml): 10 ml μητρικού διαλύματος αργύρου (3.2.1) μεταφέρονται με σιφώνιο σε ογκομετρική φιάλη 100 ml. Ο όγκος συμπληρώνεται με διάλυμα νιτρικού οξέος 0,02 M (3.1) και γίνεται ανάμειξη. Αυτό το πρότυπο διάλυμα θα πρέπει να είναι πρόσφατα παρασκευασμένο και αποθηκευμένο σε γυάλινη φιάλη σκούρου χρώματος.

#### 4. Εξοπλισμός

##### 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

##### 4.2. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εφοδιασμένο με λυχνία αργύρου κοίλης καθόδου.

#### 5. Τρόπος εργασίας

##### 5.1. Παρασκευή δείγματος

Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,1 g (m gram) ομοιογενούς δείγματος του προϊόντος, μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη του 1 λίτρου και συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα νιτρικού οξέος 0,02 M (3.1) και ακολουθεί ανάμειξη.

##### 5.2. Συνθήκες για την ατομική απορρόφηση

Μήκος κύματος: 338,3 nm

Φλόγα: αέρας/ακετυλένιο

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): ναί

Συνθήκες καυσίμου: χαμηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

##### 5.3. Βαθμονόμηση

5.3.1. Σε σειρά ογκομετρικών φιαλών των 100 ml φέρονται με σιφώνιο 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 και 5,0 ml από το πρότυπο διάλυμα αργύρου (3.2.2). Ο όγκος σε κάθε φιάλη συμπληρώνεται με διάλυμα νιτρικού οξέος 0,02 M (3.1) και ακολουθεί ανάμειξη. Τα διαλύματα που λαμβάνονται με τον τρόπο αυτό, περιέχουν 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 και 5,0 μg αργύρου ανά ml αντίστοιχα.

5.3.2. Μετράται η απορρόφηση ποσότητας διαλύματος νιτρικού οξέος 0,02 M (3.1) και χρησιμοποιείται η λαμβανόμενη τιμή ως μηδενική συγκέντρωση αργύρου για την καμπύλη βαθμονόμησης.

Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση καθενός από τα πρότυπα διαλύματα αργύρου (5.3.1) και καταγράφονται οι τιμές. Χαράσσεται η καμπύλη βαθμονόμησης, η οποία παριστάνει τη σχέση τιμών απορρόφησης ως προς τη συγκέντρωση αργύρου.

##### 5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1) και καταγράφεται η τιμή. Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση αργύρου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης του διαλύματος δείγματος.

#### 6. Υπολογισμός

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε νιτρικό άργυρο, ως ποσοστό επί τις εκατό κατά μάζα (% m/m), με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ (m/m) νιτρικού αργύρου} = \frac{1.5748 \times c}{10 \times m}$$

όπου:

m = μάζα σε γραμμάρια δείγματος (5.1) που υποβάλλεται σε ανάλυση και

c = συγκέντρωση αργύρου στο διάλυμα δείγματος (5.1) σε μικρογραμμάρια ανά χιλιοστόλιτρο, που λαμβάνεται από την καμπύλη βαθμονόμησης.

#### 7. Επαναληψιμότητα (1)

Για περιεκτικότητα νιτρικού οξέος 4 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών, που έχουν εκτελεστεί παράλληλα στο ίδιο δείγμα, δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 0,05 % (m/m).

## II. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΘΕΙΟΥΧΟΥ ΣΕΛΗΝΙΟΥ ΣΤΑ ΣΑΜΠΟΥΑΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΗΣ ΠΙΤΥΡΙΔΑΣ

### A. Ανίχνευση

#### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος περιγράφει την ανίχνευση του διθειούχου σεληνίου ως σεληνίου στα σαμπουάν για την καταπολέμηση της πιτυρίδας.

#### 2. Αρχή της μεθόδου

Το σεληνίο ανιχνεύεται από το χαρακτηριστικό κίτρινο χρωματισμό που εμφανίζεται κατά την αντίδραση με ουρία και ιωδιούχο κάλιο.

#### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

- 3.1. Πυκνό νιτρικό οξύ ( $d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$ )
- 3.2. Ουρία
- 3.3. Διάλυμα ιωδιούχου καλίου 10 % (m/v): διαλύονται σε 10 g ιωδιούχου καλίου σε 100 ml νερού.
4. Εξοπλισμός
  - 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
  - 4.2. Δοκιμαστικός σωλήνας διάσπασης χωρητικότητας 100 ml.
  - 4.3. Θερμαινόμενη διάταξη διάσπασης
  - 4.4. Διηθητικό χαρτί (Whatman no 42 ή διηθητική μεμβράνη 0,45  $\mu\text{m}$ )
5. Τρόπος εργασίας
  - 5.1. Σε 1 g περίπου σαμπουάν, μέσα σε σωλήνα διάσπασης (4.2), προστίθενται 2,5 ml νιτρικού οξέος (3.1) και το σύνολο αφήνεται για διάσπαση στους 150 ° C επί 30 λεπτά, στη θερμαινόμενη διάταξη διάσπασης (4.3).
  - 5.2. Το διασπασμένο δείγμα αραιώνεται μέχρι τα 25 ml με νερό και διηθείται με ηθμό ή διηθητική μεμβράνη των 0,45  $\mu\text{m}$  (4.4).
  - 5.3. Στα 2,5 ml του διηθήματος προστίθενται 5 ml νερού, 2,5 g ουρίας (3.2) και το μείγμα βράζεται. Στη συνέχεια ψύχεται και προστίθεται σ' αυτό 1 ml διαλύματος ιωδιούχου καλίου (3.3).
  - 5.4. Η παρουσία σεληνίου πιστοποιείται με την εμφάνιση χρώματος κίτρινου έως πορτοκαλί, που σκουραίνει γρήγορα με την παραμονή.
- B. Ποσοτικός προσδιορισμός
  1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος είναι κατάλληλη για τον ποσοτικό προσδιορισμό του διθειούχου σεληνίου ως σεληνίου στα σαμπουάν για την καταπολέμηση της πιτυρίδας, που περιέχουν μέχρι 4,5 % (m/m) διθειούχου σεληνίου.
  2. Αρχή της μεθόδου

Το δείγμα διασπάται εν θερμώ με νιτρικό οξύ και το σελήνιο προσδιορίζεται ποσοτικά

στο προκύπτον προϊόν της διάσπασης με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια θα πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 3.1. Πυκνό νιτρικό οξύ ( $d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$ ).

3.2. Διάλυμα νιτρικού οξέος 5 % (v/v): προστίθενται 50 ml νιτρικού οξέος (3.1) σε 500 ml νερού σε ποτήρι ζέσεως υπό συνεχή ανάδευση. Το διάλυμα αυτό μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη του 1 λίτρου και συμπληρώνεται με νερό.

3.3. Μητρικό διάλυμα σεληνίου συγκεντρώσεως 1 000  $\mu\text{g/ml}$  σε διάλυμα νιτρικού οξέος 0,5 M (Spectrosol ή ισοδυνάμου).

### 4. Εξοπλισμός

4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

4.2. Δοκιμαστικός σωλήνας διάσπασης χωρητικότητας 100 ml

4.3. Θερμαινόμενη διάταξη διάσπασης

4.4. Διηθητικό χαρτί (Whatman no 42 ή αντίστοιχο) ή διηθητική μεμβράνη 0,45  $\mu\text{m}$ .

4.5. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εφοδιασμένο με λυχνία σεληνίου κοίλης καθόδου.

### 5. Τρόπος εργασίας

#### 5.1. Παρασκευή δείγματος

5.1.1. Μέσα σε σωλήνα διάσπασης (4.2) ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,2 g (m gram) ομοιογενούς δείγματος σαμπουάν.

5.1.2. Προστίθενται 5 ml πυκνού νιτρικού οξέος (3.1) και το μείγμα αφήνεται για διάσπαση στους 150 °C επί 1 ώρα σε θερμαινόμενη διάταξη διάσπασης (4.3).

5.1.3. Το μείγμα αφήνεται να ψυχθεί και αραιώνεται μέχρι τα 100 ml με νερό. Το αραιωμένο δείγμα διηθείται με ηθμό ή με διηθητική μεμβράνη 0,45  $\mu\text{m}$  (4.4). Το διάλυμα αυτό φυλάσσεται για τον προσδιορισμό.

#### 5.2. Συνθήκες για την ατομική απορρόφηση

Μήκος κύματος: 196,0 nm

Φλόγα: αέρας/ακετυλένιο

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): ναι

Συνθήκες καυσίμου: χαμηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

### 5.3. Βαθμονόμηση

5.3.1. Σε σειρά ογκομετρικών φιαλών των 100 ml φέρονται με σιφώνιο 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 και 5,0 ml μητρικού διαλύματος σεληνίου (3.3). Ο όγκος κάθε διαλύματος συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με πυκνό νιτρικό οξύ 5 % (v/v) (3.2) και το σύνολο αναμειγνύεται. Τα διαλύματα αυτά περιέχουν 10, 20, 30, 40 και 50 µg/ml σεληνίου αντίστοιχα.

5.3.2. Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος νιτρικού οξέος 5 % (v/v) (3.2) και η λαμβανομένη τιμή χρησιμοποιείται ως απορρόφηση που αντιστοιχεί σε μηδενική συγκέντρωση σεληνίου για την καμπύλη αναφοράς.

Μετράται η απορρόφηση κάθε προτύπου διαλύματος σεληνίου (5.3.1). Χαράσσεται η καμπύλη βαθμονόμησης, που συνδέει τις τιμές απορρόφησης με τις συγκεντρώσεις σεληνίου.

### 5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1.3) και καταγράφεται η τιμή. Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση σεληνίου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης του διαλύματος του δείγματος.

### 6. Υπολογισμός

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε διθειούχο σεληνίο, ως ποσοστό επί τις εκατό κατά μάζα (% m/m), με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ (m/m) διθειούχου σεληνίου} = \frac{1,812 \times c}{100 \times m}$$

όπου:

m = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος (5.1.1) που υποβάλλεται σε ανάλυση



και

$c$  = συγκέντρωση σεληνίου στο διάλυμα δείγματος (5.1.3) σε  $\mu\text{g}/\text{ml}$  όπως προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης.

7. Επαναληψιμότητα (2)

Για την περιεκτικότητα σε διθειούχο σεληνίο 1 % ( $\text{m}/\text{m}$ ) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών, που έχουν εκτελεστεί παράλληλα στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,05 % ( $\text{m}/\text{m}$ ).

**III. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΟΥ ΒΑΡΙΟΥ ΚΑΙ ΣΤΡΟΝΤΙΟΥ ΣΤΙΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ (ΠΙΓΜΕΝΤΑ) ΠΟΥ ΒΡΙΣΚΟΝΤΑΙ ΥΠΟ ΜΟΡΦΗ ΑΛΑΤΩΝ Ή ΛΑΚΩΝ**

A. Προσδιορισμός του διαλυτού βαρίου

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία για την εκχύλιση και τον προσδιορισμό του διαλυτού βαρίου στις χρωστικές ουσίες που βρίσκονται υπό τη μορφή αλάτων ή λακών.

2. Αρχή

Η χρωστική ουσία εκχυλίζεται με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M υπό καθορισμένες συνθήκες και η ποσότητα του διαλυτού βαρίου στο εκχύλισμα προσδιορίζεται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

3.1. Αιθανόλη, απόλυτη

3.2. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M

3.3. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,5 M

3.4. Διάλυμα χλωριούχου καλίου, 8 % ( $\text{m}/\text{v}$ ): διαλύονται 16 g χλωριούχου καλίου σε 200 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2).

3.5. Πρότυπα διαλύματα βαρίου

- 3.5.1. Μητρικό πρότυπο διάλυμα βαρίου 1 000  $\mu\text{g/ml}$  σε διάλυμα νιτρικού οξέος 0,5 M (Spectrosol ή ισοδύναμο)
- 3.5.2. Πρότυπο διάλυμα βαρίου, 200  $\mu\text{g/ml}$ : μεταφέρονται με σιφώνιο 20,0 ml μητρικού προτύπου διαλύματος (3.5.1) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται.
4. Εξοπλισμός
  - 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
  - 4.2. Πεχάμετρο με ακρίβεια  $\pm 0,02$  μονάδων
  - 4.3. Συσκευή ανακίνησης της φιάλης
  - 4.4. Διηθητική μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45  $\mu\text{m}$
  - 4.5. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εφοδιασμένο με λυχνία βαρίου κοίλης καθόδου.
5. Τύπος εργασίας
  - 5.1. Παρασκευή του δείγματος
    - 5.1.1. Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,5 g (m gram) χρωστικής ουσίας μέσα σε κωνική φιάλη των 250 ml. Δεν πρέπει να χρησιμοποιείται φιάλη μικρότερη των 150 ml, ώστε ο όγκος να είναι επαρκής για αποτελεσματική ανάδευση.
    - 5.1.2. Προστίθεται με σιφώνιο 1,0 ml αιθανόλης (3.1) και η φιάλη περιστρέφεται ώστε να εξασφαλισθεί πλήρης διαβροχή της χρωστικής ουσίας. Προστίθεται με προχοϊδα η ακριβής ποσότητα διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) η οποία απαιτείται για να επιτευχθεί αναλογία όγκου οξέος προς μάζα χρωστικής ουσίας ακριβώς 50 ml/g. Εστω ότι ο συνολικός όγκος του εκχυλίσματος, συμπεριλαμβανομένης της αιθανόλης, είναι V ml. Το περιεχόμενο της φιάλης αναδεύεται επί 5 δευτερόλεπτα ώστε να εξασφαλισθεί πλήρης ανάμειξη.
    - 5.1.3. Με το πεχάμετρο (4.2) μετράται το pH του προκύπτοντος εναιωρήματος και, αν υπερβαίνει το 1,5, προστίθεται διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,5 M (3.3) σταγόνην μέχρι να φθάσει την τιμή 1,4 έως 1,5
    - 5.1.4. Η φιάλη πωμπατίζεται και ανακινείται αμέσως επί 60 λεπτά με τη συσκευή ανακίνησης (4.3). Η ανάδευση πρέπει να γίνει με αρκετά μεγάλη ταχύτητα, ώστε να παραχθεί αφρός. Γίνεται διήθηση μέσω διηθητικής μεμβράνης 0,45  $\mu\text{m}$  (4.4) και το διήθημα συλλέγεται. Δεν πρέπει να φυγοκεντρείται το διάλυμα πριν από τη διήθηση. Μεταφέρονται με σιφώνιο 5,0 ml διηθήματος σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml, συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται επίσης για τον προσδιορισμό του στροντίου (Μέρος Β).

5.1.5. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml μεταφέρονται με σφώνιο 5,0 ml διαλύματος χλωριούχου καλίου (3.4) και μία ποσότητα (WBa ml) του αραιωμένου διήθηματος (5.1.4), ώστε η συγκέντρωση που θα προκύψει να είναι μεταξύ 3 και 10 µg βαρίου/ml. Μία ποσότητα 10 ml κρίνεται ότι αποτελεί ικανοποιητικό σημείο εκκίνησης. Συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται.

5.1.6. Προσδιορίζεται η συγκέντρωση του βαρίου στο διήθημα (5.1.5) με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης την ίδια ημέρα.

5.2. Συνθήκες για την ατομική απορρόφηση

Φλόγα: οξειδίο του αζώτου/ακετυλένιο

Μήκος κύματος: 553,5 nm

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): όχι

Συνθήκες καυσίμου: χαμηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

5.3. Βαθμονόμηση

5.3.1. Σε μία σειρά φιαλών των 100 ml μεταφέρονται με σφώνιο 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 και 5,0 ml προτύπου διαλύματος βαρίου (3.5.2). Σε κάθε φιάλη μεταφέρονται με σφώνιο 5,0 ml διαλύματος χλωριούχου καλίου (3.4) και ο όγκος συμπληρώνεται με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται. Τα διαλύματα αυτά περιέχουν 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 και 10,0 µg βαρίου/ml αντίστοιχα.

Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζεται τυφλό διάλυμα, παραλείποντας το πρότυπο διάλυμα βαρίου.

5.3.2. Μετράται η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος (5.3.1) και η τιμή που λαμβάνεται χρησιμοποιείται ως η μηδενική συγκέντρωση βαρίου για την καμπύλη βαθμονόμησης. Στη συνέχεια μετράται κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα βαρίου (5.3.1). Χαράσσεται η καμπύλη βαθμονόμησης που συνδέει τις τιμές απορρόφησης με τη συγκέντρωση βαρίου.

5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1.5). Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση βαρίου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης που λαμβάνεται για το διάλυμα δείγματος.

6. Υπολογισμός

Η περιεκτικότητα (% ml/ml) της χρωστικής ουσίας σε διαλυτό βάριο υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% (m/m) \text{ διαλυτού βαρίου} = \frac{c \times V}{10W_{Ba} \times m}$$

όπου:

$m$  = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που λαμβάνεται για ανάλυση (5.1.1),

$c$  = συγκέντρωση βαρίου στο διάλυμα δείγματος (5.1.5), σε  $\mu\text{g/ml}$ , που προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης,

$V$  = συνολικός όγκος του εκχυλίσματος σε  $\text{ml}$  (5.1.2) και

$W_{Ba}$  = όγκος του εκχυλίσματος σε  $\text{ml}$  που λαμβάνεται στο σημείο 5.1.5.

## 7. Επαναληψιμότητα

Η καλύτερη επαναληψιμότητα (ISO 5725) για τη μέθοδο αυτή είναι 0,3 % για περιεκτικότητα σε διαλυτό βάριο 2 % (m/m).

## 8. Παρατηρήσεις

8.1. Υπό ορισμένες συνθήκες, η απορρόφηση του βαρίου μπορεί να παρεμποδισθεί από την παρουσία ασβεστίου. Η παρεμπόδιση μπορεί να ελεγχθεί με προσθήκη ιόντος μαγνησίου σε συγκέντρωση 5 g ανά λίτρο (3).

8.2. Η μέτρηση της εκπομπής με τη μέθοδο πλάσματος (inductively coupled plasma optical emission) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εναλλακτική τεχνική της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης.

## B. Προσδιορισμός του διαλυτού στροντίου

### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος περιγράφει τη διαδικασία για την εκχύλιση και τον προσδιορισμό του διαλυτού στροντίου στις χρωστικές ουσίες που βρίσκονται υπό την μορφή αλάτων ή λακών.

### 2. Αρχή

Η χρωστική ουσία εκχυλίζεται με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0.07 M υπό καθορισμένες συνθήκες και η ποσότητα του στροντίου στο εκχύλισμα προσδιορίζεται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 3.1. Αιθανόλη, απόλυτη

#### 3.2. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M

#### 3.3. Διάλυμα χλωριούχου καλίου 8 % (m/v): 16 g χλωριούχου καλίου διαλύονται σε 200 ml υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2)

#### 3.4. Πρότυπα διαλύματα στρόντιου

##### 3.4.1. Μητρικό πρότυπο διάλυμα στρόντιου 1 000 µg/ml σε διάλυμα νιτρικού οξέος 0,5 M (Spectrosol η ισοδύναμο).

##### 3.4.2. Πρότυπο διάλυμα στρόντιου, 100 µg/ml: μεταφέρονται με σιφώνιο 10,0 ml μητρικού πρότυπου διαλύματος στρόντιου (3.4.1) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται.

### 4. Εξοπλισμός

#### 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

#### 4.2. Διηθητική μεμβράνη με μέγεθος πόρων 0,45 µm

#### 4.3. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εξοπλισμένο με λυχνία στρόντιου κοίλης καθόδου.

### 5. Τύπος εργασίας

#### 5.1. Παρασκευή δείγματος

Το διάλυμα που παρασκευάζεται στο σημείο A 5.1.4. χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε διαλυτό στρόντιο.

##### 5.1.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, μεταφέρονται με σιφώνιο 5.0 ml διαλύματος χλωριούχου καλίου (3.3) και μία ποσότητα (WSrml) του αραιωμένου διηθήματος (A 5.1.4), ώστε η συγκέντρωση που θα προκύψει να είναι μεταξύ 2 και 5 µg στρόντιου/ml. (Μία ποσότητα 25 ml κρίνεται ότι αποτελεί ικανοποιητικό σημείο εκκίνησης). Συμπληρώνεται ο όγκος με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0.07 M (3.2) και αναμειγνύεται.

5.1.2. Προσδιορίζεται η συγκέντρωση του στροντίου στο διήθημα (5.1.1) με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης την ίδια ημέρα.

5.2. Συνθήκες για την ατομική απορρόφηση

Φλόγα: οξειδίο του αζώτου/ακετυλένιο

Μήκος κύματος: 460,7 nm

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): όχι

Συνθήκες καυσίμου: χαμηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

5.3. Βαθμονόμηση

5.3.1. Σε μία σειρά ογκομετρικών φιαλών των 100 ml μεταφέρονται με σιφώνιο 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 και 5,0 ml του πρότυπου διαλύματος στροντίου (3.4.2). Σε κάθε φιάλη μεταφέρονται με σιφώνιο 5 ml διαλύματος χλωριούχου καλίου (3.3). Ο όγκος συμπληρώνεται με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,07 M (3.2) και αναμειγνύεται. Τα διαλύματα αυτά περιέχουν 1,0, 2,0, 4,0 και 5,0 µg στροντίου/ml αντίστοιχα.

Με τον ίδιο τρόπο παρασκευάζεται τυφλό διάλυμα παραλείποντας το πρότυπο διάλυμα στροντίου.

5.3.2. Μετράται η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος και η τιμή που λαμβάνεται χρησιμοποιείται ως μηδενική συγκέντρωση στροντίου για την καμπύλη βαθμονόμησης. Στη συνέχεια μετράται κάθε ένα από τα πρότυπα διαλύματα στροντίου (5.3.1). Χαράσσεται η καμπύλη βαθμονόμησης που συνδέει τις τιμές απορρόφησης με την συγκέντρωση στροντίου.

5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1.1). Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση στροντίου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης που λαμβάνεται για το διάλυμα δείγματος.

6. Υπολογισμός

Η περιεκτικότητα (% m/m) της χρωστικής ουσίας σε διαλυτό στρόντιο, υπολογίζεται με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ (m/m) διαλυτού στροντίου} = \frac{c \times V}{100W_{st} \times m}$$

όπου:

$m$  = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος (Α 5.1.1) που υποβάλλεται σε ανάλυση,

$c$  = συγκέντρωση στρόντιου στο διάλυμα δείγματος (5.1.1) σε  $\mu\text{g/ml}$ , που προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης,

$V$  = συνολικός όγκος του εκχυλίσματος σε  $\text{ml}$  (Α5.1.2) και

$WSr$  = όγκος του εκχυλίσματος σε  $\text{ml}$  που λαμβάνεται στο σημείο 5.1.1.

#### 7. Επαναληψιμότητα

Η καλύτερη επαναληψιμότητα (ISO 5725) για τη μέθοδο αυτή, είναι 0,09 % για περιεκτικότητα σε διαλυτό στρόντιο 0,6 % ( $\text{m/m}$ )

#### 8. Παρατηρήσεις

Η μέτρηση της εκπομπής με τη μέθοδο πλάσματος (inductively coupled plasma optical emission) μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν εναλλακτική τεχνική της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης.

### IV. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΒΕΝΖΥΛΙΚΗΣ ΑΛΚΟΟΛΗΣ ΣΤΑ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

#### A. Ανίχνευση

##### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή περιγράφει την ανίχνευση της βενζυλικής αλκοόλης στα καλλυντικά προϊόντα.

##### 2. Αρχή

Η βενζυλική αλκοόλη ανιχνεύεται με χρωματογραφία λεπτής στρώσης σε πλακέτες silica gel.

##### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας

##### 3.1. Βενζυλική αλκοόλη

- 3.2. Χλωροφόρμιο
- 3.3. Αιθανόλη (απόλυτη)
- 3.4. Κ-πεντάνιο
- 3.5. Διαλύτης ανάπτυξης: διαιθυλαιθέρας
- 3.6. Πρότυπο διάλυμα βενζυλικής αλκοόλης: ζυγίζονται 0,1 g βενζυλικής αλκοόλης (3.1) σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, συμπληρώνεται ο όγκος με αιθανόλη (3.3) και αναμειγνύεται.
- 3.7. Πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδος, γυαλί 100 mm x 200 mm ή 200 mm x 200 mm, επιστρωμένες με στοιβάδα 0,25mm κολλοειδούς πυριτίου silica gel 60 F254.
- 3.8. Μέσο εμφάνισης: 12μολυβδοφωσφορικό οξύ, 10 % (m/V) σε αιθανόλη (3.3).

#### 4. Εξοπλισμός

- 4.1. Συνθήκης εξοπλισμός για χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος.
- 4.2. Θάλαμος χρωματογραφίας, διπλού καψιδίου με διαστάσεις περίπου 80 mm x 230 mm x 240 mm
- 4.3. Χρωματογραφικό χαρτί: Whatman, ή αντίστοιχο
- 4.4. Λάμπα υπεριώδους, μήκους κύματος 254 nm.

#### 5. Τρόπος εργασίας

##### 5.1. Παρασκευή δείγματος

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml ζυγίζεται 1,0 g του προς ανάλυση προϊόντος. Προστίθενται 3 ml χλωροφόρμιο (3.2) και η φιάλη ανακινείται ζωηρά μέχρι την πλήρη διασπορά του προϊόντος. Συμπληρώνεται ο όγκος με αιθανόλη (3.3) και ανακινείται ζωηρά ώστε να δώσει ένα διαυγές, ή σχεδόν διαυγές, διάλυμα.

##### 5.2. Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδος

- 5.2.1. Ο θάλαμος χρωματογραφίας (4.2) κορένεται με κ-πεντάνιο (3.4) ως εξής: το τοίχωμα του θαλάμου που βρίσκεται δίπλα στο πίσω καψίδιο καλύπτεται με χρωματογραφικό χαρτί (4.3) έτσι ώστε το κάτω άκρο του χαρτιού να βρίσκεται μέσα στο καψίδιο. Μεταφέρονται 25 ml του κ-πεντάνιου (3.4) στο πίσω καψίδιο χύνοντας με ήπια ροή τον διαλύτη αυτόν επάνω στην εκτεθειμένη επιφάνεια του χρωματογραφικού χαρτιού.



Επανατοποθετείται αμέσως το κάλυμα και αφήνεται ο θάλαμος σε ηρεμία επί 15 λεπτά.

- 5.2.2. Σε κατάλληλα σημεία κατά μήκος της γραμμής εκκίνησης της πλάκας (3.7) εναποτίθενται 10 μl του δείγματος (5.1) και 10 μl του πρότυπου διαλύματος βενζυλικής αλκοόλης (3.6). Αφήνεται να στεγνώσει.
- 5.2.3. Μεταφέρονται με σιφώνιο 10 ml διαιθυλαιθέρα (3.5) στο μπροστινό καψίδιο του θαλάμου και αμέσως μετά τοποθετείται η πλάκα (5.2.2) στο ίδιο καψίδιο. Αμέσως, επανατοποθετείται το κάλυμμα του θαλάμου και η πλάκα αναπτύσσεται μέχρι ύψους 150 mm. Απομακρύνεται η πλάκα από το θάλαμο χρωματογραφίας και αφήνεται να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5.2.4. Παρατηρείται η πλάκα (5.2.3) σε υπεριώδες φως και σημειώνονται οι θέσεις των ιωδών κηλίδων. Η πλάκα ψεκάζεται με το αντιδραστήριο εμφάνισης (3.8) και στη συνέχεια θερμαίνεται στους 120 ° C επί 15 λεπτά περίπου. Η βενζυλική αλκοόλη εμφανίζεται ως σκούρα μπλε κηλίδα.
- 5.2.5. Υπολογίζεται η τιμή Rf που προκύπτει από το πρότυπο διάλυμα βενζυλικής αλκοόλης. Η σκούρα μπλε κηλίδα με την ίδια τιμή Rf που εμφανίζεται από το δείγμα υποδηλώνει την παρουσία βενζυλικής αλκοόλης σε αυτό.

Όριο ανίχνευσης: 0,1 μg βενζυλικής αλκοόλης.

B: Ποσοτικός προσδιορισμός

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος περιγράφει τον προσδιορισμό βενζυλικής αλκοόλης σε καλλυντικά προϊόντα.

2. Ορισμός

Η ποσότητα της βενζυλικής αλκοόλης που προσδιορίζεται με τη μέθοδο αυτή εκφράζεται ως ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα (m/m).

3. Αρχή

Το δείγμα εκχυλίζεται με μεθανόλη και η ποσότητα της βενζυλικής αλκοόλης στο εκχύλισμα προσδιορίζεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).

4. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και κατάλληλα για HPLC όπου χρειάζεται.

4.1. Μεθανόλη

- 4.2.4. 4-αιθοξυφαινόλη
- 4.3. Βενζυλική αλκοόλη
- 4.4. Κινητή φάση: μεθανόλη (4.1)/νερό (45: 55 v/v)
- 4.5. Μητρικό διάλυμα βενζυλικής αλκοόλης: ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,1 g βενζυλικής αλκοόλης (4.3) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.1) και αναμειγνύεται.
- 4.6. Μητρικό διάλυμα εσωτερικού προτύπου: ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,1 g 4-αιθοξυφαινόλης (4.2) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.1) και αναμειγνύεται.
- 4.7. Πρότυπα διαλύματα: σε μία σειρά ογκομετρικών φιαλών των 25 ml μεταφέρονται με σιφώνιο οι κατάλληλοι όγκοι μητρικού διαλύματος βενζυλικής αλκοόλης (4.5) και μητρικού διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.6) σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα. Συμπληρώνεται ο όγκος με μεθανόλη (4.1) και αναμειγνύεται.

Πρότυπο διάλυμα	Συγκέντρωση βενζυλικής αλκοόλης		Συγκέντρωση 4-αιθοξυφαινόλης	
	ml (4.5) που προστίθενται	mg/ml (*)	ml (4.6) που προστίθενται	mg/ml
I	0.5	20	2.0	80
II	1.0	40	2.0	80
III	2.0	80	2.0	80
IV	3.0	120	2.0	80
V	5.0	200	2.0	80

(\*) Οι τιμές αυτές δίνονται ενδεικτικά και αντιστοιχούν στις συγκεντρώσεις των προτύπων διαλυμάτων που παρασκευάζονται με διαλύματα βενζυλικής αλκοόλης (4.5) και 4-αιθοξυφαινόλης (4.6) και τα οποία περιέχουν ακριβώς 9.1% (m/v) βενζυλικής αλκοόλης και ακριβώς 9.1% (m/v) 4-αιθοξυφαινόλης αντίστοιχα

## 5. Εξοπλισμός

### 5.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

- 5.2. Συσκευή χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβλητού μήκους κύματος και με βρόγχο εισαγωγής δείγματος 10  $\mu$ l
- 5.3. Αναλυτική στήλη: στήλη από ανοξείδωτο χάλυβα 250 mm x 4,6 mm γεμισμένη με 5  $\mu$ m Spherisorb ODS, ή ισοδύναμο
- 5.4. Υδατόλουτρο
- 5.5. Λουτρό υπερήχων
- 5.6. Φυγόκεντρος
- 5.7. Φυγοκεντρικοί σωλήνες, χωρητικότητας 15 ml
- 6.1 Τρόπος εργασίας
  - 6.1. Παρασκευή δείγματος
    - 6.1.1. Σε φυγοκεντρικό σωλήνα (5.7) ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,1 g (m gram) δείγματος και προστίθενται 5 ml μεθανόλης (4.1).
    - 6.1.2. Ο σωλήνας θερμαίνεται επί 10 λεπτά σε υδατόλουτρο (5.4) που διατηρείται στους 50 °C και τοποθετείται μέσα σε λουτρό υπερήχων (5.5) μέχρι την πλήρη διασπορά του δείγματος.
    - 6.1.3. Ψύχεται, και στη συνέχεια υποβάλλεται σε φυγοκέντρηση σε 3 500 rpm επί 5 λεπτά
    - 6.1.4. Το υπερκείμενο υγρό μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 25 ml.
    - 6.1.5. Το δείγμα επανεκχυλίζεται με άλλα 5 ml μεθανόλης (4.1). Τα εκχυλίσματα συγκεντρώνονται στην ογκομετρική φιάλη των 25 ml.
    - 6.1.6. Μεταφέρονται με σιφόνιο 2,0 ml μητρικού διαλύματος εσωτερικού πρότυπου (4.6) στην ογκομετρική φιάλη των 25 ml. Ο όγκος συμπληρώνεται με μεθανόλη (4.1) και αναμειγνύεται. Το διάλυμα αυτό χρησιμοποιείται κατά το στάδιο του προσδιορισμού που περιγράφεται στο σημείο 6.4.
  - 6.2. Χρωματογραφία
    - 6.2.1. Η συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (5.2) συνδέεται κατά τον συνήθη τρόπο. Η ροή της κινητής φάσης (4.4) ρυθμίζεται σε 2.0 ml ανά λεπτό.
    - 6.2.2. Το μήκος κύματος του ανιχνευτή υπεριώδους (5.2) ρυθμίζεται στα 210 nm.

## 6.3. Βαθμονόμηση

6.3.1. Ενιένται 10 μl από κάθε πρότυπο διάλυμα βενζυλικής αλκοόλης (4.7) και μετρώνται τα εμβαδά των κορυφών της βενζυλικής αλκοόλης και της 4-αιθοξυφαινόλης.

6.3.2. Για κάθε συγκέντρωση προτύπου διαλύματος (4.7) υπολογίζεται η αναλογία των εμβαδών των κορυφών για τη βενζυλική αλκοόλη και την 4-αιθοξυφαινόλη. Χαράσσεται μια καμπύλη βαθμονόμησης τοποθετώντας αυτές τις αναλογίες στον άξονα των τεταγμένων και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις βενζυλικής αλκοόλης σε μg/ml στον άξονα των τετμημένων.

## 6.4. Προσδιορισμός

6.4.1. Ενιένται 10 μl του διαλύματος δείγματος (6.1.6) και μετρώνται τα εμβαδά των κορυφών της βενζυλικής αλκοόλης και της 4-αιθοξυφαινόλης. Υπολογίζεται η αναλογία των εμβαδών των κορυφών για τη βενζυλική αλκοόλη και την 4-αιθοξυφαινόλη. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται με ποσότητες 10 μl δείγματος μέχρι να ληφθούν σταθερά αποτελέσματα.

6.4.2. Από την καμπύλη βαθμονόμησης (6.3.2) διαβάζεται η συγκέντρωση βενζυλικής αλκοόλης που αντιστοιχεί στην αναλογία εμβαδών κορυφών βενζυλικής αλκοόλης προς 4-αιθοξυφαινόλης.

## 7. Υπολογισμός

Η περιεκτικότητα του δείγματος σε βενζυλική αλκοόλη ως ποσοστό επί τοις εκατό ανά μάζα υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% (m/m) \text{ βενζυλικής αλκοόλης} = \frac{c}{400 \times m}$$

όπου

m = μάζα σε g του δείγματος που λαμβάνεται για ανάλυση (6.1.1),

c = συγκέντρωση βενζυλικής αλκοόλης στο διάλυμα δείγματος (6.1.6) που προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης

## 8. Επαναληψιμότητα (4)

Για περιεκτικότητα σε βενζυλική αλκοόλη ίση με 1 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,10 %.

V. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΟΥ ΖΙΡΚΟΝΙΟΥ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΖΙΡΚΟΝΙΟΥ, ΤΟΥ ΑΛΟΥΜΙΝΙΟΥ ΚΑΙ ΤΟΥ ΧΛΩΡΙΟΥ ΣΤΑ ΜΗ ΑΕΡΟΖΟΛ ΑΠΟΣΜΗΤΙΚΑ

Η μέθοδος περιλαμβάνει πέντε στάδια:

A. Ανίχνευση του ζirkονίου

B. Ποσοτικός προσδιορισμός του ζirkονίου

Γ. Ποσοτικός προσδιορισμός του αλουμινίου

Δ. Ποσοτικός προσδιορισμός του χλωρίου

E. Υπολογισμός των λόγων των ατόμων αλουμινίου προς άτομα ζirkονίου, και των ατόμων αλουμινίου συν ζirkονίου προς τα άτομα χλωρίου

A. Ανίχνευση του ζirkονίου

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος περιγράφει την ανίχνευση του ζirkονίου στα μη αεροζόλ αποσμητικά. Δεν θίγεται το θέμα της περιγραφής μεθόδων κατάλληλων για την ανίχνευση του σύμπλοκου άλατος του βασικού χλωριούχου αλοουινίου-ζirkονίου  $[AlxZR(OH)yClz.nH_2O]$ .

2. Αρχή της μεθόδου

Το ζirkόνιο ανιχνεύεται με το χαρακτηριστικό, ερυθρό-ιώδες ίζημα που παράγεται με το ερυθρό της αλιζαρίνης S υπό πολύ όξινες συνθήκες.

3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

3.1. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ ( $d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$ )

3.2. Διάλυμα ερυθρού της αλιζαρίνης S (Cl. 58005): υδατικό διάλυμα του μετά νατρίου άλατος της σουλφονικής αλιζαρίνης 2 % (m/v).

4. Εξοπλισμός

4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

5. Τρόπος εργασίας

- 5.1. Σε δοκιμαστικό σωλήνα εισάγουμε 1 g δείγματος και 2 ml νερού. Πωματίζουμε και ανακινούμε.
  - 5.2. Προσθέτουμε 3 σταγόνες διαλύματος ερυθρού της αλιζαρίνης S (3.2) και κατόπιν 2 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (3.1). Πωματίζουμε και ανακινούμε.
  - 5.3. Αφήνουμε το διάλυμα να ηρεμήσει επί 2 λεπτά περίπου.
  - 5.4. Η παρουσία ζirkονίου καταδεικνύεται με την εμφάνιση ερυθροϊώδους υπερκειμένου υγρού και ιζήματος.
- B. Ποσοτικός προσδιορισμός ζirkονίου
1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής  

Η παρούσα μέθοδος είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό του ζirkονίου σε σύμπλοκα άλατα του βασικού χλωριούχου αλουμινίου-ζirkονίου, με μέγιστη συγκέντρωση ζirkονίου 7,5 % (m/m) σε μη αεροζόλ αποσμητικά.
  2. Αρχή της μεθόδου  

Το ζirkόνιο εκχυλίζεται από το προϊόν υπό όξινες συνθήκες και προσδιορίζεται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.
  3. Αντιδραστήρια  

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

    - 3.1. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ ( $d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$ )
    - 3.2. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 10 % (v/v): σε ποτήρι ζέσεως, που περιέχει 500 ml νερού προσθέτουμε 100 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (3.1) υπό συνεχή ανάδευση. Μεταφέρουμε αυτό το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη ενός λίτρου και συμπληρώνουμε με νερό.
    - 3.3. Μητρικό πρότυπο διάλυμα ζirkονίου. 1 000  $\mu\text{g/ml}$  σε διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 0,5 M (Spectrosol ή αντίστοιχο).
    - 3.4. Αντιδραστήριο ενύδρου χλωριούχου αλουμινίου [ $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ]: διαλύουμε 22,6 g εξαϋδρικού χλωριούχου αλουμινίου σε 250 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 10 % (v/v) (3.2).
    - 3.5. Αντιδραστήριο χλωριούχου αμμωνίου: διαλύουμε 5,0 g χλωριούχου αμμωνίου σε 250 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 10 % (v/v) (3.2).

4. Εξοπλισμός
- 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
- 4.2. Θερμαντήρας με μαγνητικό αναδευτήρα
- 4.3. Διηθητικό χαρτί (Whatman no 41 ή ισοδύναμο)
- 4.4. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εφοδιασμένο με λυχνία ζirkονίου κοίλης καθόδου

5. Τρόπος εργασίας

- 5.1. Προετοιμασία του δείγματος
- 5.1.1. Ζυγίζουμε επακριβώς περίπου 1,0 g (m gram) ομογενούς δείγματος του προϊόντος μέσα σε ποτήρι ζέσεως των 150 ml. Προσθέτουμε 40 ml νερού και 10 ml πυκνού οδροχλωρικού οξέος (3.1).
- 5.1.2. Τοποθετούμε το ποτήρι σε θερμαντήρα με μαγνητικό αναδευτήρα (4.2). Αναδεύουμε και θερμαίνουμε μέχρι βρασμού. Για να παρεμποδίσουμε τη γρήγορη ξήρανση τοποθετούμε ύαλο ωρολογίου πάνω στο ποτήρι. Βράζουμε επί 5 λεπτά, απομακρύνουμε το ποτήρι από το θερμαντήρα και ψύχουμε σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5.1.3. Χρησιμοποιώντας το διηθητικό χάρτι (4.3), διηθούμε το περιεχόμενο του ποτηριού ζέσεως σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Εκπλύνουμε το ποτήρι δύο φορές με 10 ml νερού και προσθέτουμε τα εκπλύματα στη φιάλη μετά από διήθηση. Συμπληρώνουμε με νερό και αναμειγνύουμε. Αυτό το διάλυμα χρησιμοποιείται επίσης για τον προσδιορισμό του αλουμινίου (μέρος Γ).
- 5.1.4. Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml μεταφέρουμε με σιφώνιο 20 ml του διαλύματος δείγματος (5.1.3), 5,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου αλουμινίου (3.4), και 5,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου αμμωνίου (3.5). Συμπληρώνουμε με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 10 % (v/v) (3.2) και αναμειγνύουμε.

- 5.2. Συνθήκες φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης

Φλόγα: πρωτοξειδίο του αζώτου/ακετυλένιο

Μήκος κύματος: 360,1 nm

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): όχι

Συνθήκες καυσίμου: υψηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη μέγιστης

απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

### 5.3. Βαθμονόμηση

- 5.3.1. Σε μια σειρά ογκομετρικών φιαλών των 50 ml μεταφέρουμε με σιφώνιο 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 και 25,00 ml του μητρικού πρότυπου διαλύματος ζirkονίου (3.3). Σε κάθε ογκομετρική φιάλη μεταφέρουμε με σιφώνιο 5,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου αλουμινίου (3.4) και 5,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου αμμωνίου (3.5). Συμπληρώνουμε μέχρι τη χαραγή με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 10 % (v/v) και αναμειγνύουμε. Τα διαλύματα αυτά περιέχουν 100, 200, 300, 400 και 500 μg ζirkονίου ανά χιλιοστόλιτρο (μg/ml) αντίστοιχα.

Ομοίως, παρασκευάζουμε τυφλό διάλυμα παραλείποντας το πρότυπο διάλυμα ζirkονίου.

- 5.3.2. Μετράται η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος (5.3.1) και η λαμβανόμενη τιμή χρησιμοποιείται ως απορρόφηση, που αντιστοιχεί σε μηδενική συγκέντρωση ζirkονίου, για την καμπύλη βαθμονόμησης. Μετράται η απορρόφηση κάθε πρότυπου διαλύματος του ζirkονίου (5.3.1). Χαράσσεται η καμπύλη βαθμονόμησης που συσχετίζει τις τιμές απορρόφησης με τις συγκεντρώσεις ζirkονίου.

### 5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1.4). Από την καμπύλη βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση του ζirkονίου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης του διαλύματος του δείγματος.

### 6. Υπολογισμός

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα ζirkονίου στο δείγμα σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα, με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% (m/m) \text{ ζirkονίου} = \frac{c}{40 \times m}$$

όπου:

m = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που υπεβλήθη σε ανάλυση (5.1.1)

και

c = συγκέντρωση του ζirkονίου στο διάλυμα δείγματος (5.1.4) σε μg/ml που προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης.

### 7. Επαναληψιμότητα (5)



Για περιεκτικότητα σε ζirkόνιο 3,00 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δυο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,10 % (m/m).

## 8. Παρατηρήσεις

Η χρήση φασματοφωτομετρίας οπτικής εκπομπής πλάσματος με επαγωγική σύζευξη (ICP) επιτρέπεται εναλλακτικά αντί της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης (φλόγας).

## Γ. Ποσοτικός προσδιορισμός του αλουμινίου

### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος είναι κατάλληλη για τον ποσοτικό προσδιορισμό του αλουμινίου σε σύμπλοκα άλατα του βασικού χλωριούχου αλουμινίου-ζirkονίου με μέγιστη συγκέντρωση αλουμινίου 12 % (m/m), σε μη αεροζόλ αποσμητικά.

### 2. Αρχή της μεθόδου

Το αλουμίνιο εκχυλίζεται από το προϊόν υπό όξινες συνθήκες και προσδιορίζεται με φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης.

### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας.

#### 3.1. Πυκνό υδροχλωρικό οξύ (d<sub>20</sub> = 1,18 g/ml)

3.2. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1 % (v/v): σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει 500ml, νερού προστίθενται 10 ml πυκνού υδροχλωρικού οξέος (3.1) υπό συνεχή ανάδευση. Μεταφέρουμε αυτό το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη του ενός λίτρου και συμπληρώνουμε με νερό.

3.3. Μητρικό πρότυπο διάλυμα αλουμινίου, 1 000 μg/ml σε διάλυμα νιτρικού οξέος 0.5 M (Spectrosol ή ισοδύναμο).

3.4. Αντιδραστήριο χλωριούχου καλίου: διαλύουμε 10,0 g χλωριούχου καλίου σε 250 ml διαλύματος υδροχλωρικού οξέος 1 % (v/v) (3.2).

### 4. Εξοπλισμός

#### 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

4.2. Φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης εφοδιασμένο με λυχνία ζirkόνιου κοίλης καθόδου

5. Τρόπος εργασίας

5.1. Προετοιμασία του δείγματος

Το διάλυμα που προετοιμάστηκε στο σημείο Β.5.1.3 χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε αλουμίνιο.

5.1.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml, μεταφέρονται με σιφώνιο 5,00 ml του διαλύματος δείγματος (Β.5.1.3) και 10,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου καλίου (3.4). Συμπληρώνουμε έως τη χαραγή με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1 % (v/v) (3.2) και αναμειγνύουμε.

5.2. Συνθήκες για την φασματοφωτομετρία ατομικής απορρόφησης

Φλόγα: Πρωτοξειδίο του αζώτου/ακετυλένιο

Μήκος κύματος: 309,3 nm

Υποβιβασμός στάθμης θορύβου (background correction): όχι

Συνθήκες καυσίμου: υψηλή περιεκτικότητα σε καύσιμο- για την επίτευξη της μέγιστης απορρόφησης είναι απαραίτητη η βελτιστοποίηση του ύψους του καυστήρα και των συνθηκών του καυσίμου.

5.3. Βαθμονόμηση

5.3.1. Σε μια σειρά ογκομετρικών φιαλών των 100 ml, μεταφέρονται με σιφώνιο 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 και 5,00 ml του μητρικού πρότυπου διαλύματος αλουμινίου (3.3). Σε κάθε ογκομετρική φιάλη μεταφέρονται με σιφώνιο 10,00 ml του αντιδραστηρίου χλωριούχου καλίου (3.4) συμπληρώνουμε έως τη χαραγή με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 1 % (v/v) (3.2) και αναμειγνύουμε. Αυτά τα διαλύματα περιέχουν 10, 20, 30, 40 και 50 μg αλουμινίου ανά χιλιοστόλιτρο (μg/ml).

Ομοίως, προετοιμάζουμε τυφλο διάλυμα παραλείποντας το πρότυπο διάλυμα αλουμινίου.

5.3.2. Μετράται η απορρόφηση του τυφλού διαλύματος (5.3.1) και η λαμβανόμενη τιμή χρησιμοποιείται ως απορρόφηση που αντιστοιχεί σε μηδενική συγκέντρωση αλουμινίου για την καμπύλη βαθμονόμησης. Μετράται η απορρόφηση κάθε πρότυπου διαλύματος αλουμινίου. Χωρίζεται η καμπύλη βαθμονόμησης που σχετίζει τις τιμές απορρόφησης με τις συγκεντρώσεις αλουμινίου.

5.4. Προσδιορισμός

Μετράται η απορρόφηση του διαλύματος δείγματος (5.1.1). Από την καμπύλη

βαθμονόμησης υπολογίζεται η συγκέντρωση του αλουμινίου που αντιστοιχεί στην τιμή απορρόφησης του διαλύματος δείγματος.

#### 6.1 Υπολογισμός

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα αλουμινίου στο δείγμα ως ποσοτικό επί τοις εκατό κατά μάζα με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ (m/m) αλουμινίου} = \frac{c}{5 \times m}$$

όπου:

$m$  = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που υποβλήθηκε σε ανάλυση (B.5.1.1)

και

$c$  = συγκέντρωση του αλουμινίου στο διάλυμα δείγματος (5.1.1) σε  $\mu\text{g/ml}$  που προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης.

#### 7. Επαναληψιμότητα (6)

Για περιεκτικότητα 3,5 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δυο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,10 % (m/m).

#### 8. Παρατηρήσεις

- 8.1. Η χρήση φασματοφωτομετρίας οπτικής εκπομπής πλάσματος με επαγωγική σύζευξη (ICP) επιτρέπεται εναλλακτικά αντί της φασματοφωτομετρίας ατομικής απορρόφησης (φλόγας).

#### Δ. Ποσοτικός προσδιορισμός του χλωρίου

##### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος είναι κατάλληλη για τον ποσοτικό προσδιορισμό του χλωρίου, που υπάρχει υπό μορφή ιόντος χλωρίου σε σύμπλοκα άλατα βασικού χλωριούχου αλουμινίου-ζirkονίου, σε μη αεροζόλ αποσμητικά.

##### 2. Αρχή της μεθόδου

Το ιόν χλωρίου στο προϊόν προσδιορίζεται με ποτενσιομετρική τιτλοδότηση με πρότυπο διάλυμα νιτρικού αργύρου.

### 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας

#### 3.1. Πυκνό νιτρικό οξύ ( $d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$ )

3.2. Διάλυμα νιτρικού οξέος 5 % (v/v): Σε ποτήρι ζέσεως που περιέχει 250 ml νερού προσθέτουμε 25 ml πυκνού νιτρικού οξέος (3.1) υπό συνεχή ανάδευση. Μεταφέρουμε αυτό το διάλυμα σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml και συμπληρώνουμε ως τη χαραγή με νερό.

#### 3.3. Ακετόνη

#### 3.4. Ογκομετρικό διάλυμα νιτρικού αργύρου 0,1 M (AnalaR ή ισοδύναμο)

### 4. Εξοπλισμός

#### 4.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

#### 4.2. Θερμαντήρας με μαγνητικό αναδευτήρα

#### 4.3. Ηλεκτρόδιο αργύρου

#### 4.4. Ηλεκτρόδιο αναφοράς καλομέλανος

#### 4.5. Πεχάμετρο/μιλλιβολτόμετρο κατάλληλο για ποτενσιομετρική τιτλοδότηση

### 5. Τρόπος εργασίας

#### 5.1. Προετοιμασία του δείγματος

5.1.1. Σε ποτήρι ζέσεως των 250 ml ζυγίζονται επακριβώς περίπου 1,0 g (m gram) ομογενούς δείγματος του προϊόντος. Προστίθενται 80 ml νερού και 20 ml διαλύματος νιτρικού οξέος 5 % (v/v) (3.2).

5.1.2. Τοποθετείται το ποτήρι ζέσεως σε θερμαντήρα με μαγνητικό αναδευτήρα (4.2). Αρχίζουμε την ανάδευση και θερμαίνουμε μέχρι βρασμού. Για να παρεμποδίσουμε τη γρήγορη ξήρανση, τοποθετούμε μια υαλο φρολογίου επάνω στο ποτήρι. Βράζουμε επί 5 λεπτά, απομακρύνουμε το ποτήρι από τον θερμαντήρα και ψύχουμε σε θερμοκρασία δωματίου.

5.1.3. Προστίθενται 10 ml ακετόνης (3.3). εμβραπτίζονται τα ηλεκτρόδια (4.3 και 4.4) στο διάλυμα και αρχίζει ανάδευση.

Τιτλοδοτούμε ποτενσιομετρικά με πρότυπο διάλυμα νιτρικού αργύρου 0,1 Μ (3.4) και χαράζουμε διαφορική καμπύλη για να προσδιορίσουμε το τελικό σημείο (V ml).

6. Υπολογισμός

Υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε χλώριο του δείγματος σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα με τη βοήθεια του τύπου:

$$\% \text{ (m/m) χλωρίου} = \frac{0,3545 \times V}{m}$$

σόπου:

m = η μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που υποβλήθηκε σε ανάλυση (5.1.1)

και

v = όγκος του νιτρικού αργύρου 0,1 Μ, σε ml που καταναλώθηκε μέχρι το τελικό σημείο της τιτλοδότησης (5.1.3).

7. Επαναληψιμότητα (7)

Για περιεκτικότητα σε χλώριο ίση με 4 % (m/m), διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που έχουν εκτελεστεί παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,10 % (m/m).

E. Υπολογισμός των λόγων των ατόμων αλουμινίου προς άτομα ζirkονίου, και των ατόμων αλουμινίου συν ζirkονίου προς τα άτομα χλωρίου

1. Υπολογισμός του λόγου των ατόμων αλουμινίου προς τα άτομα ζirkονίου

Υπολογίζεται ο λόγος Al: Zr με τη βοήθεια του τύπου:

$$\text{Λόγος Al/Zr} = \frac{\text{Al \% (m/m)} \times 91,22}{\text{Zr \% (m/m)} \times 26,98}$$

2. Υπολογισμός του λόγου των ατόμων αλουμινίου συν ζirkονίου προς τα άτομα χλωρίου

Υπολογίζεται ο λόγος (Al+Zr): Cl με τη βοήθεια του τύπου:

$$\frac{\frac{\text{Al \% (m/m)}}{26,98} + \frac{\text{Zr \% (m/m)}}{91,22}}{\frac{\text{Cl \% (m/m)}}{35,45}}$$

Λόγος (Al + Zr): Cl =

## VI. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΕΞΑΜΙΔΙΝΗΣ ΤΗΣ ΔΙΒΡΩΜΟΕΞΑΜΙΔΙΝΗΣ, ΤΗΣ ΔΙΒΡΩΜΟΠΡΟΠΑΜΙΔΙΝΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΧΛΩΡΟΕΞΙΔΙΝΗΣ

### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η παρούσα μέθοδος περιγράφει την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό:

-της εξαμιδίνης και των αλάτων της συμπεριλαμβανομένων του ισαιθειονικού και του 4-υδροξυβενζοϊκού,

-της διβρωμοεξαμιδίνης και των αλάτων της συμπεριλαμβανομένου του ισαιθειονικού,

-της διβρωμοπροπαμιδίνης και των αλάτων της συμπεριλαμβανομένου του ισαιθειονικού,

-της διοξικής, της διγλυκονικής και της διυδροχλωρικής χλωροεξιδίνης, στα καλλυντικά προϊόντα.

### 2. Ορισμός

Οι συγκεντρώσεις εξαμιδίνης, διβρωμοεξαμιδίνης, διβρωμοπροπαμιδίνης και χλωροεξιδίνης που υπολογίζονται με τη μέθοδο αυτή εκφράζονται ως ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα (% m/m).

### 3. Αρχή

Η ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός διενεργούνται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ανταλλαγής ιόντων σε ανεστραμμένη φάση, που ακολουθείται από φασματοφωτομετρική ανίχνευση σε υπεριώδες μήκος κύματος. Η εξαμιδίνη, η διβρωμοεξαμιδίνη, η διβρωμοπροπαμιδίνη και η χλωροεξιδίνη ανιχνεύονται με βάση τους χρόνους κατακράτησής τους στη χρωματογραφική στήλη.

### 4. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και κατάλληλα για την HPLC όπου απαιτείται.

#### 4.1. Μεθανόλη

#### 4.2. Μονοϋδρικό άλας νατρίου του 1-επτανοσουλφονικού οξέος

- 4.3. Οξικό οξύ, παγόμορφο ( $d_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$ )
- 4.4. Χλωριούχο νάτριο
- 4.5. Κινητές φάσεις
- 4.5.1. Διαλύτης I: μεθανολικό διάλυμα 0,005 M του μονοϋδρικού άλατος νατρίου του 1-επτανασουλφονικού οξέως (4.2) του οποίου το φαινόμενο pH έχει ρυθμιστεί σε 3,5 με παγόμορφο οξικό οξύ (4.3).
- 4.5.2. Διαλύτης II: υδατικό διάλυμα 0,005 M του μονοϋδρικού άλατος νατρίου του 1-επτανασουλφονικού οξέως (4.2) του οποίου το pH έχει ρυθμιστεί σε 3,5 παγόμορφο οξικό οξύ (4.3).

Σημείωση: Αν χρειάζεται να βελτιωθεί η μορφή των κορυφών, οι κινητές φάσεις μπορούν να τροποποιηθούν και να παρασκευαστούν ως εξής:

- Διαλύτης I: διαλύονται 5,84 g χλωριούχου νατρίου (4.4) και 1,1013 g μονοϋδρικού άλατος νατρίου του 1-επτανασουλφονικού οξέως (4.2) σε 100 ml νερού. Προστίθενται 900 ml μεθανόλης (4.1) και με τη βοήθεια παγόμορφου οξικού οξέως (4.3) ρυθμίζεται το φαινόμενο pH σε 3,5.

- Διαλύτης II: Διαλύονται 5,84 g χλωριούχου νατρίου (4.4) και 1,1013 g μονοϋδρικού άλατος νατρίου του 1-επτανασουλφονικού οξέως (4.2) σε 1 λίτρο νερού και με τη βοήθεια παγόμορφου οξικού οξέως (4.3) ρυθμίζεται το pH σε 3,5.

- 4.6. Δισαιθειονική εξαμιδίνη [C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>-2C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S]
- 4.7. Δισαιθειονική διβρωμοεξαμιδίνη [C<sub>20</sub>H<sub>24</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>-2C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S]
- 4.8. Δισαιθειονική διβρωμοπροπαμιδίνη [C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>Br<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>-2C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S]
- 4.9. Διοξική χλωροεξιδίνη [C<sub>22</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>-2C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>]
- 4.10. Διαλύματα αναφοράς: παρασκευάζονται διαλύματα 0,05 % (m/v) καθενός από τα τέσσερα συντηρητικά (4.5 έως 4.9) στο διαλύτη I (4.5.1).
- 4.11. 3,4,4-Τριχλωροκαρβανιδίλιο (τρικλοκαρβάνη)
- 4.12. 4,4-Διχλωρο-3-(τριφθορομέθυλο) καρβανιδίλιο (αλοκαρβάνη)
5. Εξοπλισμός
- 5.1. Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου

- 5.2. Συσκευή της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας μεταβλητού μήκους κύματος.
- 5.3. Αναλυτική στήλη: ανοξείδωτος χάλυβας, μήκος 30 cm, εσωτερική διάμετρος 4 mm, γεμισμένη με  $\mu$ -Bondapak C18, 10  $\mu$ m, ή ισοδύναμο.
- 5.4. Λουτρό υπερήχων
6. Ανίχνευση
- 6.1. Παρασκευή του δείγματος

Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml ζυγίζονται περίπου 0,5 g του δείγματος και συμπληρώνεται ο όγκος με το διαλύτη I (4.5.1). Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται επί 10 λεπτά σε λουτρό υπερήχων (5.4) και ακολουθεί διήθηση ή φυγοκέντρηση. Το διήθημα ή το υπερκείμενο υγρό συλλέγεται προκειμένου να χρησιμοποιηθεί στην χρωματογραφία.

- 6.2. Χρωματογραφία
- 6.2.1. Διαβάθμιση της κινητής φάσης

Χρόνος	Διαλύτης I (% v/v) (4.5.1)	Διαλύτης II (% v/v ) 4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

- 6.2.2. Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης (δ 2 1) ρυθμίζεται σε 1 5 ml/min και η θερμοκρασία στήλης στους 35 °C
- 6.2.3. Ο ανιχνευτής ρυθμίζεται στα 264 nm
- 6.2.4. Εισάγονται με ένεση 10  $\mu$ l από κάθε διάλυμα αναφοράς (4 10) και καταγράφονται τα χρωματογραφήματά τους.



- 6.2.5. Εισάγονται με ένεση 10 μl του διαλύματος δείγματος (6.1.) και καταγράφεται το χρωματογράφημά του.
- 6.3. Ανιχνεύεται η παρουσία εξαιμιδίνης, διβρωμοεξαμιδίνης, διβρωμοπροπαμιδίνης και χλωροεξιδίνης συγκρίνοντας τους χρόνους κατακράτησης των κορυφών που καταγράφηκαν στο σημείο 6.2.5 με εκείνους που ελήφθησαν από τα διαλύματα αναφοράς στο σημείο 6.2.4.

7. Ποσοτικός προσδιορισμός

7.1. Παρασκευή των προτύπων διαλυμάτων

Ένα από τα συντηρητικά (4.6 έως 4.9) που δεν απαντάται στο δείγμα χρησιμοποιείται ως εσωτερικό πρότυπο. Αν αυτό δεν είναι δυνατό, μπορεί να χρησιμοποιηθεί τρικλοκαρβάνη (4.11) ή αλοκαρβάνη (4.12).

- 7.1.1. Μητρικό διάλυμα 0.05 % (m/v) του συντηρητικού που ανιχνεύτηκε στο σημείο 6.3 στο διαλύτη I (4.5.1).
- 7.1.2. Μητρικό διάλυμα 0.05 % (m/v) του συντηρητικού που επιλέχτηκε ως εσωτερικό πρότυπο στο διαλύτη I (4.5.1).
- 7.1.3. Για κάθε συντηρητικό που ανιχνεύτηκε παρασκευάζονται τέσσερα πρότυπα διαλύματα μεταφέροντας σε μια σειρά ογκομετρικών φιαλών των 10 ml ποσότητες του μητρικού διαλύματος του συντηρητικού που ανιχνεύτηκε (7.1.1) και κατάλληλες ποσότητες του μητρικού διαλύματος του εσωτερικού προτύπου (7.1.2) σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα. Συμπληρώνεται ο όγκος κάθε φιάλης με το διαλύτη I (4.5.1) και ανσμειγνύεται.

Πρότυπο διάλυμα	Μητρικό διάλυμα του εσωτερικού προτύπου		Μητρικό διάλυμα του συντηρητικού που ανιχνεύτηκε
	Προσπθέμενα ml (7.1.2)	Προσπθέμενα ml (7.1.1)	(mg/ml)*
I	1.0	0.5	25
II	1.0	1.0	50
III	1.0	1.5	75
IV	1.0	2.0	100

\* Οι τιμές αυτές δίνονται ενδεικτικά και αντιστοιχούν στις συγκεντρώσεις του συντηρητικού που ανιχνεύτηκε στα πρότυπα διαλύματα που παρασκευάστηκαν με μητρικού έδαψματος περιεκτικότητας ακριβώς 0.05% σε συντηρητικό που ανιχνεύτηκε

- 7.2.1. Σε ογκομετρική φιάλη των 10 ml ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,5 (p gram) δείγματος, προστίθεται 1,0 ml του εσωτερικού πρότυπου διαλύματος (7.1.2) και 6 ml διαλύτη I (4.5.1) και αναμειγνύονται.
- 7.2.2. Η ογκομετρική φιάλη τοποθετείται επί 10 λεπτά σε λουτρό υπερήχων (5.4). Μετά από ψύξη, συμπληρώνεται ο όγκος με διαλύτη και αναμειγνύεται. Ακολουθεί φυγοκέντρηση ή διήθηση με πτυχωτό ηθμό. Συλλέγεται το υπερκείμενο υγρό ή το διήθημα, ανάλογα με την περίπτωση, για τη χρωματογραφική ανάλυση.
- 7.3. Χρωματογραφία
- 7.3.1. Η διαβάθμιση της κινητής φάσης, η ταχύτητα ροής της, η θερμοκρασία της στήλης και το μήκος κύματος του ανιχνευτή της συσκευής HPLC (5.2) ρυθμίζονται στις συνθήκες που απαιτούνται κατά το στάδιο της ανίχνευσης (6.2.1 ως 6.2.3).
- 7.3.2. Εισάγονται με ένεση 10 ml του διαλύματος δείγματος (7.2.2) και μετρίεται το εμβαδόν των κορυφών. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με άλλα 10 ml του διαλύματος δείγματος μέχρι να ληφθούν σταθερά αποτελέσματα. Υπολογίζεται και ο λόγος των εμβαδών μεταξύ της κορυφής της προσδιοριζόμενης ένωσης και της κορυφής του εσωτερικού πρότυπου.
- 7.4. Βαθμονόμηση
- 7.4.1. Εισάγονται με ένεση 10 ml από κάθε πρότυπο διάλυμα (7.1.3) και μετριοούνται τα εμβαδά των κορυφών.
- 7.4.2. Για κάθε πρότυπο διάλυμα (7.1.3), υπολογίζεται ο λόγος των εμβαδών μεταξύ της κορυφής της εξαμιδίνης ή της διβρωμοεξαμιδίνης ή της διβρωμοπροπαμιδίνης ή της χλωροεξιδίνης και της κορυφής του εσωτερικού πρότυπου. Χαράσσεται μια καμπύλη βαθμονόμησης τοποθετώντας τους λόγους των εμβαδών στον άξονα των τεταγμένων και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις του συντηρητικού που ανιχνεύτηκε στα πρότυπα διαλύματα, σε μικρογραμμάρια ανά ml, στον άξονα των τετμημένων.
- 7.4.3. Από την καμπύλη βαθμονόμησης (7.4.2) βρίσκεται η συγκέντρωση του ανιχνευθέντος συντηρητικού η οποία αντιστοιχεί στο λόγο των εμβαδών των κορυφών που υπολογίστηκε στο σημείο 7.3.2.
8. Υπολογισμός
- 8.1. Υπολογίζεται η περιεκτικότητα σε εξαμιδίνη, διβρωμοεξαμιδίνη, διβρωμοπροπαμιδίνη ή χλωροεξιδίνη του δείγματος, ως ποσοστό μάζας, με τη βοήθεια του τύπου

$$\% (m/m) = \frac{c}{1000 \times \rho} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

όπου:

$\rho$  = μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που λαμβάνεται για ανάλυση (7.2.1).

$c$  = συγκέντρωση, του συντηρητικού στο διάλυμα δείγματος, σε μικρογραμμάρια ανά ml, η οποία προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης.

$MW_1$  = μοριακό βάρος της βασικής μορφής του υπάρχοντος συντηρητικού,

$MW_2$  = μοριακό βάρος του αντίστοιχου άλατος (βλέπε σημείο 10)

#### 9. Επαναληψιμότητα (8)

Για περιεκτικότητα εξαμιδίνης, διβρωμοεξαμιδίνης, διβρωμοπροπαμιδίνης ή χλωροεξιδίνης ίση με 0,1 % (m/m), η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,005 %.

#### 10. Πίνακας μοριακών βαρών

Εξαμιδίνη $C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Δισαιθειονική εξαμιδίνη $C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_5O_2S$	606,72
Δι-π-υδροξυβενζοϊκή εξαμιδίνη $C^{13}H_{22}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Διβρωμοεξαμιδίνη $C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Δισαιθειονική διβρωμοεξαμιδίνη $C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_5O_2S$	764,51
Διβρωμοπροπαμιδίνη $C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Δισαιθειονική διβρωμοπροπαμιδίνη $C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_5O_2S$	722,43
Χλωροεξιδίνη $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O$	505,45
Διοξική χλωροεξιδίνη $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_5O_2$	625,56
Διγλουκονική χλωροεξιδίνη $C_{22}H_{32}Cl_2N_4O_7 \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Διυδροχλωρική χλωροεξιδίνη $C_{22}H_{32}Cl_2N_4O_7 \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725

(2) ISO 5725

(3) "Magnesium as modifier for the determination of calcium by flame atomic emission spectrometry".

Jerrow, M. et al - Analytical Proceedings 1997 23-30

(4) ISO 5725

(5) ISO 5725

(6) ISO 5725

(7) ISO 5725

(8) ISO 5725

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VI

(Κανονισμός 3)

**I. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΤΟΥ 4-ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΤΟΥ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΤΑ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ**

## 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος εφαρμόζεται για τον ποιοτικό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των οξέων: βενζοϊκού, 4-υδροξυβενζοϊκού, σορβικού, σαλικυλικού και προπιονικού στα καλλυντικά. Ο ποιοτικός προσδιορισμός αυτών των συντηρητικών, ο ποσοτικός προσδιορισμός του 4-υδροξυβενζοϊκού οξέος, του σαλικυλικού οξέος, του σορβικού οξέος και του βενζοϊκού οξέος και ο ποσοτικός προσδιορισμός του προπιονικού οξέος περιγράφονται σε χωριστά κεφάλαια.

## 2. Ορισμός

Η περιεκτικότητα σε βενζοϊκό οξύ, 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, σαλικυλικό οξύ, σορβικό οξύ και προπιονικό οξύ όπως προσδιορίζεται με την παρούσα μέθοδο, εκφράζεται σε ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα ελευθέρων οξέων.

## A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. Αρχή της μεθόδου

Ύστερα από εκχύλιση των συντηρητικών σε όξινο/αλκαλικό περιβάλλον, το εκχύλισμα υποβάλλεται σε ανάλυση με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC) με χρησιμοποίηση σχηματισμού παραγώγων επί της πλάκας. Ανάλογα με τα αποτελέσματα, ο ποιοτικός προσδιορισμός επιβεβαιώνεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) ή αέριο χρωματογραφία (GC) στην περίπτωση του προπιονικού οξέος.

## 2. Αντιδραστήρια

## 2.1. Γενικά

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό να είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης τουλάχιστον καθαρότητας.

## 2.2. Ακετόνη

## 2.3. Διαιθυλαιθέρας

- 2.4. Ακετονιτρίλιο
- 2.5. Τολουόλιο
- 2.6. n-Εξάνιο
- 2.7. Υγρή παραφίνη
- 2.8. Υδροχλωρικό οξύ 4M
- 2.9. Υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 4M
- 2.10. Χλωριούχο ασβέστιο,  $\text{CaCl}_2 \cdot 72\text{H}_2\text{O}$
- 2.11. Ανθρακικό λίθιο,  $\text{Li}_2\text{CO}_3$
- 2.12. 2-Βρωμο-2'-ακετοναφθόνη
- 2.13. 4-Υδροξυβενζοϊκό οξύ
- 2.14. Σαλικυλικό οξύ
- 2.15. Βενζοϊκό οξύ
- 2.16. Σορβικό οξύ
- 2.17. Προπιονικό οξύ
- 2.18. Διαλύματα αναφοράς

Παρασκευάζονται διαλύματα συγκέντρωσης 0.1 % (m/v) (100 mg/100 ml) από καθένα από τα τέσσερα συντηρητικά (2.13 έως 2.17) σε διαιθυλαίθερα.

- 2.19. Αντιδραστήριο σχηματισμού παρανώνων

Διάλυμα 50 mg 2-βρωμο-2-ακετοναφθόνης (2.12) σε 10 ml ακετονιτρίλιου (2.4). Το διάλυμα αυτό πρέπει να παρασκευάζεται κάθε εβδομάδα και να φυλάσσεται στο ψυγείο.

- 2.20. Διάλυμα καταλύτη

Διάλυμα ανθρακικού λιθίου (2.11), συγκέντρωσης 0.3 % (m/v) (300 mg/100 ml), σε νερό. Το διάλυμα πρέπει να είναι πρόσφατα παρασκευασμένο.

- 2.21. Διαλύτης αναπτύξεως
  - Τολουόλιο (2.5)/Ακετόνη (2.2) (20: 0.5, n/n)
- 2.22. Παραφίνη (2.7)/n - Εξάνιο (2.6) (1: 2, n/n)
- 3. Εξοπλισμός
  - Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός
  - 3.1. Υδατόλουτρο θερμορυθμιζόμενο στους 60 °C
  - 3.2. Θάλαμος αναπτύξεως
  - 3.3. Πηγή υπεριώδους φωτός μήκους κύματος 254 και 366 nm
  - 3.4. Πλάκες λεπτής στοιβάδας Kieselgel 60, χωρίς δείκτη φθορισμού, διαστάσεων 20 cm X 20 cm, πάχους στοιβάδας 0,25 mm, με συμπηκνωμένη ζώνη 2,5 X 20 cm (Merck 11845 ή ανάλογες)
  - 3.5. Μικροσύριγγα των 10  $\mu$ l
  - 3.6. Μικροσύριγγα των 25  $\mu$ l
  - 3.7. Πυριαντήριο με θερμοστάτη για θερμοκρασίες μέχρι 105 °C
  - 3.8. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 50 ml με βιδωτό πώμα
  - 3.9. Διηθητικό χαρτί Schleicher & Schull, Weissband αριθ. 5892 ή ανάλογο, διαμέτρου 90 mm
  - 3.10. Πεχαμετρικό χαρτί Universal, pH 1-11
  - 3.11. Γυάλινα φιαλίδια δειγμάτων των 5 ml
  - 3.12. Περιστρεφόμενος εξατμιστής (Rotavapor ή ανάλογος)
  - 3.13. Θερμαντική πλάκα
- 4. Διαδικασία
  - 4.1. Προπαρασκευή του δείγματος

Σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα των 50 ml με βιδωτό πώμα (3.8), ζυγίζεται περίπου 1 g δείγματος, προστίθενται τέσσερις σταγόνες υδροχλωρικού οξέος 4M (2.8) και 40 ml ακετόνης (2.2). Προκειμένου για ισχυρώς αλκαλικά προϊόντα, όπως το σαπούνι τουαλέτας, πρέπει να προστεθούν 20 σταγόνες υδροχλωρικού οξέος 4M (2.8). Ελέγχεται το pH ώστε να είναι περίπου 2 με πεχαμετρικό χαρτί (3.10). Ο σωλήνας πωματίζεται και ανακινείται ζωηρά ένα λεπτό.

Αν είναι αναγκαίο, για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των συντηρητικών στην ακετονική φάση, το μέγμα θερμαίνεται ήπια μέχρι τους 60 °C περίπου, ώστε να τσακί η λιπαρή φάση.

Το διάλυμα ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου και διηθείται με χάρτινο ηθμό (3.9) σε κωνική φιάλη.

Σε κωνική φιάλη των 200 ml μεταγγίζονται 20 ml του διηθήματος, προστίθενται 20 ml νερού και το σύνολο αναμειγνύεται. Ρυθμίζεται το pH του μείγματος στην τιμή περίπου 10 με διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 4M (2.9). Για τη μέτρηση του pH χρησιμοποιείται πεχαμετρικό χαρτί (3.10).

Προστίθεται κατόπιν 1 g χλωριούχου ασβεστίου (2.10) και το σύνολο ανακινείται ζωηρά. Ακολουθεί διήθηση με χάρτινο ηθμό (3.9) σε διαχωριστική χοάνη των 250 ml, που ήδη περιέχει 75 ml διαιθυλαιθέρα (2.3). Η χοάνη ανακινείται ζωηρά επί ένα λεπτό και έπειτα αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες. Η υδατική στοιβάδα μεταγγίζεται σε κωνική φιάλη των 250 ml ενώ η αιθερική απορρίπτεται. Με τη βοήθεια πεχαμετρικού χαρτιού (3.10), ρυθμίζεται το pH του υδατικού διαλύματος στην τιμή περίπου 2 με υδροχλωρικό οξύ 4M (2.8). Στη συνέχεια προστίθενται 10 ml διαιθυλαιθέρα (2.3) πωματίζεται η φιάλη και ανακινείται ζωηρά επί ένα λεπτό. Αφήνεται σε ηρεμία για να διαχωριστούν οι στοιβάδες και η αιθερική στοιβάδα μεταγγίζεται σε περιστρεφόμενο εξατμιστή (3.12). Η υδατική στοιβάδα απορρίπτεται.

Η αιθερική στοιβάδα εξατμίζεται και το υπόλειμμα διαλύεται σε 1 ml διαιθυλαιθέρα (2.3). Το λαμβανόμενο διάλυμα μεταγγίζεται σε φιαλίδιο δειγμάτων (3.11).

#### 4.2. Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

Για κάθε διάλυμα αναφοράς και διάλυμα δείγματος που πρόκειται να υποβληθεί σε χρωματογραφία, τοποθετούνται με σύριγγα (3.5) περίπου 3-7  $\mu$ l διαλύματος ανθρακικού λιθίου (2.20) σε ισαπέχοντα σημεία της γραμμής εκκινήσεως στη συμπηκνωμένη ζώνη μιας πλάκας TLC (3.4). Η πλάκα ζηραίνεται σε ρεύμα ψυχρού αέρα.

Η πλάκα TLC τοποθετείται σε θερμαντική πλάκα (3.13) που έχει θερμανθεί στους 40 °C, ώστε οι κηλίδες να παραμείνουν όσο το δυνατόν μικρότερες. Με τη βοήθεια μικροσύριγγας (3.5), τοποθετούνται 10  $\mu$ l από κάθε διάλυμα αναφοράς (2.18) και διάλυμα δείγματος (4.1) στη γραμμή εκκινήσεως στην πλάκα, ακριβώς στα σημεία όπου έχει τοποθετηθεί το διάλυμα του ανθρακικού λιθίου.

Τέλος τοποθετούνται στην πλάκα περίπου 15  $\mu$ l αντιδραστηρίου σχηματισμού παραγώγων (2.19) (διάλυμα 2-βρωμο-2-ακετοναφθόνης), και πάλι ακριβώς πάνω στις ίδιες κηλίδες που έχουν τοποθετηθεί τα διαλύματα αναφοράς/δείγματος και το διάλυμα ανθρακικού λιθίου.

Η πλάκα TLC θερμαίνεται σε πυριαντήριο (3.7) στους 80 °C για 45 λεπτά. Αφού ψυχθεί, η πλάκα, τοποθετείται για ανάπτυξη του χρωματογραφήματος σε θάλαμο ανάπτυξης (3.2) που έχει αφεθεί σε ηρεμία για 15 λεπτά (στον οποίο δεν έχει τοποθετηθεί εσωτερικά διηθητικό χαρτί), με το διαλύτη ανάπτυξης (2.21) (τολουόλιο/ακετόνη), μέχρι το μέτωπο του διαλύτη να διανύσει απόσταση 15 cm (απαιτούμενος χρόνος περίπου 80 λεπτά).

Η πλάκα ξηραίνεται σε ψυχρό ρεύμα αέρα και έπειτα γίνεται η εμφάνιση των κηλίδων σε λάμπα υπεριώδους φωτός (3.3). Για να ενταθεί ο φθορισμός των ασθενών κηλίδων, η πλάκα TLC μπορεί να εμβαπτισθεί σε μείγμα παραφίνης/n-εξανίου (2.22).

#### 5. Ποιοτικός προσδιορισμός

Για κάθε κηλίδα υπολογίζεται η τιμή του συντελεστή R<sub>f</sub>.

Οι τιμές R<sub>f</sub> και η συμπεριφορά του δείγματος στην υπεριώδη ακτινοβολία συγκρίνονται με τα αντίστοιχα δεδομένα για τα διαλύματα αναφοράς. Μπορούμε να συναγάγουμε προκαταρκτικά συμπεράσματα για την παρουσία και την ταυτότητα των συντηρητικών που υπάρχουν. Εκτελούμε την HPLC που περιγράφεται στο κεφάλαιο Β, ή όταν φαίνεται ότι υπάρχει προπιονικό οξύ, την GC που περιγράφεται στο κεφάλαιο Γ. Συγκρίνουμε τους χρόνους κατακράτησης που προκύπτουν για το δείγμα με τους αντίστοιχους χρόνους των διαλυμάτων αναφοράς.

Ο τελικός ποιοτικός προσδιορισμός των συντηρητικών που περιέχει το δείγμα επιτυγχάνεται με συνδυασμό των αποτελεσμάτων από την TLC και την HPLC ή GC.

### Β. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΤΟΥ 4-ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΟΞΕΟΣ, ΤΟΥ ΣΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΣΑΛΙΚΥΛΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

#### 1. Αρχή της μεθόδου

Το δείγμα, αφού οξινισθεί, εκχυλίζεται με μείγμα αιθανόλης και νερού. Μετά από διήθηση, τα συντηρητικά προσδιορίζονται ποσοτικά με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης.

#### 2. Αντιδραστήρια

- 2.1. Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης τουλάχιστον καθαρότητας.
- 2.2. Απόλυτη αιθανόλη
- 2.3. 4-Υδροξυ-βενζοϊκό οξύ



- 2.4. Σαλικυλικό οξύ
- 2.5. Βενζοϊκό οξύ
- 2.6. Σορβικό οξύ
- 2.7. Οξικό νάτριο με 3 μόρια  $H_2O$  ( $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ )
- 2.8. Οξικό οξύ,  $d^{20}_4 = 1,05$  g/ml
- 2.9. Ακετονιτρίλιο
- 2.10. Θεικό οξύ 2M
- 2.11. Υδατικό διάλυμα υδροξειδίου του καλίου 0.2M
- 2.12. 2-Μεθοξυ-βενζοϊκό οξύ
- 2.13. Μείγμα αιθανόλης/νερού: 9 όγκοι αιθανόλης (2.2) αναμεγνύονται με 1 όγκο νερού (2.1)
- 2.14. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου
- Παρασκευάζεται διάλυμα περιεκτικότητας περίπου 1 g 2-μεθοξυ-βενζοϊκού οξέος (2.12) ανά 500 ml μείγματος αιθανόλης/νερού (2.13).
- 2.15. Κινητή φάση για την HPLC
- 2.15.1. Ρυθμιστικό διάλυμα: σε 1 λίτρο νερού προστίθενται 6,35 g οξικού νατρίου (2.7) και 20,0 ml οξικού οξέος (2.8) και αναμειγνύονται.
- 2.15.2. Η κινητή φάση παρασκευάζεται με ανάμειξη 9 όγκων οξικού ρυθμιστικού διαλύματος (2.15.1) και 1 όγκου ακετονιτρίλιου (2.9)
- 2.16. Μητρικό διάλυμα συντηρητικών
- Σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,05 g 1-υδροξυβενζοϊκού οξέος (2.3), 0,2 g σαλικυλικού οξέος (2.4), 0,2 g βενζοϊκού οξέος (2.5) και 0,05 g σορβικού οξέος (2.6) και ο όγκος συμπληρώνεται έως τη χαραγή με μείγμα αιθανόλης/νερού (2.13). Το διάλυμα φυλάσσεται στο ψυγείο και είναι σταθερό μια εβδομάδα.
- 2.17. Πρότυπα διαλύματα συντηρητικών

Από το μητρικό διάλυμα (2.16) λαμβάνονται ποσότητες 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 και 0,50

ml και φέρονται σε ισάριθμες ογκομετρικές φιάλες των 20 ml. Προστίθενται 10,00 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (2.14), 0,5 ml θειικού οξέος 2M (2.10) και ο όγκος συμπληρώνεται έως τη χαραγή με μείγμα αιθανόλης/νερού (2.13). Τα διαλύματα αυτά πρέπει να έχουν παρασκευαστεί πρόσφατα.

### 3. Εξοπλισμός

Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός εκτός εάν καθορίζεται διαφορετικά και:

3.1. Υδατόλουτρο ρυθμισμένο στους 60 °C

3.2. Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους φωτός μεταβλητού μήκους κύματος και βρόχο έγχυσης 10 l

3.3. Στήλη:

από ανοξειδωτο χάλυβα, μήκους 12,5-25 cm, εσωτερικής διαμέτρου 4,6 mm, που έχει πληρωθεί με Nucleosil 5C18 ή ανάλογο προσροφητικό υλικό.

3.4. Διηθητικό χαρτί Schleicher και Schull, Weissband αριθ. 5892 ή ανάλογο, διαμέτρου 90 mm

3.5. Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες των 50 ml με βιδωτό πώμα

3.6. Γυάλινα φιαλίδια δειγμάτων των 5 ml

3.7. Σφαιρίδια βρασμού από ανθρακοπυρίτιο, διαμέτρου 2-4 mm ή ανάλογα.

### 4. Διαδικασία

4.1. Προπαρασκευή του δείγματος

4.1.1. Προπαρασκευή δείγματος χωρίς εσωτερικό πρότυπο

Σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα των 50 ml με βιδωτό πώμα (3.5) ζυγίζεται 1 g δείγματος. Στο σωλήνα φέρονται με σιφώνιο 1,00 ml θειικού οξέος 2M (2.10) και 40,0 ml μείγματος αιθανόλης/νερού (2.13). Προστίθενται περίπου 1 g σφαιρίδια βρασμού (3.7) ο σωλήνας πωματίζεται και ανακινείται (ωηρό επί ένα λεπτό τουλάχιστον, μέχρι να ληφθεί ομοιογενές εναιώρημα. Ο σωλήνας τοποθετείται για 5 λεπτά ακριβώς σε υδατόλουτρο (3.1) του οποίου η θερμοκρασία έχει ρυθμιστεί στους 60 °C, για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των συντηρητικών στην αιθανολική φάση.

Ο σωλήνας ψύχεται αμέσως με τρεχούμενο κρύο νερό και το εκχύλισμα αφήνεται σε ηρεμία στους 5 °C για μία ώρα.

Ακολουθεί διήθηση του εκχυλίσματος με διηθητικό χαρτί (3.3). Περίπου 2 ml του

εκχυλίσματος μεταγγίζονται σε φιαλίδιο δειγμάτων (3.6). Το εκχύλισμα φυλάσσεται στους 5 °C και ο ποσοτικός προσδιορισμός με HPLC εκτελείται μέσα σε 24 ώρες μετά την παρασκευή του.

#### 4.1.2. Προπαρασκευή του δείγματος με εσωτερικό πρότυπο

Σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα των 50 ml με βιδωτό πώμα (3.5), ζυγίζονται με ακρίβεια 3 δεκαδικών ψηφίων  $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  (Α γραμμάρια) δείγματος. Στο σωλήνα προστίθενται με σιφώνιο 1,00 ml του θειικού οξέος 2M (2.10) και 30,0 ml μείγματος αιθανόλης/νερού (2.13). Προστίθενται περίπου 1 g σφαιρίδια βρασμού(3.7) και 10,00 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (2.14). Ο σωλήνας πωματίζεται και ανακινείται ζωηρά ένα λεπτό τουλάχιστον μέχρι να ληφθεί ομοιογενές εναιώρημα. Ο σωλήνας τοποθετείται για 5 λεπτά ακριβώς σε υδατόλουτρο (3.1) του οποίου η θερμοκρασία έχει ρυθμιστεί στους 60 °C, για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των συντηρητικών στην αιθανολική φάση.

Ο σωλήνας ψύχεται αμέσως με τρεχούμενο κρύο νερό και το εκχύλισμα αφήνεται σε ηρεμία στους 5 °C για μία ώρα.

Ακολουθεί διήθηση του εκχυλίσματος με διηθητικό χαρτί (3.4). Περίπου 2 ml του διηθήματος μεταγγίζονται σε φιαλίδιο δειγμάτων (3.6). Το εκχύλισμα φυλάσσεται στους 5 °C και ο ποσοτικός προσδιορισμός με HPLC εκτελείται μέσα σε 24 ώρες από την παρασκευή του.

#### 4.2. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

Κινητή φάση: ακετονιτρίλιο/ρυθμιστικό διάλυμα οξικών ιόντων (2.15).  
Η ταχύτητα ροής της κινούμενης φάσης μέσω της στήλης ρυθμίζεται στα 2,0 ml/λεπτό  $\pm 0,5 \text{ ml/λεπτό}$  και το μήκος κύματος του ανιχνευτή ρυθμίζεται στα 240 nm.

##### 4.2.1. Βαθμονόμηση

Εισάγονται στον υγρό χρωματογράφο (3.2) 10 l από κάθε πρότυπο διάλυμα συντηρητικών (2.17). Από τα λαμβανόμενα χρωματογραφήματα προσδιορίζονται οι λόγοι των υψών των κορυφών που αντιστοιχούν στα υπό ανάλυση συντηρητικά προς το ύψος της κορυφής που αντιστοιχεί στο εσωτερικό πρότυπο. Για κάθε συντηρητικό σχεδιάζεται καμπύλη που παριστά τους λόγους αυτούς συναρτήσει της συγκεντρώσεως κάθε προτύπου διαλύματος.

Εξακριβώνεται ότι κατά τη διαδικασία αυτή η σχέση που λαμβάνεται για τα πρότυπα διαλύματα είναι γραμμική.

##### 4.2.2. Προσδιορισμός

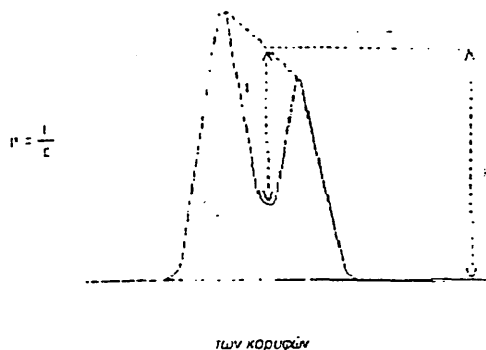
Εισάγονται στον υγρό χρωματογράφο (3.2) 10 l από το εκχύλισμα του δείγματος (4.1.1) και καταγράφεται το χρωματογράφημα. Εισάγονται 10 l προτύπου διαλύματος συντηρητικών (2.17) και καταγράφεται το χρωματογράφημα. Τα δύο χρωματογραφήματα συγκρίνονται. Αν στο χρωματογράφημα του εκχυλίσματος (4.1.1) δεν εμφανίζεται κορυφή με τον ίδιο περίπου χρόνο κατακράτησης που αντιστοιχεί στο 2-μεθοξυ-βενζοϊκό οξύ (το συνιστώμενο εσωτερικό πρότυπο) εισάγονται στον υγρό χρωματογράφο 10 l από το εκχύλισμα του δείγματος, στο

οποίο έχει προστεθεί εσωτερικό πρότυπο (4.1.2) και καταγράφεται το χρωματογράφημα.

Αν στο χρωματογράφημα του εκχύλισματος του δείγματος (4.1.1) παρεμβάλλεται κορυφή με τον ίδιο χρόνο κατακράτησης με του 2-μεθοξυ-βενζοϊκού οξέος, θα πρέπει να επιλεγεί άλλο, κατάλληλο εσωτερικό πρότυπο. (Αν από το χρωματογράφημα λείπει κάποιο από τα υπό ανάλυση συντηρητικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτό ως εσωτερικό πρότυπο).

Εξασκρβώνεται ότι τα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται από πρότυπο διάλυμα και το διάλυμα δείγμα πληρούν τις ακόλουθες απαιτήσεις:

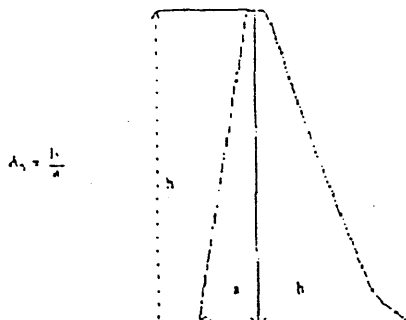
- ο διαχωρισμός των κορυφών προκειμένου για το ζεύγος κορυφών με τον ασαφέστερο διαχωρισμό είναι τουλάχιστον 0,90 (για τον ορισμό του διαχωρισμού των κορυφών βλέπε σχήμα 1).



Σχήμα 1:  
Διαχωρισμός

Υστερα από εκχύλιση των συντηρητικών σε όξινο/αλκαλικό περιβάλλον, το εκχύλισμα υποβάλλεται σε ανάλυση με χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (- Εάν δεν επιτυγχάνεται ο απαιτούμενος διαχωρισμός, θα πρέπει είτε να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικότερη στήλη είτε να ρυθμιστεί η σύνθεση της κινητής φάσης, έτσι ώστε να ικανοποιείται η απαίτηση.

- ο συντελεστής ασυμμετρίας  $A_s$  για όλες τις λαμβανόμενες κορυφές κυμαίνεται μεταξύ 0.9 και 1.5 (για τον ορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας κορυφών βλέπε σχήμα 2). Κατά την καταγραφή του χρωματογραφήματος για τον προσδιορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας, συνιστάται ταχύτητα χαρτιού 2 cm/λεπτό τουλάχιστον.



Σχήμα 2: Συντελεστής ασυμμετρίας κορυφών  
- πρέπει να προκύπτει σταθερή γραμμή.

## 5. Υπολογισμοί

Η συγκέντρωση των οξέων συντηρητικών στο εκχύλισμα του δείγματος υπολογίζεται από τους λόγους των υψών των κορυφών που αντιστοιχούν στα υπό ανάλυση συντηρητικά προς το ύψος της κορυφής που προκύπτει για το 2-μεθοξυ-βενζοϊκό οξύ (εσωτερικό πρότυπο), με τη βοήθεια της καμπύλης αναφοράς. Η περιεκτικότητα του εκχυλίσματος του δείγματος σε βενζοϊκό οξύ, 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ, σορβικό οξύ ή σαλικυλικό οξύ εκφραζόμενη σε εκατοστιαία αναλογία κατά μάζα (x), υπολογίζεται με τον τύπο:

$$x \% (\text{w/w}) = \frac{100 \cdot 20 \cdot b}{10^4 \cdot a} = \frac{b}{500 \cdot a}$$

a = μάζα (g) του δείγματος δοκιμής (4.1.2).

b = συγκέντρωση (γ/ml) του συντηρητικού στο εκχύλισμα του δείγματος (4.1.2), όπως προκύπτει από την καμπύλη αναφοράς.

## 6. Επαναληψιμότητα (1)

Για περιεκτικότητα σε 4-υδροξυ-βενζοϊκό οξύ 0,40 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,035 % σε απόλυτες τιμές.

Για περιεκτικότητα σε βενζοϊκό οξύ 0,50 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,050 % σε απόλυτες τιμές.

Για περιεκτικότητα σε σαλικυλικό οξύ 0,50 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,045 % σε απόλυτες τιμές.

Για περιεκτικότητα σε σορβικό οξύ 0,60 %, η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο παράλληλων προσδιορισμών, που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 0,035 % σε απόλυτες τιμές.

## 7. Παρατηρήσεις

- 7.1. Τα αποτελέσματα μιας δοκιμής αξιοπιστίας (ruggedness test) στην οποία υποβλήθηκε η μέθοδος έδειξαν ότι η ποσότητα του θειικού οξέος που προστίθεται για

την εκχύλιση των οξέων από το δείγμα είναι κρίσιμης σημασίας και κατά συνέπεια η ποσότητα δείγματος που υφίσταται κατεργασία θα πρέπει να βρίσκεται εντός των υποδεικνυμένων ορίων.

- 7.2. Εφόσον κρίνεται σκόπιμο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλη προστήλη.

#### Γ. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Αυτή η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό του προπιονικού οξέος με μέγιστη συγκέντρωση 2 % (m/m) σε όλα τα καλλυντικά προϊόντα.

2. Ορισμός

Η συγκέντρωση του προπιονικού οξέος που μετρείται με αυτή τη μέθοδο, εκφράζεται ως ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα (% m/m) του προϊόντος.

3. Αρχή της μεθόδου

Ύστερα από κατάλληλη επεξεργασία του προς ανάλυση προϊόντος, ο προσδιορισμός του προπιονικού οξέος γίνεται με αέριο χρωματογραφία και με χρήση του 2-μεθυλοπροπιονικού οξέος ως εσωτερικού προτύπου.

4. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας 7 πρέπει να χρησιμοποιείται απεσταγμένο νερό ή νερό ισοδύναμης ποιότητας.

- 4.1. Αιθανόλη 95 % (v/v)

- 4.2. Προπιονικό οξύ

- 4.3. 2-μεθυλοπροπιονικό οξύ

- 4.4. Ορθοφωσφορικό οξύ 10 % (m/v)

- 4.5. Διάλυμα προπιονικού οξέος

Ζυγίζουμε με ακρίβεια 1.00 g περίπου (ρ γραμμάρια) προπιονικού οξέος μέσα σε ογκομετρική φιάλη 50 ml και συμπληρώνουμε με αιθανόλη (4 1) έως τη χροσαγή

- 4.6. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου

Ζυγίζουμε με ακρίβεια 1,00 g περίπου (ε γραμμάρια) 2-μεθυλοπροπιονικού οξέος σε ογκομετρική φιάλη 50 ml και συμπληρώνουμε με αιθανόλη (4.1) έως τη χαραγή.

5. Εξοπλισμός
  - 5.1. Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός και:
  - 5.2. Αέριος χρωματογράφος με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας
  - 5.3. Γυάλινος σωλήνας (20 X 150 mm) με βιδωτό πώμα
  - 5.4. Υδατόλουτρο στους 60 °C
  - 5.5. Γυάλινη σύριγγα των 10 ml με διηθητική μεμβράνη (διάμετρος πόρων 0,45 μm)

## 6. Εκτέλεση

- 6.1. Προπαρασκευή του δείγματος
  - 6.1.1. Προπαρασκευή του δείγματος χωρίς εσωτερικό πρότυπο

Ζυγίζουμε 1 g περίπου από το δείγμα μέσα σε γυάλινο σωλήνα (5.3) και προσθέτουμε 0,5 ml φωσφορικού οξέος (4.4) και 9,5 ml αιθανόλης (4.1).

Κλείνουμε το σωλήνα και ανακινούμε δυνατά. Αν είναι αναγκαίο, τοποθετούμε το σωλήνα στο υδατόλουτρο θερμοκρασίας 60 °C (5.4) για 5 λεπτά ώστε να διαλυθεί πλήρως η λιπαρή φάση. Ψύχουμε γρήγορα με τρεχούμενο νερό. Διηθεύουμε μέρος του διαλύματος μέσω διηθητικής μεμβράνης (5.5). Χρωματογραφούμε το διήθημα την ίδια ημέρα.

- 6.1.2. Προπαρασκευή του δείγματος με εσωτερικό πρότυπο

Ζυγίζουμε με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων  $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  (α γραμμάρια) από το δείγμα μέσα σε γυάλινο σωλήνα (5.3) και προσθέτουμε 0,5 ml φωσφορικού οξέος (4.4), 0,5 ml του διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.5) και 9 ml αιθανόλης (4.1).

Κλείνουμε το σωλήνα και ανακινούμε δυνατά. Αν είναι αναγκαίο, τοποθετούμε το σωλήνα σε υδατόλουτρο θερμοκρασίας 60 °C (5.4) για 5 λεπτά ώστε να διαλυθεί πλήρως η λιπαρή φάση. Ψύχουμε γρήγορα με τρεχούμενο νερό. Διηθεύουμε μέρος του διαλύματος μέσω μεμβράνης (5.5) και χρωματογραφούμε το διήθημα την ίδια ημέρα.

- 6.2. Συνθήκες για την αέριο χρωματογραφία

Συνιστώνται οι παρακάτω συνθήκες λειτουργίας:

Στήλη

Είδος ανοξειδωτος χάλυβας

Μήκος 2 m

Διάμετρος 1/8 " (= 3 mm)

Υλικό πλήρωσης 10 % SP<sup>TM</sup> 1000 (ή ανάλογο) + 1 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> σε πλέγμα Chromosorb WAW 100-120 mesh

Θερμοκρασία

Είσοδος 200 °C

Στήλη 120 °C

Ανιχνευτής 200 °C

Φέρον αέριο άζωτο

Παροχή 25 ml/min

### 6.3. Χρωματογραφία

#### 6.3.1. Βαθμονόμηση

Μέσα σε 5 ογκομετρικές φιάλες των 20 ml, μεταφέρουμε με σιφώνιο 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 και 4,00 ml, αντίστοιχα, του διαλύματος του προπιονικού οξέος (4.5). Σε κάθε ογκομετρική φιάλη μεταφέρουμε με σιφώνιο 1,00 ml του διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.6) συμπληρώνουμε έως τη χαραγή με αιθανόλη (4.1) και αναμειγνύουμε. Τα διαλύματα που παρασκευάζονται με τον τρόπο αυτό περιέχουν  $\rho$  mg/ml 2-μεθυλοπροπιονικού οξέος ως εσωτερικό πρότυπο (δηλαδή, 1 mg/ml εάν  $\rho = 1,000$ ) και  $\rho/4$ ,  $\rho/2$ ,  $\rho$ , 2 $\rho$ , 4 $\rho$  mg/ml προπιονικού οξέος (δηλαδή 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 mg/ml εάν  $\rho = 1,000$ ).

Εισάγουμε 1  $\mu$ l από καθένα από αυτά τα διαλύματα στο χρωματογράφο και λαμβάνουμε την καμπύλη αναφοράς με τετμημένη το λόγο των μαζών προπιονικού οξέος/2-μεθυλοπροπιονικού οξέος και τεταγμένη το λόγο των αντίστοιχων εμβαδών

Κάνουμε τρεις ενέσεις από το κάθε διάλυμα και υπολογίζουμε το μέσο όρο των λόγων των εμβαδών της κορυφής.

#### 6.3.2. Προσδιορισμός



Ενύουμε 1 γ από το διηθημένο δείγμα 6.1.1. Συγκρίνουμε το χρωματογράφημα με εκείνο του προτύπου διαλύματος (6.3.1). Αν κάποια κορυφή έχει περίπου τον ίδιο χρόνο κατακράτησης με το 2-μεθυλοπροπιονικό οξύ, αλλάζουμε το εσωτερικό πρότυπο. Αν δεν παρατηρούμε κάποια παρεμβολή, ενύουμε 1 γ από το διηθημένο δείγμα 6.1.2 και μετράμε τα εμβαδά της κορυφής του προπιονικού οξέος και της κορυφής του εσωτερικού προτύπου.

Κάνουμε τρεις ενέσεις από το κάθε διάλυμα και υπολογίζουμε το μέσο όρο των λόγων των εμβαδών της κορυφής.

## 7. Υπολογισμοί

7.1. Από την καμπύλη αναφοράς που λάβαμε κατά τη βαθμονόμηση στο σημείο 6.3.1 λαμβάνουμε το λόγο της μάζας (K) που αντιστοιχεί στο λόγο των εμβαδών της κορυφής που υπολογίσαμε στο σημείο 6.3.2.

7.2. Από το λόγο μάζας που λάβαμε έτσι, υπολογίζουμε την περιεκτικότητα σε προπιονικό οξύ ως ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$x \% (\text{m/m}) = K \frac{0.5}{50} \frac{100 \cdot e}{a} = K \frac{e}{a}$$

όπου: K = λόγος

που υπολογίσαμε στο σημείο 7.1.

a = η μάζα σε γραμμάρια του δείγματος που ζυγίσαμε στο σημείο 6.1.2.

e = η μάζα σε γραμμάρια του εσωτερικού προτύπου που ζυγίσαμε στο σημείο 4.6.

Στρογγυλεύουμε τα αποτελέσματα σε 1 δεκαδικό ψηφίο.

## 8. Επαναληψιμότητα (1)

Για περιεκτικότητα σε προπιονικό οξύ έως 2 % (m/m) η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων των δύο προσδιορισμών που γίνονται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να ξεπερνά το 0.12 %.

## II. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΥΔΡΟΚΙΝΟΝΗΣ, ΤΟΥ ΥΔΡΟΚΙΝΟΝΟ-ΜΟΝΟΜΕΘΥΛΑΙΘΕΡΑ, ΤΟΥ ΥΔΡΟΚΙΝΟΝΟΜΟΝΟΑΙΓΥΛΑΙΘΕΡΑ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΔΡΟΚΙΝΟΝΟ-ΜΟΝΟΒΕΝΖΥΛΑΙΘΕΡΑ ΣΤΑ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ

### A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

#### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή περιγράφει την ανίχνευση και τον ποιοτικό προσδιορισμό της υδροκινόνης, του υδροκινονο-μονομεθυλαιθέρα, του υδροκινονο-μονοαιθυλαιθέρα και του υδροκινονο-μοφοβενζυλαιθέρα (μονοβενζόνη) στα καλλυντικά προϊόντα για τη λεύκανση του δέρματος.

## 2. Αρχή

Ο ποιοτικός προσδιορισμός της υδροκινόνης και των αιθέρων της γίνεται με χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC).

## 3. Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας

### 3.1. Αιθανόλη 96 % (v/v)

### 3.2. Χλωροφόρμιο

### 3.3. Διαιθυλαιθέρας

### 3.4. Διαλύτης ανάπτυξης:

Χλωροφόρμιο/διαιθυλαιθέρας, 66:33 (v/v)

### 3.5. Αμμωνία, 25 % m/m ( $d^{20}_4 = 0,91 \text{ g/ml}$ )

### 3.6. Ασκορβικό οξύ

### 3.7. Υδροκινόνη

### 3.8. Υδροκινονο-μονομεθυλαιθέρας

### 3.9. Υδροκινονο-μονοαιθυλαιθέρας

### 3.10. Υδροκινονο-μοφοβενζυλαιθέρας (μονοβενζόνη)

### 3.11. Διαλύματα αναφοράς

Τα ακόλουθα διαλύματα αναφοράς πρέπει να έχουν παρασκευαστεί προσφάτως, και είναι σταθερά για μία ημέρα.

#### 3.11.1. Ζυγίζονται 0,05 g υδροκινόνης (3.7) μέσα σε βαθμολογημένο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml. Προστίθενται 0,250 g ασκορβικού οξέος (3.6) και 5 ml

αιθανόλης (3.1). Προστίθεται αμμωνία (3.5) μέχρι το pH να γίνει 10 και συμπληρώνεται ο υπόλοιπος όγκος με αιθανόλη (3.1).

- 3.11.2. Ζυγίζονται 0,05 g υδροκινονο-μονομεθυλαιθέρα (3.8) μέσα σε βαθμολογημένο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml. Προστίθενται 0,250 g ασκορβικού οξέος (3.6) και 5 ml αιθανόλης (3.1). Προστίθεται αμμωνία (3.5) μέχρι το pH να γίνει 10 και συμπληρώνεται έως τη χαραγή με αιθανόλη (3.1)
- 3.11.3. Ζυγίζονται 0,05 g υδροκινονο-μονοαιθυλαιθέρα (3.9) μέσα σε βαθμολογημένο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml. Προστίθενται 0,250 g ασκορβικού οξέος (3.6) και 5 ml αιθανόλης (3.1). Προστίθεται αμμωνία (3.5) μέχρι το pH να γίνει 10 και συμπληρώνεται έως τη χαραγή με αιθανόλη (3.1).
- 3.11.4. Ζυγίζονται 0,05 g υδροκινονο-μονοβενζυλαιθέρα (3.10) μέσα σε βαθμολογημένο δοκιμαστικό σωλήνα των 10 ml. Προστίθενται 0,250 g ασκορβικού οξέος (3.6) και 5 ml αιθανόλης (3.1). Προστίθεται αμμωνία (3.5) μέχρι το pH να γίνει 10 και συμπληρώνουμε έως τη χαραγή με αιθανόλη (3.1).

3.12. Νιτρικός άργυρος

3.13. 12-μόλυβδοφωσφορικό οξύ

3.14. Σιδηροκυανιούχο κάλιο, εξαυδρικό

3.15. Χλωριούχος σίδηρος, εξαυδρικός

3.16. Αντιδραστήρια ψεκασμού:

3.16.1. Σε 5 % (m/v) υδατικό διάλυμα νιτρικού αργύρου (3.12) προστίθεται αμμωνία (3.5) μέχρις ότου διαλυθεί το σχηματιζόμενο ίζημα.

Προσοχή: Το διάλυμα καθίσταται εκρηκτικά ασταθές κατά την παραμονή και πρέπει να απορρίπτεται μετά τη χρήση.

3.16.2. 10 % (m/v) διάλυμα 12-μόλυβδοφωσφορικού οξέος (3.13) σε αιθανόλη (3.1)

3.16.3. Παρασκευάζεται 1 % (m/v) υδατικό διάλυμα σιδηροκυανιούχου καλίου (3.14) και 2 % (m/v) υδατικό διάλυμα χλωριούχου σιδήρου (3.15).

Τα μέρη των δύο διαλυμάτων αναμειγνύονται αμέσως πριν τη χρήση.

4. Εξοπλισμός

Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου και:

4.1. Συνήθης εξοπλισμός TLC

- 4.2. Πλάκες TLC, έτοιμες προς χρήση: silicagel GHRUV254, 20 cm X 20 cm (Machery, Nagel ή ανάλογη), πάχος στοιβάδας 0,25 mm
- 4.3. Λουτρό υπερήχων
- 4.4. Φυγόκεντρος
- 4.5. Λυχνία υπεριώδους φωτός, 254 nm
5. Διαδικασία
- 5.1. Παρασκευή του δείγματος:

Ζυγίζονται 3 γραμμάρια δείγματος μέσα σε βαθμολογημένο σωλήνα των 10 ml. Προστίθενται 250 γραμμάρια ασκορβικού οξέος (3.6) και 5 ml αιθανόλης (3.1). Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος στο 10, με τη βοήθεια αμμωνίας (3.5). Συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη (3.1). Κλείνεται ο σωλήνας με πώμα και ομογενοποιείται μέσω σε λουτρό υπερήχων επί 10 λεπτά. Διηθείται μέσω διηθητικού χαρτιού ή γίνεται φυγοκέντρωση σε 3 000 σ.α.λ.

- 5.2. TLC
- 5.2.1. Ο θάλαμος χρωματογραφίας κορένεται με διαλύτη ανάπτυξης (3.4).
- 5.2.2. Τοποθετούνται σε πλάκα 2 T των διαλυμάτων αναφοράς (3.11) και 2 T του διαλύματος δείγματος (5.1). Αναπτύσσεται η πλάκα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και σε σκοτάδι μέχρις ότου το μέτωπο του διαλύτη προχωρήσει 15 εκατοστά από την αρχή.
- 5.2.3. Εξάγεται η πλάκα και ξηραίνεται σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5.3. Ανίχνευση
- 5.3.1. Παρατηρούμε την πλάκα κάτω από υπεριώδες φως σε 254 nm και σημειώνουμε τη θέση των κηλίδων.
- 5.3.2. Ψεκάζεται η πλάκα με

αντιδραστήριο νιτρικού αργύρου (3.15.1) ή

αντιδραστήριο 12-μολυβδοφωσφορικού οξέος (3.16.2) και θερμαίνεται σε περίπου 120 °C ή

διάλυμα σιδηρικού ανιούχου καλίου κα: διάλυμα χλωριούχου σιδήρου (3.16.3).

## 6. Ποιοτικός προσδιορισμός

Υπολογίζεται η τιμή R<sub>f</sub> για κάθε κηλίδα.

Συγκρίνονται οι κηλίδες του δείγματος με εκείνες που λαμβάνονται για τα διαλύματα αναφοράς, ως προς το R<sub>f</sub>, το χρώμα των κηλίδων κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία και το χρώμα των κηλίδων μετά τον ψεκασμό με τα αντιδραστήρια ψεκασμού.

Εκτελείται η HPLC που περιγράφεται στο επόμενο κεφάλαιο Β και συγκρίνονται οι χρόνοι κατακράτησης που λαμβάνονται για το δείγμα με εκείνους που λαμβάνονται για τα διαλύματα αναφοράς.

Συνδυάζονται τα αποτελέσματα από τη TLC και την HPLC για να διαπιστωθεί η παρουσία της υδροκινόνης ή των αιθέρων της.

## 7. Παρατηρήσεις

Κάτω από τις συνθήκες που περιγράφηκαν, παρατηρήθηκαν οι ακόλουθες τιμές R<sub>f</sub>:

υδροκινόνη: 0,32

υδροκινόνο-μονομεθυλαιθέρας: 0,53

υδροκινόνο-μονοαιθυλαιθέρας: 0,55

υδροκινόνο-μονοβενζυλαιθέρας: 0,58.

## B. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

### 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή καθορίζει μια διαδικασία για τον ποσοτικό προσδιορισμό της υδροκινόνης, του υδροκινόνο-μονομεθυλαιθέρα, του υδροκινόνο-μονοαιθυλαιθέρα και του υδροκινόνο-μονοβενζυλαιθέρα στα καλλυντικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται για τη λεύκανση του δέρματος.

### 2. Αρχή

Το δείγμα εκχυλίζεται με μείγμα νερού και μεθανόλης ύστερα από ελαφρά θέρμανση για την τήξη των λιπιδίων. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ανιχνευόμενων ουσιών στο προκύπτον διάλυμα διενεργείται με υγρή χρωματογραφία αντίστροφης φάσης και ανιχνευτή υπεριώδους μήκους κύματος.

### 3. Αντιδραστήρια

- 3.1 Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας. Το χρησιμοποιούμενο νερό πρέπει να είναι απεσταγμένο ή νερό τουλάχιστον ισοδύναμης καθαρότητας.
- 3.2. Μεθανόλη
- 3.3. Υδροκινόνη
- 3.4. Υδροκινόνο-μονομεθυλαιθέρας
- 3.5. Υδροκινόνο-μονοαιθυλαιθέρας
- 3.6. Υδροκινόνο-μονοβενζυλαιθέρας (Μονοβενζόνη)
- 3.7. Τετραϋδροφουράνιο, καθαρότητας HPLC
- 3.8. Μείγμα νερού/μεθανόλης 1:1 (v/v). Αναμειγνύονται ένας όγκος νερού και ένας όγκος μεθανόλης (3.2).
- 3.9. Κινητή φάση: μείγμα τετραϋδροφουρανίου/νερού 45:55 (v/v).

Αναμειγνύονται 45 όγκοι τετραϋδροφουρανίου (3.7) και 55 όγκοι νερού.

- 3.10. Διάλυμα αναφοράς

Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,06 g υδροκινόνης (3.3), 0,06 g υδροκινόνο-μονομεθυλαιθέρα (3.4), 0,10 g υδροκινόνο-μονοαιθυλαιθέρα (3.5) και 0,12 g υδροκινόνο-μονοβενζυλαιθέρα (3.6) μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml. Διαλύουμε τα παραπάνω και συμπληρώνουμε έως τη χαραγή με μεθανόλη (3.2). Το διάλυμα αναφοράς παρασκευάζεται με αραιώση 10,00 ml του παραπάνω διαλύματος μέχρι τα 50,00 ml με μείγμα νερού/μεθανόλης (3.8). Τα διαλύματα αυτά πρέπει να έχουν παρασκευασθεί πρόσφατα.

4. Εξοπλισμός

Συνήθης εξοπλισμός εργαστηρίου και:

- 4.1. Υδατόλουτρο, με δυνατότητα ρύθμισης της θερμοκρασίας στους 20 °C
- 4.2. Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους φωτός μεταβλητού μήκους κύματος και βρόχος έγχυσης 10 μl
- 4.3. Στήλη:

Στήλη χρωματογραφίας από ανοξείδωτο χάλυβα, μήκους 250 m, εσωτερικής διαμέτρου 4,6 mm, που έχει πληρωθεί με φαινύλιο Zorbax με σωματίδια μεγέθους 6  $\mu$ m, ή ισοδύναμο (υλικό πλήρωσης: φαινολοαιθυλοσιλάνιο χημικά δεσμευμένο σε Zorbax Sii και εξωτερικά καλυμμένο με τριμεθυλοχλωροσιλάνιο) να μη χρησιμοποιείτε άλλη προστήλη εκτός από προστήλη φαινυλίου ή ισοδύναμη.

- 4.4. Διηθητικό χαρτί διαμέτρου 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband αριθ. 5892 ή ισοδύναμο

5. Διαδικασία

5.1. Παρασκευή δείγματος

Ζυγίζονται με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων  $1 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$  (α γραμμάρις) δείγματος μέσα σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml. Διαλύεται το δείγμα με 25 ml μείγμα νερού/μεθανόλης (3.8). Κλείνεται η φιάλη και ανακινείται ζωηρά μέχρι να ληφθεί ομογενές εναιώρημα. Ανακινείται για τουλάχιστον ένα λεπτό. Τοποθετείται η ογκομετρική φιάλη σε υδατόλουτρο (4.1) ρυθμισμένο στους 60 °C για την ενίσχυση της εκχύλισης. Κατόπιν η φιάλη ψύχεται και συμπληρώνεται ο υπόλοιπος όγκος έως τη χαραγή με νερό/μεθανόλη (3.8). Διηθείται το εκχύλισμα με τη βοήθεια διηθητικού χαρτιού (4.4).

Ο προσδιορισμός με την HPLC πρέπει να πραγματοποιηθεί εντός 24 ωρών από την παρασκευή του εκχυλίσματος.

5.2. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

- 5.2.1. Ρυθμίζεται η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης (3.9) στο 1,0 ml/min και το μήκος κύματος του ανιχνευτή στα 295 nm.

- 5.2.2. Εισάγονται με ένεση 10  $\mu$ l του διαλύματος δείγματος που λαμβάνεται όπως περιγράφηκε στο σημείο 5.1 και λαμβάνεται το χρωματογράφημα.

Μετρώνται τα εμβεδοά των κορυφών. Εκτελείται βαθμονόμηση όπως περιγράφεται στο σημείο 5.2.3. Συγκρίνονται τα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται για τα διαλύματα δείγματος και για τα πρότυπα διαλύματα. Χρησιμοποιούνται τα εμβεδοά των κορυφών και οι συντελεστές απόκρισης (RF) που υπολογίζονται στο σημείο 5.2.3 για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης των ανιχνευόμενων ουσιών στο διάλυμα δείγματος.

5.2.3. Βαθμονόμηση

Εισάγονται με ένεση 10  $\mu$ l του προτύπου διαλύματος (3.10) και καταγράφεται το χρωματογράφημα. Επαναλαμβάνεται η ένεση αρκετές φορές μέχρις ότου ληφθεί σταθερό εμβεδοά κορυφής.

Προσδιορίζεται ο συντελεστής απόκρισης RFi:

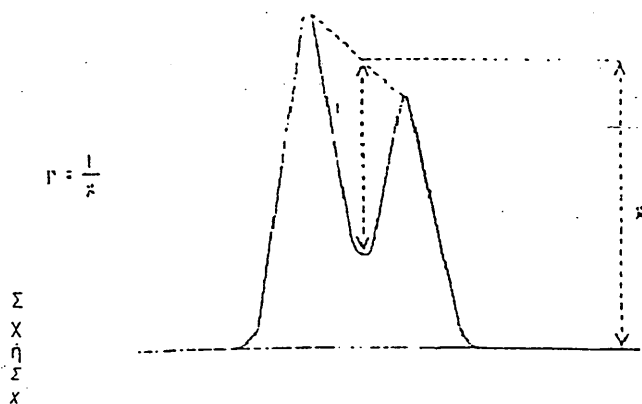
$$RF_i = \frac{r_i}{c_i}$$

$r_i$  = εμβαδόν κορυφής για την υδροκινόνη, τον υδροκινονομονομεθυλαιθέρα, τον υδροκινονο-μονοαιθυλαιθέρα ή τον υδροκινονομονοβενζυλαιθέρα.

$c_i$  = συγκέντρωση (g/50 ml) στο διάλυμα αναφοράς (3.10) της υδροκινόνης, του υδροκινονο-μονομεθυλαιθέρα, του υδροκινονομονοαιθυλαιθέρα ή του υδροκινονομονοβενζυλαιθέρα αντίστοιχα.

Εξακριβώνουμε ότι τα χρωματογραφήματα που λαμβάνουμε για ένα πρότυπο διάλυμα και για το δείγμα, ανταποκρίνονται στις ακόλουθες απαιτήσεις:

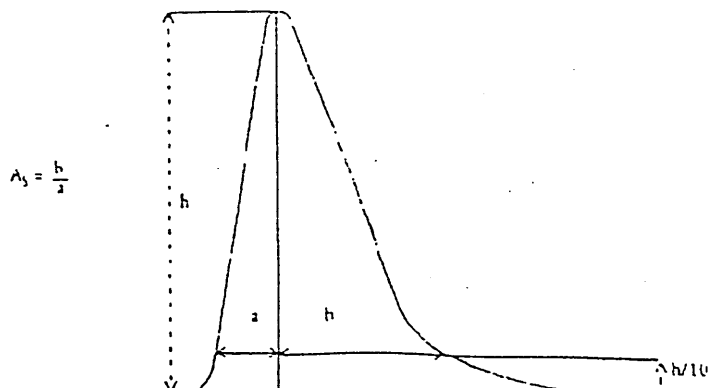
ο διαχωρισμός των κορυφών του λιγότερο διαχωριζόμενου ζεύγους κορυφών υπερβαίνει το 0,90. Για τον ορισμό του διαχωρισμού των κορυφών, βλέπε σχήμα 1.



ήμα 1: Διαχωρισμός κορυφών

Αν δεν επιτευχθεί ο απαιτούμενος διαχωρισμός, είτε πρέπει να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικότερη στήλη, είτε να ρυθμίζεται η σύνθεση της κινητής φάσης μέχρις ότου ικανοποιηθεί η απαίτηση αυτή.

ο συντελεστής ασυμμετρίας  $S_s$  όλων των λαμβανόμενων κορυφών βρίσκεται στο διάστημα 0,9 με 1,5 (για τον ορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας κορυφών, βλέπε σχήμα 2). Για την καταγραφή του χρωματογραφήματος για τον προσδιορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας, συνιστάται ταχύτητα χαρτί τουλάχιστον 2 cm/min.





Σχήμα 2: Συντελεστής ασυμμετρίας κορυφών  
λαμβάνουμε σταθερή γραμμή βάσης.

## 6. Υπολογισμός

Χρησιμοποιούνται τα εμβαδά των κορυφών της ανιχνευόμενης ουσίας για τον υπολογισμό της (των) συγκέντρωσης(ων) του (των) ανιχνευόμενης(ων) ουσίας(ών) στο δείγμα. Υπολογίζεται η συγκέντρωση της ανιχνευόμενης ουσίας στο δείγμα ως ποσοστό επί τοις εκατό κατά μάζα ( $X_i$ ) από τον τύπο:

$$x_i \% (m:m) = \frac{b_i \cdot 100}{RF_i \cdot a}$$

$a$  = μάζα του δείγματος σε g.

$b_i$  = εμβαδόν κορυφής της ανιχνευόμενης ουσίας στο δείγμα.

$RF_i$  = συντελεστής απόκρισης (5.2.3).

## 7. Επαναληψιμότητα (1)

- 7.1. Για περιεκτικότητα σε υδροκινόνη 2.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει σε απόλυτη τιμή το 0.13 %.
- 7.2. Για περιεκτικότητα σε υδροκίνονο-μονομεθυλαιθέρα 1.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει σε απόλυτη τιμή το 0.1 %.
- 7.3. Για περιεκτικότητα σε υδροκίνονο-μονοαιθυλαιθέρα 1.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει σε απόλυτη τιμή το 0.11 %.
- 7.4. Για περιεκτικότητα σε υδροκίνονο-μονοβενζυλαιθέρα 1.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται παράλληλα στο ίδιο δείγμα δεν πρέπει να υπερβαίνει σε απόλυτη τιμή το 0.11 %.

## 8. Αναπαραγωγιμότητα (1)

- 8.1. Για περιεκτικότητα σε υδροκινόνη 2.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικά εργαστήρια, διαφορετικοί αναλυτές, διαφορετικός εξοπλισμός ή/και διαφορετικός χρόνος) δεν πρέπει να υπερβαίνει σε απόλυτη τιμή το 0.37 %.
- 8.2. Για περιεκτικότητα σε υδροκίνονο-μονομεθυλαιθέρα 1.0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικά εργαστήρια, διαφορετικοί αναλυτές, διαφορετικός

εξοπλισμός ή/και διαφορετικός χρόνος) δεν πρέπει να υπερβίνει σε απόλυτη τιμή το 0,21 %.

- 8.3. Για περιεκτικότητα σε υδροκιννο-μονοαιθυλαιθέρα 1,0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικά εργαστήρια, διαφορετικοί αναλυτές, διαφορετικός εξοπλισμός ή/και διαφορετικός χρόνος) δεν πρέπει να υπερβίνει σε απόλυτη τιμή το 0,19 %.
- 8.4. Για περιεκτικότητα σε υδροκιννο-μονοβενζυλαιθέρα 1,0 % η διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων δύο προσδιορισμών που εκτελούνται στο ίδιο δείγμα κάτω από διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικά εργαστήρια, διαφορετικοί αναλυτές, διαφορετικός εξοπλισμός ή/και διαφορετικός χρόνος) δεν πρέπει να υπερβίνει σε απόλυτη τιμή το 0,11 %.

## 9. Παρατηρήσεις

Όταν βρεθεί περιεκτικότητα σε υδροκινόνη σημαντικά μεγαλύτερη από 2 % και απαιτείται ακριβής εκτίμηση της περιεκτικότητας το εκχύλισμα δείγματος (5.1) πρέπει να αραιωθεί σε σύγκέντρωση παρόμοια με αυτή που θα λαμβανόταν από δείγμα που περιέχει 2 % υδροκινόνη, και ο προσδιορισμός πρέπει να επαναληφθεί. (Σε ορισμένα όργανα η απορρόφηση μπορεί να βρίσκεται εκτός του εύρους γραμμικότητάς του ανιχνευτή για υψηλές συγκεντρώσεις υδροκινόνης).

### 9.2. Παρεμβολές

Με τη μέθοδο που περιγράφεται παραπάνω προσδιορίζουμε ποσοτικά την υδροκινόνη και τους αιθέρες της σε μια μόνον ισοκραπική εφαρμογή. Η χρήση της στήλης φαινυλίου εξασφαλίζει επαρκή κατακράτηση για την υδροκινόνη, η οποία δεν μπορεί να εξασφαλιστεί όταν χρησιμοποιείται στήλη C-18 με την περιγραφόμενη κινητή φάση. Η μέθοδος αυτή, ωστόσο, είναι επιρρεπής σε παρεμβολές από μια σειρά ενώσεων τύπου parabens. Στην περίπτωση αυτή ο προσδιορισμός πρέπει να επαναληφθεί χρησιμοποιώντας ένα διαφορετικό σύστημα κινητής φάσης/ακίνητης φάσης. Κατάλληλες μέθοδοι μπορούν να βρεθούν στις αναφορές (1) και (2) και συγκεκριμένα:

Στήλη: Zorbax » DS, 4,6 mm X 25 cm ή ισοδύναμη

Θερμοκρασία: 36 °C

Ροή: 1,5 ml/min

Κινητή φάση: για την υδροκινόνη: μεθανόλη/νερό 5/95 (v/v).

για τον υδροκιννο-μονομεθυλαιθέρα: μεθανόλη/νερό 30/70 (v/v).

για τον υδροκιννο-μονοβενζυλαιθέρα: μεθανόλη/νερό 80/20 (v/v) (1).

Στήλη: Spherisorb S5-ODS ή ισοδύναμη

Κινητή φάση: νερό/μεθανόλη 90:10 (v/v)

Ροή: 1,5 ml/min

Οι συνθήκες αυτές είναι κατάλληλες για την υδροκινόνη (2).

(1) ISO 5725.

(1) ISO 5725.

(1) ISO 5725.

(1) M. Herpol-Borremans et M.O. Masse, Identification et dosage de l'hydroquinone et ses éthers méthylique et benzylé dans les produits cosmétiques pour blanchir la peau, *Int. J. Cosmet. Sci.* 8:203-214 (1986).

(2) J. Firth and I. Rix, Determination of Hydroquinone in skin toning creams, *Analyst* (1986), 111, p. 129.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VII

(Κανονισμός 3)

ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ 2-ΦΑΙΝΟΞΥΑΙΘΑΝΟΛΗΣ, ΤΗΣ 1-ΦΑΙΝΟΞΥΠΡΟΠΑΝ-2-ΟΛΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ 4-ΥΔΡΟΞΥΒΕΝΖΟΪΚΟΥ ΜΕΘΥΛ-, ΑΙΘΥΛ-, ΠΡΟΠΥΛ-, ΒΟΥΤΥΛ- ΚΑΙ ΒΕΝΖΥΛ- ΕΣΤΕΡΩΝ ΣΕ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

## A. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

## 1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τη διαδικασία χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC), η οποία, σε συνδυασμό με τη μέθοδο ποσοτικού προσδιορισμού που περιγράφεται στο κεφάλαιο B, επιτρέπει την ταυτοποίηση της 2-φαινοξυαιθανόλης, 1-φαινοξυπροπαν-2-όλης και των 4-υδροξυβενζοϊκού μεθυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού προπυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού βουτυλεστέρα και 4-υδροξυβενζοϊκού βενζυλεστέρα σε καλλυντικά προϊόντα.

## 2. Αρχή

Τα συντηρητικά εκχυλίζονται με ακετόνη, σε όξινο περιβάλλον, από το δείγμα καλλυντικού. Μετά από διήθηση, το διάλυμα ακετόνης αναμειγνύεται με νερό και σε αλκαλικό περιβάλλον τα λιπαρά οξέα καθιζάνουν υπό τη μορφή των ασβετούχων αλάτων τους. Το αλκαλικό μείγμα ακετόνης/νερού εκχυλίζεται με διαιθυλαιθέρα για την απομάκρυνση λιπόφιλων ουσιών. Μετά από οξίνιση, τα συντηρητικά εκχυλίζονται με διαιθυλαιθέρα. Μέρος του εκχυλίσματος του διαιθυλαιθέρα τοποθετείται σε πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας με υπόστρωμα κολλοειδούς πυριτίου (silica gel). Μετά την ανάπτυξη η πλάκα παρατηρείται σε υπεριώδες φως και η εμφάνιση των κηλίδων γίνεται χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο Millon.

## 3. Αντιδραστήρια

## 3.1. Γενικά

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας. Το νερό πρέπει να είναι απεσταγμένο ή ισοδύναμης τουλάχιστον καθαρότητας.

## 3.2. Ακετόνη

## 3.3. Διαιθυλαιθέρας

## 3.4. Κ-πεντάνιο

## 3.5. Μεθανόλη

## 3.6. Κρυσταλλικό οξικό οξύ

- 3.7. Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος,  $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$  (4M)
- 3.8. Διάλυμα υδροξειδίου του καλίου,  $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$  (4M)
- 3.9. Δισένυδρο χλωριούχο ασβέστιο ( $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
- 3.10. Αντιδραστήριο εμφάνισης: αντιδραστήριο Millon

Το αντιδραστήριο Millon

[Νιτρικό άλας υδράργυρου (II)] είναι ένα πυκνό πρότυπο διάλυμα που διατίθεται στην αγορά (Fluka 69820)

- 3.11. 2-Φαινοξυαιθανόλη
- 3.12. 1-Φαινοξυπροπαν-2-όλη
- 3.13. 4-υδροξυβενζοϊκός μεθυλεστέρας (methylparaben)
- 3.14. 4-υδροξυβενζοϊκός αιθυλεστέρας (ethylparaben)
- 3.15. 4-υδροξυβενζοϊκός κ-προπυλεστέρας (propylparaben)
- 3.16. 4-υδροξυβενζοϊκός κ-βουτυλεστέρας (butylparaben)
- 3.17. 4-υδροξυβενζοϊκός βενζυλεστέρας (benzylparaben)
- 3.18. Διαλύματα αναφοράς

Παρασκευάζονται διαλύματα συγκέντρωσης 0,1 % (m/V) καθεμιάς από τις ουσίες αναφοράς 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 και 3.17 σε μεθανόλη

- 3.19. Διαλύματα ανάπτυξης

Αναμειγνύονται 88 όγκοι κ-πεντανίου με 12 όγκους κρυσταλλικού οξικού οξέος

4. Εξοπλισμός

Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός, και

- 4.1. Υδατόλουτρο, θερμορυθμιζόμενο στους 60 °C

- 4.2. Θάλαμος ανάπτυξης (χωρίς να τοποθετηθεί εσωτερικά διηθητικό χαρτί)
- 4.3. Πηγή υπεριώδους φωτός, 254 nm
- 4.4. Πλάκες λεπτής στιβάδας, 20 cm X 20 cm, πάχος στιβάδας, 0,25 mm silica gel 60 F254, με συμπυκνωμένη ζώνη (Merck, αριθ. 11798, Darmstadt ή ανάλογες).
- 4.5. Πυριαντήριο με θερμοστάτη για θερμοκρασίες μέχρι 105 °C
- 4.6. Στεγνωτήρας μαλλιών θερμού αέρος
- 4.7. Μάλλινος κυλινδρικός χρωστήρας μήκους περίπου 10 cm, εξωτερικής διαμέτρου περίπου 3,5 cm. Το πάχος της στιβάδας μαλλιού πρέπει να είναι 2-3 mm. Ψαλιδίζεται το τρίχωμα του μαλλιού εάν χρειάζεται (Βλέπε σημείωση στο σημείο 5.2).
- 4.8. Γυάλινοι σωλήνες των 50 ml με βιδωτό πώμα
- 4.9. Ηλεκτρική εστία θέρμανσης, με θερμοστάτη. Θερμοκρασία: περίπου 80 °C. Η θερμή εστία πρέπει να καλύπτεται με δίσκο αλουμινίου 20 cm X 20 cm και πάχος 6 mm, για την ομοιόμορφη διάδοση της θερμότητας.
5. Διαδικασία
- 5.1. Προετοιμασία δείγματος

Ζυγίζεται περίπου 1 gr δείγματος σε γυάλινο σωλήνα 50 ml με βιδωτό πώμα. Προστίθενται 4 σταγόνες διαλύματος υδροχλωρικού οξέος (3.7) και 40 ml ακετόνης.

Για έντονα αλκαλικά καλλυντικά προϊόντα, όπως σάπωνες λουτρού, πρέπει να προστίθενται 20 σταγόνες διαλύματος υδροχλωρικού οξέος. Κλείνεται ο σωλήνας, θερμαίνεται ελαφρώς το μείγμα στους 60 °C περίπου για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των συντηρητικών στη φάση της ακετόνης και ανακινείται ζωηρά για ένα λεπτό.

Μετράται το pH του διαλύματος με πεχαμετρικό χαρτί και ρυθμίζεται το pH του διαλύματος σε  $\leq 3$  με διάλυμα υδροχλωρικού οξέος. Ανακινείται ζωηρά. Ξανά επί 1 λεπτό.

Ψύχεται το διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου και διηθείται μέσω διηθητικού χάρτου σε κωνική φιάλη. Μεταφέρονται 20 ml του διηθήματος σε κωνική φιάλη των 200 ml, προστίθενται 60 ml νερού και αναδεύεται η φιάλη. Ρυθμίζεται το pH του μείγματος περίπου στο 10 προσθέτοντας διάλυμα υδροξειδίου του καλίου (3.8) και χρησιμοποιώντας πεχαμετρικό χαρτί.

Προστίθεται 1g δισένδρου χλωριούχου ασβεστίου (3.9) και ανακινείται ζωηρά. Διηθείται το διάλυμα με διηθητικό χαρτί μέσα σε διαχωριστική χοάνη 250 ml που περιέχει 75 ml διαιθυλαιθέρα και ανακινείται ζωηρά επί 1 λεπτό. Αφήνεται το διάλυμα να ηρεμήσει για το διαχωρισμό των φάσεων και μεταγγίζεται η υδατική στιβάδα σε

κωνική φιάλη 200 ml. Ρυθμίζεται το pH του διαλύματος περίπου στο 2 με την προσθήκη διαλύματος υδροχλωρικού οξέος, χρησιμοποιώντας πεχαμετρικό χαρτί. Στη συνέχεια, προστίθενται 10 ml διαιθυλαιθέρα και ανακινείται ζωηρά η φιάλη επί 1 λεπτό. Αφήνεται το διάλυμα να ηρεμήσει για το διαχωρισμό των φάσεως και μεταφέρονται περίπου 2 ml της στιβάδας του διαιθυλαιθέρα στον δοκιμαστικό σωλήνα των 5 ml.

## 5.2. Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Τοποθετείται η πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (4.4) πάνω στη θερμαινόμενη πλάκα αλουμινίου (4.9). Τοποθετούνται 10 ml από κάθε ένα από τα διαλύματα αναφοράς (3.18) και 100 μl του διαλύματος του ή των δειγμάτων (5.1) πάνω στη γραμμή εκκίνησης της συμπυκνωμένης ζώνης της πλάκας χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας.

Εάν χρειάζεται, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ρεύμα αέρος για να διευκολυνθεί η εξάτμιση του διαλύτη. Απομακρύνεται η πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας από τη θερμαινόμενη εστία και αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου. Μεταφέρονται 100 ml του διαλύτη ανάπτυξης (3.19) στο θάλαμο ανάπτυξης (4.2). Τοποθετείται η πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας αμέσως στον μη κορεσμένο θάλαμο και αφήνεται σε θερμοκρασία δωματίου έως ότου το μέτωπο του διαλύτη να διατρέξει περίπου 15 cm από τη γραμμή εκκίνησης. Απομακρύνεται η πλάκα από το θάλαμο ανάπτυξης και ξηραίνεται με ρεύμα θερμού αέρος με τη χρήση στεγνώτηρα μαλλιών θερμού αέρος.

Εξετάζεται η πλάκα σε υπεριώδες φως (4.3) και σημειώνεται η θέση των κηλίδων. Θερμαίνεται η πλάκα επί 30 λεπτά σε πυριάντήριο (4.5) στους 100 °C για την απομάκρυνση του πλεονάζοντος οξικού οξέος. Η εμφάνιση των συντηρητικών στο χρωματογράφημα γίνεται με αντιδραστήριο Millon (3.10), εμβαπτίζοντας τον κυλινδρικό χρωστήρα (4.7) στο αντιδραστήριο και κυλώντας τον επάνω στην πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας έτσι ώστε να διαβραχεί ομοιόμορφα.

Σημείωση: Εναλλακτικά, οι κηλίδες είναι δυνατόν να εμφανισθούν με την προσεκτική τοποθέτηση μιας σταγόνας αντιδραστήριου Millon σε κάθε κηλίδα που εντοπίζεται με υπεριώδες φως.

Οι εστέρες του 4-υδροβενζοϊκού οξέος φαίνονται ως κόκκινες κηλίδες, της 2-φαινοξυαιθανόλης και της 1-φαινοξυπροπανόλης-2 ως κίτρινες κηλίδες. Σημειώνεται ωστόσο, ότι το 4-υδροβενζοϊκό οξύ αυτό καθαυτό, το οποίο είναι δυνατόν να υπάρχει στα δείγματα ως συντηρητικό ή ως προϊόν αποσύνθεσης των εστέρων εμφανίζεται επίσης ως κόκκινη κηλίδα. Βλέπε 7.3 και 7.4.

## 6. Ταυτοποίηση

Υπολογίζεται η τιμή R<sub>f</sub> για κάθε κηλίδα. Συγκρίνονται οι κηλίδες που προκύπτουν από το διάλυμα του δείγματος με εκείνες των διαλυμάτων αναφοράς όσον αφορά τις τιμές των R<sub>f</sub>, τη συμπεριφορά τους στην υπεριώδη ακτινοβολία και το χρώμα μετά από την εμφάνιση. Εξάγονται προκαταρκτικά συμπεράσματα σχετικά με την ταυτότητα των συντηρητικών.

Εφόσον φαίνεται να υπάρχουν εστέρες του 4-υδροξυβενζοϊκού οξέος χρησιμοποιείται η μέθοδος γρήρης χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) που περιγράφεται στο

κεφάλαιο Β. Συνδυάζονται τα αποτελέσματα της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας και της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης για να επιβεβαιωθούν η παρουσία της 2-φαινοξυαιθανόλης, 1-φαινόξυπροπαν-2-όλης, και των εστέρων του 4-υδροξυβενζοϊκού οξέος.

## 7. Παρατηρήσεις

- 7.1. Λόγω της τοξικότητας του αντιδραστηρίου Millon, συνιστάται να χρησιμοποιείται με μία από τις μεθόδους που περιγράφονται. Να αποφεύγεται ο ψεκασμός.
- 7.2. Άλλες ουσίες που περιέχουν ομάδες υδροξυλίου είναι δυνατόν επίσης να δώσουν χρώματα με το αντιδραστήριο Millon. Ο πίνακας των χρωμάτων και των τιμών Rf που λαμβάνονται για ορισμένα συντηρητικά χρησιμοποιώντας τη μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας ευρίσκεται στο: N. de Kruijf, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten (1987) Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products (J. Chromatography 410, 395-411).
- 7.3. Στον κάτωθι πίνακα αναφέρονται ενδεικτικά οι τιμές Rf που είναι δυνατόν να ληφθούν:

Συστατικά	$hR_f$	Χρώμα
4-υδροξυβενζοϊκό οξύ	11	Κόκκινο
4-υδροξυβενζοϊκός μεθυλεστέρας	12	Κόκκινο
4-υδροξυβενζοϊκός αιθυλεστέρας	17	Κόκκινο
4-υδροξυβενζοϊκός προπυλεστέρας	21	Κόκκινο
4-υδροξυβενζοϊκός βουτύλεστέρας	26	Κόκκινο
4-υδροξυβενζοϊκός βενζυλεστέρας	16	Κόκκινο
2-φαινόξυαιθανόλη	29	Κίτρινο
1-φαινόξυπροπαν-2-όλη	50	Κίτρινο

- 7.4. Δεν επιτυγχάνεται διαχωρισμός για 4-υδροξυβενζοϊκό οξύ και 4-υδροξυβενζοϊκού μεθυλεστέρα ή για 4-υδροξυβενζοϊκού βενζυλεστέρα και 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλεστέρα. Η ταυτοποίηση αυτών των ουσιών πρέπει να επιβεβαιώνεται με την εφαρμογή της μεθόδου υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης που περιγράφεται στο κεφάλαιο Β, συγκρίνοντας τους χρόνους κατακράτησης που λαμβάνονται για το δείγμα με αυτούς των προτύπων.

## Β. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Η μέθοδος αυτή αναφέρει τη διαδικασία ποσοτικού προσδιορισμού των 2-



φαινοξυαιθανόλης, 1-φαινοξυπροπαν-2-όλης, και του 4-υδροξυβενζοϊκού μεθυλ-, αιθυλ-, προπυλ-, βουτυλ- και βενζυλ- εστέρων σε καλλυντικά προϊόντα.

## 2. Ορισμός

Οι ποσότητες συντηρητικών που προσδιορίζονται με τη μέθοδο αυτή εκφράζονται σε ποσοστό μάζης επί τις εκατό.

## 3. Αρχή

Το δείγμα οξινίζεται με την προσθήκη θεικού οξέος και στη συνέχεια εναιωρείται σε μείγμα αιθανόλης και νερού. Μετά από ελαφρά θέρμανση του μείγματος για τήξη της λιπαρής φάσεως, ώστε η εκχύλιση να είναι πλήρης, το μείγμα διηθείται. Τα συντηρητικά στο διήθημα προσδιορίζεται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης αντίστροφης φάσης χρησιμοποιώντας 4-υδροξυβενζοϊκό ισοπροπυλ- εστέρα ως εσωτερικό πρότυπο.

## 4. Αντιδραστήρια

### 4.1. Γενικά

Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να είναι αναλυτικής καθαρότητας και κατάλληλα για υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, όπου απαιτείται. Το νερό πρέπει να είναι απεσταγμένο, ή νερό ισοδύναμης τουλάχιστον καθαρότητας.

### 4.2. Απόλυτη αιθανόλη

### 4.3. 2-Φαινοξυαιθανόλη

### 4.4. 1-Φαινοξυπροπαν-2-όλη

### 4.5. 4-υδροξυβενζοϊκός μεθυλεστέρας

### 4.6. 4-υδροξυβενζοϊκός αιθυλεστέρας

### 4.7. 4-υδροξυβενζοϊκός κ-προπυλεστέρας

### 4.8. 4-υδροξυβενζοϊκός ισοπροπυλεστέρας

### 4.9. 4-υδροξυβενζοϊκός κ-βουτυλεστέρας

### 4.10. 4-υδροξυβενζοϊκός βενζυλεστέρας

### 4.11. Τετραϋδροφουράνιο

- 4.12. Μεθανόλη
- 4.13. Ακετοντρίλιο
- 4.14. Διάλυμα θεικού οξέος  $c(\text{H}_2\text{SO}_4)=2\text{mol/l}$  (2M)
- 4.15. Μείγμα αιθανόλης/ύδατος

Αναμειγνύονται 9 όγκοι αιθανόλης (4.2) με 1 όγκο νερού.

- 4.16. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου

Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,25 γραμμάρια 4-υδροξυβενζοϊκού ισοπροπυλεστέρα (4.8), μεταφέρονται σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml, διαλύονται με μείγμα αιθανόλης/νερού (4.15) και συμπληρώνεται η φιάλη μέχρι τη χαραγή.

- 4.17. Κινητή φάση: μείγμα τετραϋδροφουρανίου/νερού/μεθανόλης/ακετονιτριλίου

Αναμειγνύονται 5 όγκοι τετραϋδροφουρανίου, 60 όγκοι νερού, 10 όγκοι μεθανόλης και 25 όγκοι ακετονιτριλίου.

- 4.18. Μητρικό διάλυμα συντηρητικού

Ζυγίζονται με ακρίβεια περίπου 0,2 g 2-φαινοξυαιθανόλης, 0,2 g 1-φαινοξυπροπαν-2-όλης, 0,05 g 4-υδροξυμεθυλεστέρα, 0,05 g 4-υδροξυαιθυλεστέρα, 0,05 g 4-υδροξυπροπυλεστέρα, 0,05 g 4-υδροξυβουτυλεστέρα και 0,025 g 4-υδροξυβενζυλεστέρα σε ογκομετρική φιάλη 100 ml, διαλύονται και συμπληρώνεται η φιάλη ως τη χαραγή με μείγμα αιθανόλης/νερού.

Το διάλυμα διctηρείται στο ψυγείο και είναι σταθερό για μία εβδομάδα.

- 4.19. Πρότυπα διαλύματα συντηρητικών

Από το μητρικό διάλυμα (4.18) λαμβάνονται 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml και 1,00 ml και φέρονται σε ισορριθμες ογκομετρικές φιάλες των 50 ml. Σε κάθε φιάλη, προστίθενται 10,00 ml διαλύματος εσωτερικού προτύπου (4.16) και 1,0 ml διαλύματος θεικού οξέος (4.14) και συμπληρώνεται η φιάλη ως τη χαραγή με μείγμα αιθανόλης/νερού. Τα διαλύματα αυτά πρέπει να έχουν παρασκευασθεί πρόσφατα.

5. Εξοπλισμός

Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός, και

- 5.1. Υδατόλουτρο, ρυθμιζόμενο στους  $60 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .

5.2. Συσκευή υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης με ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας, μήκους κύματος 280 nm.

5.3. Στήλη:

Από ανοξειδωτο χάλυβα, μήκους 25 ή 12,5 cm, εσωτερικής διαμέτρου 4,6 mm που έχει πληρωθεί με Nucleosil 5C18, ή ανάλογο προσροφητικό υλικό (βλέπε 10.1).

5.4. Γυάλινοι σωλήνες των 100 ml με βιδωτό πώμα.

5.5. Σφαιρίδια βρασμού από ανθρακοπυρίτιο, μεγέθους 2-4 mm, ή ανάλογα.

6. Διαδικασία

6.1. Προετοιμασία δείγματος

6.1.1. Προετοιμασία δείγματος χωρίς προσθήκη εσωτερικού προτύπου

Ζυγίζεται περίπου 1,0 g δείγματος σε γυάλινο σωλήνα 100 ml με βιδωτό πώμα. Στο γυάλινο σωλήνα φέρονται με σιφώνιο 1,0 ml διαλύματος θειικού οξέος (4.14) και 50,0 ml μείγματος αιθανόλης/νερού (4.15).

Προστίθενται περίπου 1 g σφαιρίδια βρασμού (5.5), κλείνεται ο σωλήνας και ανακινείται ζωηρά έως ότου επιτευχθεί ομοιογενές εναιώρημα.

Ανακινείται τουλάχιστον για 1 λεπτό. Ο σωλήνας τοποθετείται επί 5 λεπτά σε υδατόλουτρο (5.1) που έχει ρυθμισθεί στους  $60 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$  για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των συντηρητικών στη φάση της αιθανόλης.

Ο σωλήνας ψύχεται αμέσως με τρεχούμενο νερό και το εκχύλισμα τοποθετείται στο ψυγείο επί μία ώρα. Ακολουθεί διήθηση του εκχυλίσματος με διηθητικό χαρτί. Περίπου 2 ml του διηθήματος μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα των 5 ml. Το εκχύλισμα φυλάσσεται στο ψυγείο και πραγματοποιείται ο ποσοτικός προσδιορισμός με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εντός 24 ωρών από την παρασκευή του.

6.1.2. Προετοιμασία δείγματος με προσθήκη εσωτερικού προτύπου

Ζυγίζονται με ακρίβεια τριών δεκαδικών ψηφίων  $1,0 \pm 0,1$  g δείγματος (a gr) σε σάλινο σωλήνα των 100 ml με βιδωτό πώμα.

Μεταφέρονται με σιφώνιο 1,0 ml διαλύματος θειικού οξέος και 40,0 ml μείγματος αιθανόλης/νερού στο σωλήνα. Προστίθενται περίπου 1 g σφαιρίδια βρασμού και ακριβώς 10,00 ml εσωτερικού προτύπου διαλύματος. Κλείνεται ο σωλήνας και ανακινείται ζωηρά έως ότου επιτευχθεί ομοιογενές εναιώρημα. Ανακινείται τουλάχιστον για 1 λεπτό. Τοποθετείται ο σωλήνας επί 5 λεπτά σε υδατόλουτρο που έχει ρυθμισθεί στους  $60 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$  για τη να διευκόλυνση της εκχύλισης των συντηρητικών στη φάση της αιθανόλης.

Ο σωλήνας ψύχεται αμέσως με τρεχούμενο νερό και το εκχύλισμα φυλάσσεται στο ψυγείο επί μία ώρα. Ακολουθεί διήθηση του εκχυλίσματος με διηθητικό χαρτί.

Περίπου 2 ml του διηθήματος μεταφέρονται σε δοκιμαστικό σωλήνα των 5 ml (συγκριτικό διάλυμα). Το εκχύλισμα φυλάσσεται στο ψυγείο και πραγματοποιείται ο ποσοτικός προσδιορισμός με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εντός των επομένων 24 ωρών.

## 6.2. Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης

### 6.2.1. Συνθήκες χρωματογραφίας

- Κινητή φάση: μείγμα τετραϋδροφουράνιου/νερού/μεθανόλης/ακετονιτριλίου (4.17)
- Ταχύτητα ροής: 1,5 ml/λεπτό
- Μήκος κύματος ανίχνευσης: 280 nm

### 6.2.2. Βαθμονόμηση

Εισάγονται (στον υγρό χρωματογράφο) 10 μl από κάθε πρότυπο διάλυμα συντηρητικών (4.19). Από τα λαμβανόμενα χρωματογραφήματα προσδιορίζονται οι λόγοι των υψών των κορυφών που αντιστοιχούν στα πρότυπα διαλύματα των συντηρητικών, προς το ύψος της κορυφής που αντιστοιχεί στο εσωτερικό πρότυπο. Για κάθε συντηρητικό σχεδιάζεται η καμπύλη που παριστά τους λόγους αυτούς συναρτήσει της συγκεντρώσεως κάθε προτύπου διαλύματος.

### 6.2.3. Προσδιορισμός

Εισάγονται στον υγρό χρωματογράφο 10 μl του διαλύματος του δείγματος χωρίς εσωτερικό πρότυπο (6.1.1) και καταγράφεται το χρωματογράφημα. Εισάγονται 10 μl προτύπου διαλύματος συντηρητικών (4.19) και καταγράφεται το χρωματογράφημα. Συγκρίνονται τα δύο χρωματογραφήματα.

Εάν στο χρωματογράφημα του εκχυλίσματος του δείγματος (6.1.1) δεν εμφανίζεται κορυφή με τον ίδιο περίπου χρόνο κατακράτησης όπως ο 4-υδροξυβενζοϊκός ισοπροπυλεστέρας (το συνιστώμενο εσωτερικό πρότυπο), εισάγονται στον χρωματογράφο 10 μl διαλύματος δείγματος με εσωτερικό πρότυπο (6.1.2). Καταγράφεται το χρωματογράφημα και μετρώνται τα ύψη των κορυφών.

Αν στο χρωματογράφημα του διαλύματος του δείγματος παρεμβάλλεται κορυφή που έχει τον ίδιο περίπου χρόνο κατακράτησης όπως ο 4-υδροξυβενζοϊκός ισοπροπυλεστέρας θα πρέπει να επιλεγεί ένα άλλο εσωτερικό πρότυπο.

Εάν κάποιο από τα υπό εξέταση συντηρητικά δεν εμφανίζεται στο χρωματογράφημα του δείγματος, το συντηρητικό αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτικό εσωτερικό πρότυπο.

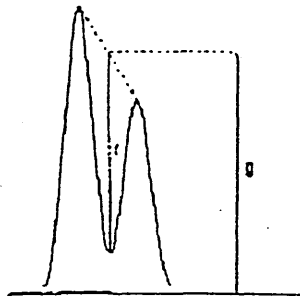
Υπολογίζονται οι λόγοι των υψών των κορυφών των υπό εξέταση συντηρητικών προς το ύψος της κορυφής του εσωτερικού προτύπου.

Εξακριβώνεται ότι η καμπύλη που λαμβάνεται για τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιούνται στη διαδικασία βαθμονόμησης είναι γραμμική.

Εξακριβώνεται ότι τα χρωματογραφήματα που λαμβάνονται από το πρότυπο διάλυμα και το διάλυμα δείγματος πληρούν τις ακόλουθες απαιτήσεις:

- ο διαχωρισμός των κορυφών προκειμένου για το ζεύγος κορυφών με τον ασαφέστερο διαχωρισμό είναι τουλάχιστον 0,90 (για τον ορισμό του διαχωρισμού των κορυφών, βλέπε σχήμα 1).

Διαχωρισμός κορυφών ( $\rho$ )  
 $\rho = t/g$



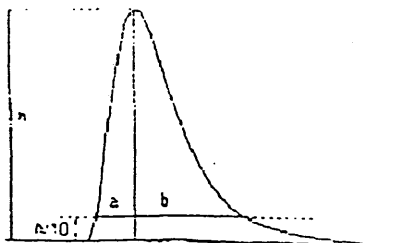
Σχήμα 1: Διαχωρισμός κορυφών

Εάν δεν επιτυγχάνεται ο απαιτούμενος διαχωρισμός, θα πρέπει είτε να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικότερη στήλη είτε να ρυθμιστεί η σύνθεση της κινητής φάσης, έτσι ώστε να ικανοποιείται η απαίτηση.

- ο συντελεστής ασυμμετρίας  $A_s$  για όλες τις λαμβανόμενες κορυφές κυμαίνεται μεταξύ 0,9 και 1,5 (για τον ορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας κορυφών, βλέπε σχήμα 2). Κατά την καταγραφή του χρωματογραφήματος για τον προσδιορισμό του συντελεστή ασυμμετρίας, συνιστάται ταχύτητα χαρτιού 2 cm/λεπτό τουλάχιστον

Συντελεστής ασυμμετρίας ( $A_s$ )

$$(A_s) = b/a$$



Σχήμα 2: Συντελεστής ασυμμετρίας κορυφής

- πρέπει να λαμβάνεται σταθερή γραμμή βάσης.

## 7. Υπολογισμός

Χρησιμοποιείται η καμπύλη βαθμονόμησης (6.2.2) και οι λόγοι των υψών των κορυφών των υπό εξέταση συντηρητικών σε σχέση με το ύψος της κορυφής του εσωτερικού προτύπου για να υπολογισθεί η συγκέντρωση των συντηρητικών στο διάλυμα δείγματος. Υπολογίζονται οι περιεκτικότητες των 2-φαινοξυαιθανόλη, 1-φαινοξυπροπαν-2-όλη, 4-υδροξυβενζοϊκού μεθυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού αιθυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού προπυλεστέρα, 4-υδροξυβενζοϊκού βουτυλεστέρα και 4-υδροξυβενζοϊκού βενζυλεστέρα, w<sub>i</sub>, σε εκατοστιαία αναλογία κατά μάζα (% m/m) χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$\% w_i \text{ (n/n)} = \frac{b_i}{200 \times a}$$

όπου:

b<sub>i</sub> = η συγκέντρωση (μg/ml) του συντηρητικού i στο υπό εξέταση διάλυμα όπως προκύπτει από την καμπύλη βαθμονόμησης, και

a = η μάζα (g) του δείγματος δοκιμής (6.1.2).

## 8. Επαναληψιμότητα (1)

Βλέπε παρατηρήσεις 10.5

## 9. Αναπαραγωγιμότητα (2)

Βλέπε παρατηρήσεις, 10.5

## 10. Παρατηρήσεις

### 10.1. Στάσιμη φάση

Η συμπεριφορά κατακράτησης των διαλυμένων ουσιών κατά τους ποσοτικούς προσδιορισμούς με γρήγη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης εξαρτάται από τη μορφή, τον τύπο και το ιστορικό της στάσιμης φάσης. Συμπέρασμα για τα κατά πόσον μία στήλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό των υπό εξέταση συντηρητικών, μπορεί να συναχθεί από τα αποτελέσματα που λαμβάνονται κατά την εξέταση των προτύπων διαλυμάτων (βλέπε παρατηρήσεις 6.2.3). Εκτός από το προτεινόμενο υλικό πλήρωσης της στήλης, τα Hypersil ODS και Zorbax ODS κρίθηκαν επίσης κατάλληλα.

Εναλλακτικά, η προτεινόμενη σύνθεση κινητής φάσης μπορεί να τροποποιηθεί με στόχο να ληφθεί ο απαιτούμενος διαχωρισμός.

#### 10.2. Μήκος κύματος ανίχνευσης

Η δοκιμή ανθεκτικότητας της περιγραφόμενης μεθόδου έχει δείξει ότι μία μικρή μεταβολή του μήκους κύματος ανίχνευσης μπορεί να έχει σημαντική επίπτωση στα αποτελέσματα του προσδιορισμού.

Ως εκ τούτου, η παράμετρος αυτή πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.

#### 10.3. Παρεμβολές

Στις συνθήκες που περιγράφονται στην παρούσα μέθοδο εκλούνται επίσης πολλά άλλα συστατικά, όπως συντηρητικά και πρόσθετα καλλυντικών. Οι χρόνοι κατακρήνησης μεγάλου αριθμού συντηρητικών που αναφέρονται στο Παράρτημα VI του Νόμου παρατίθενται στο N. de Kluif, A., Schouten, M.A.H. Rijk και L.A. Pranato-Soetardhi (1989) Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (J. Chromatography 469, 317-398).

#### 10.4. Για την προστασία της στήλης μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατάλληλη προστήλη.

#### 10.5. Η μέθοδος έχει ερευνηθεί σε διεργαστηριακή δοκιμασία στην οποία συμμετείχαν 9 εργαστήρια. Αναλύθηκαν τρία δείγματα. Στον κάτωθι πίνακα αναφέρονται, για κάθε ένα από τα τρία δείγματα, ο μέσος όρος σε % m/m (m), η επαναληψιμότητα (r) και η αναπαραγωγιμότητα (R), που προσδιορίστηκαν για τις ουσίες που περιέχονταν.

Δείγμα		2-φαινοξυαιθανόλη	1-σαινολυπροπάν-2-όλη	Methylparaben	Ethylparaben	Propylparaben	Butylparaben	Benzylparaben
Βιταμινούχος Κρέμα	m	1.124		0.250	0.0628	0.031	0.0956	
	R	0.016		0.013	0.0035	0.0023	0.0044	
	r	0.176		0.030	0.0068	0.0111	0.0034	
Κρέμα καθαρισμού	m	1.196		0.266	0.076			
	R	0.040		0.013	0.002			
	r	0.147		0.032	0.004			
Κρέμα μελάσης	m		0.305			0.180	0.146	0.152
	R		0.067			0.034	0.013	0.015
	r		0.112			0.073	0.012	0.016

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ VIII

(Παράρτημα Ι)

Ο ΠΕΡΙ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΝΟΜΟΣ ΤΟΥ 2001

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

Προς: .....

Εγώ ο υπογραφόμενος .....

πιστοποιώ ότι παρέλαβα την ..... ημέρα του ....., 20.....,

από .....

ένα δείγμα για ανάλυση (το οποίο μετά ζυγίστηκε..... )

Είμαι της γνώμης ότι το ίδιο είναι δείγμα γνησίου

ή

Είμαι της γνώμης ότι το εν λόγω δείγμα περιέχει τα μέρη ως κατωτέρω, ή την εκατοστιαία αναλογία των ξένων συστατικών ως κατωτέρω:

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

Σαν μάρτυρας η υπογραφή μου την ..... ημέρα του ....., 20....

.....  
Κυβερνητικός Χημικός.