

Väljaandja:	Sotsiaalminister
Akti liik:	määrus
Teksti liik:	tervikekst
Redaktsiooni jõustumise kp:	01.06.2002
Redaktsiooni kehtivuse lõpp:	31.08.2025
Avaldamismärge:	

Kosmeetikavahendite terviseohutuse kontrollimine

[RTL 2002, 54, 791- jõust. 06.05.2002]

Vastu võetud 23.12.1999 nr 91

RTL 2000, 22, 302

jõustumine 19.02.2000

Muudetud järgmiste aktidega

Vastuvõtmine	Avaldamine	Jõustumine
24.04.2002	RTL 2002, 54, 791	06.05.2002

«Rahvatervise seaduse» (RT I 1995, 57, 978; 1996, 3, 56; 49, 953; 1997, 37/38, 569; 1999, 30, 415; 88, 804) paragrahvi 8 lõike 2 punkti 13 alusel ja arvestades Euroopa Ühenduste Nõukogu direktiivi 76/768/EMÜ (EÜT L 262, 27.09.76) ning Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiive 80/1335/EMÜ (EÜT L 383, 31.12.80), 82/434/EMÜ (EÜT L 185, 30.06.82), 83/514/EMÜ (EÜT L 291, 24.10.83), 85/490/EMÜ (EÜT L 295, 07.11.85), 87/143/EMÜ (EÜT L 57, 27.02.87), 90/207/EMÜ (EÜT L 108, 28.04.90), 93/73/EMÜ (EÜT L 231, 14.09.93), 95/32/EÜ (EÜT L 178, 28.07.95), 96/45/EÜ (EÜT L 213, 22.08.96) sotsiaalminister määrab:

1. Kosmeetikatoodete terviseohutust hinnatakse:

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

- 1) Vabariigi Valitsuse 26. novembri 1997. a määrusega nr 228 (RT I 1997, 94, 1570; 1999, 37, 479) kehtestatud kohustusliku infopanga andmete kontrollimise alusel ja
- 2) kosmeetikatoodete koostisele kehtestatud nõuete ja kosmeetikatoodetest võetud proovide laboratoorse analüüsi tulemuste võrdlemise alusel.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Käesolev määrus kehtestab kosmeetikatoodete terviseohutuse kontrollimiseks (edaspidi kontrollimiseks) proovide võtmise, nende pakendamise, märgistamise, säilitamise, analüüside tegemise ning sellekohaste dokumentide koostamise korra.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

3. Käesolevas määruses kasutatakse järgmisi mõisteid:

- 1) tootepakend (ingl *container*) – pakend, mis sisaldab kosmeetikatooteid ja on kosmeetikatoodetega vahetus ja pidevas kontaktis;

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

- 2) valim (ingl *basic sample*) – müügiks ettenähtud partiist analüüsiks võetud tootepakend või kosmeetikatoote kogus;

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

- 3) koondproov (ingl *total sample*) – ühesuguste partiinumbritega valimite kogusumma;
- 4) laboriproov (ingl *laboratory sample*) – koondproovist võetud kogus analüüsiks ühes konkreetses laboris;
- 5) katsekogus (ingl *test portion*) – laboriproovist võetud kogus, mis on vajalik vahetuks analüüsiks;
- 6) vastuproov – proov, mis võetakse proovivõtja poolt omaniku nõudel ja samade nõuete kohaselt kui koondproov ja mis jääb omaniku käsutusse.

4. Proovi võtmise õigus on asjakohase ettevalmistusega spetsialistil (edaspidi proovivõtja). Proovi võetakse tootmise ja turustamise käigus ning ilu- ja isikuteenindustevõtetes.

5. Proovi võetakse juhusliku valiku teel tootja enesekontrolli või riikliku järelevalve kava alusel ning erakorraliselt järelevalve ajal avastatud nõuetele mittevastavuse, tekkinud kahtluse või esitatud kaebuse korral.

6. Proovivõtja võtab proovi toote omaniku, haldaja, valdaja, nende ametlikult volitatud esindaja (edaspidi toote esindaja) või nimetatud isikute mittekohaloleku korral kahe tunnistaja juuresolekul.

7. Proovivõtja lepib enne proovi võtmist laboriga kokku proovide arvu ja koguse, vajalike analüüside, proovivõtu täpsete juhiste ning proovide üleandmise aja suhtes.

8. Proovivõtja tagab proovi säilitamise, transportimise ja laborile üleandmise.

9. Proovivõtja vormistab kahes eksemplaris proovivõtu protokoll, millest üks jääb toote esindajale ja teine proovivõtjale või järelevalveametnikule.

10. Protokollis peavad olema järgmised andmed:

- 1) proovivõtja asutus –nimi, registreerimisnumber, aadress, telefon;
- 2) proovivõtukoht (asutuse/ettevõtte nimi, aadress, registreerimisnumber, vajadusel täpsustada ettevõtluse liik: tootmine, hulgimüük, jaemüük, iluteenus jt);
- 3) proovivõtu kuupäev ja kellaaeg;
- 4) protokoll number;
- 5) toote juriidilisest isikust esindaja asutuse/ettevõtte nimi, aadress, registreerimisnumber, telefon või toote füüsilisest isikust esindaja ees- ja perekonnanimi, isikukood/sünniaeg, elukoht, telefon;
- 6) toote (millest võetakse proov) nimetus, tootjat identifitseerivad andmed;
- 7) proovivõtu põhjus –plaaniline, kaebuse alusel, kahtluse korral jms;
- 8) toote hoiutingimuste kirjeldus (koht ruumis, temperatuur);
- 9) toote valmistamise aeg ja minimaalne säilitusaeg;
- 10) partii suurus –hangitud kogus ja olemasolev kogus;
- 11) prooviks võetud tootepakendite arv või kosmeetikatoote kogus;

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

12) võetud proovi maksumus toote esindaja poolt kehtestatud hinnakirja alusel;

13) selgitused proovi säilitamise, transportimistingimuste, proovijääkide tagastamise kohta jms;

14) proovile antud tunnuskoode;

15) proovivõtja nimi (trükitähtedega) ja allkiri;

16) toote esindaja või tunnistajate nimed (trükitähtedega) ja allkirjad.

11. Kosmeetikatoode võetakse prooviks võimaluse korral originaalpakendis ja saadetakse laborisse avamata. Kui kosmeetikatoode on pakendatud suuremahulisse tootepakendisse, võib prooviks vajaliku koguse kosmeetikatoode võtta proovivõtja nõusse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

12. Proovivõtnõu ja -vahendid peavad vastama asjaomase analüüsimeetodi nõuetele.

13. Koondproovist moodustatakse kaks paralleelset laboriproovi.

14. Iga proov varustatakse proovivõtukohas vee- ja kulumiskindla tunnuskoodiga, mis kantakse protokoll.

15. Võetud proovid peavad olema pakendatud selliselt, et oleks tagatud nende säilivus. Pakend plommitakse või pitseeritakse proovivõtja poolt.

16. Proovi hoitakse märgistusel või saatedokumentidel esitatud tingimuste kohaselt. Kui toote märgistusele või saatedokumentidele ei ole märgitud säilitustingimusi, siis hoitakse proovi pimedas ja temperatuuril 10–25 C.

17. Proovi üleandmiseks laborile koostab proovivõtja saatekirja, mille koopia jääb proovivõtjale.

18. Saatekirjas peavad olema järgmised andmed:

- 1) saatekirja number ja proovivõtu protokoll number;
- 2) proovivõtja asutuse nimi;
- 3) proovivõtja nimi, ametikoht ja kontaktandmed;
- 4) proovi nimetus ja tunnuskoode;
- 5) proovivõtu kuupäev ja kellaaeg;
- 6) prooviks võetud tootepakendite arv või kosmeetikatoote kogus;

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

7) tellitud näitajate loetelu;

8) selgitused proovijääkide ja paralleelproovi tagastamise kohta omanikule;

9) proovi üleandja nimi, allkiri;

10) proovi laborile üleandmise aeg;

11) labori nimetus, asukoht, telefon;

- 12) proovi vastuvõtja nimi (trükitähtedega), allkiri;
- 13) proovi seisund vastuvõtmisel;
- 14) laboris proovile antud kood.

19. Proovi vastuvõtmisel laboris hinnatakse proovi seisundit, puutumatust ja vastavust saatekirjale.

20. Laboril on õigus keelduda proovi vastuvõtmisest, kui kinnipitseeritud proovide pakend on avatud, kahjustatud või muul viisil ei ole kinni peetud säilitamis- ja transportimistingimustest. Keeldumise korral koostatakse asjakohane akt ning informeeritakse sellest proovivõtjat.

21. Proov valmistatakse laboris mikrobioloogiliseks uuringuks ette lisas 1 kehtestatud korras. Mikrobioloogilised uuringud tehakse lisas 2 kirjeldatud meetodite kohaselt.

22. Proov valmistatakse laboris keemiliseks analüüsiks ette lisas 3 kehtestatud korras. Keemilised analüüsid tehakse lisades 4–39 kirjeldatud määramismeetodite kohaselt.

23. Kui kosmeetikatoote nõuetekohasuse hindamiseks puuduvad käesoleva määruse lisades määramismeetodid, siis kasutatakse teaduslikult põhjendatud ja rahvusvahelistele nõuetele vastavaid meetodeid.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

24. Laborisisesed ja laboritevahelised korratavuse ja reprodutseeritavuse katsed viiakse läbi ISO 5725 järgi.

25. Labor väljastab katseprotokolli tellijale või järelevalveametnikule analüüsi lõpetamisele järgneval tööpäeval.

26. Analüüsi tegemisel järelejäänud proovijääke ja paralleelproove säilitatakse laboris analüüsitulemuste vaidlustamise tähtaja lõppemiseni «Rahvatervise seaduse» paragrahvi 17 kohaselt või toote realiseerimisaja lõppemiseni.

27. Järelevalveametnik teavitab laborit analüüsitulemuste vaidlustamisest ja vaidlustamise tähtaegadest.

28. Järelevalveametnik teeb kosmeetikatoote terviseohutuse kohta otsuse hiljemalt kolmandal tööpäeval pärast katseprotokolli saamist. Kirjalikult vormistatud otsus väljastatakse toote esindajale järgmisel tööpäeval.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Minister Eiki NESTOR

Kantsler Hannes DANILOV

Lisa 1
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KATSEKOGUSE ETTEVALMISTAMINE MIKROBIOLOOGIALABORIS

1. ÜLDOSA

1.1. Võimaluse korral analüüsida iga valimit eraldi. Kui ühe valimi kogus on analüüsiks liiga väike, siis võtta mikrobioloogiliseks uurimiseks vajaliku koguse saamiseks vähim võimalik arv valimeid, mis ühendada aseptika nõudeid arvestades koondprooviks ja segada hoolikalt läbi.

1.2. Enne kosmeetikatoote tootepakendi või proovinõu avamist desinfitseerida avamiskoht kas leegi või piiritusega, avada ja võtta steriilsete töövahenditega aseptika nõudeid arvestades uurimiseks vajalik kogus kosmeetikatoodeid. Võetud katsekoguse uurimist alustada kohe.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.3. Kui esialgselt homogeenne toode on kihistunud, siis tuleb ta enne katsekoguse võtmist homogeniseerida. Kreeme, salve ja teisi pooltahkeid või tahkeid kosmeetikatoodeid võib vajadusel eelnevalt soojendada proovinõus veevannil 23–28 °C juures. Lasta jahtuda toatemperatuurini perioodiliselt segades.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.4. Kui kosmeetikatoode turustatakse sellisel kujul või viisil, et teda ei saa käsitleda antud juhendi kohaselt, siis kasutada proovivõtul selleks sobivat protseduuri, mille täpne kirjeldus lisada analüüsi aruandesse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. VEDELA KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.1. Vedel kosmeetikatoode võib esineda õli-, alkoholi- või vesilahusena (tualettvesi, losjoon, piim jt) ja üldjuhul on see pakendatud pudelisse, ampulli või tuubi.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.2. Katsekoguse võtmine:

- 2.2.1. raputada tootepakendit või proovinõud energiliselt;
- 2.2.2. desinfitseerida avamiskoht ja selle ümbrus;
- 2.2.3. avada pakend laminaarboksis või leegi juures;
- 2.2.4. võtta aseptiliselt vajalik katsekogus ja sulgeda tootepakend või proovinõu.

3. POOLTAHKE KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

3.1. Pooltahke kosmeetikatoode võib esineda pasta, kreemi, salvi, emulsiooni või geelina ja üldjuhul on see pakendatud tuubi, pudelisse või purki.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

3.2. Katsekoguse võtmine peene kaelaga tootepakendist:

- 3.2.1. tootepakendi suue puhastada;
- 3.2.2. desinfitseerida pakendi suue;
- 3.2.3. avada pakend laminaarboksis või leegi juures;
- 3.2.4. eemaldada toote pealt ligikaudu 1 cm paksune kiht;
- 3.2.5. võtta aseptiliselt vajalik katsekogus ja sulgeda tootepakend.

3.3. Katsekoguse võtmine laia kaelaga tootepakendist:

- 3.3.1. tootepakendi suue puhastada;
- 3.3.2. desinfitseerida suudme piirkond;
- 3.3.3. avada pakend laminaarboksis või leegi juures;
- 3.3.4. eemaldada steriilse töövahendiga kaapides ligikaudu 1 cm paksune kiht;
- 3.3.5. võtta aseptiliselt vajalik katsekogus ja sulgeda tootepakend.

4. TAHKE KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

4.1. Tahke kosmeetikatoode on tolmpuuder, kompaktpuuder, pulkdeodorant, huulepulk või mõni teine tahke toode, mis võib olla pakendatud erinevasse tootepakendisse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

4.2. Katsekoguse võtmine tolmpuudrist:

- 4.2.1. enne avamist toodet hoolega raputada;
- 4.2.2. desinfitseerida tootepakendi avamiskoht;
- 4.2.3. avada tootepakend laminaarboksis või leegi juures;
- 4.2.4. võtta aseptiliselt katsekogus.

4.3. Katsekoguse võtmine kompaktpuudrist või teisest tahkest kosmeetikatoodetest:

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

- 4.3.1. desinfitseerida tootepakendi avamiskoht;
- 4.3.2. avada tootepakend laminaarboksis või leegi juures;
- 4.3.3. steriilsete töövahenditega eemaldada pealmine kiht võimaluse korral kuni 1 cm paksuselt;
- 4.3.4. aseptiliselt võtta katsekogus alumisest kihist ja sulgeda tootepakend.

5. SURVEPAKENDIS KOSMEETIKATOOTE (AEROSOOLTOOTE) ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5.1. Enne tootepakendi avamist toodet tugevasti raputada, et erinevad faasid seguneksid.

5.2. Katsekoguse võtmine:

5.2.1. desinfitseerida survepakendi aerosooklapp ja selle ümbrus;

5.2.2. aseptiliselt pihustada (vajadusel sobiva ühenduslülili kaudu) katsekogus vahepudelisse;

5.2.3. sulgeda vahepudel tihedasti steriilse korgiga.

Lisa 2
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KOSMEETIKATOODETE MIKROBIOLOOGILISE UURIMISE MEETODID

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1. ÜLDOSA

1.1. Kosmeetikatoode kvaliteedi mikrobioloogilisel uurimisel tuleb määrata vähemalt järgmised näitajad:

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.1.1. mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide üldarvu määramine kasvatamise teel;

1.1.2. *Enterobacteriaceae* esinemine;

1.1.3. *Pseudomonas aeruginosa* esinemine;

1.1.4. *Staphylococcus aureus* 'e esinemine;

1.1.5. *Candida albicans* 'i esinemine.

1.2. Mikrobioloogilise uurimise käigus tuleb:

1.2.1. vältida uuritava materjali kõrvalist saastumist mikroorganismidega, mis mõjutaks määramise tulemusi;

1.2.2. vältida toote antimikroobsete omaduste mõju avaldumise analüüsi tulemustele uuritava materjali

lahjendamise, neutraliseerimise või filtreerimise abil;

1.2.3. mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide arvu määramiseks kasutada söötme sisse külvamise tehnikat, söötme pinnale külvamist või filtrimist järgneva membraanide söötmel kasvatamisega;

1.2.4. mikroorganismide eri liike identifitseerida valiksöötmetele külvamise meetoditega.

1.3. Materjalid ja reaktiivid

1.3.1. Lahjendusvedeliku ja söötmete valmistamisel tuleb kasutada koostiselt ühtlase kvaliteedi ja analüütilise puhtusega kemikaale. Kasutatav vesi peab olema destilleeritud klaasseadmes või desioniseeritud ja vaba ainetest, mis võivad pidurdada mikroorganismide kasvu katsetingimustes. Vesi peab vastama ISO 3696 järgi 3. astme nõuetele. Dehüdreeritud söötmete kasutamisel tuleb kinni pidada tootja juhenditest. Söötmete kvaliteeti tuleb kontrollida vastavalt mikrobioloogialabori kvaliteedi tagamise nõuetele (ISO 17025).

1.3.2. Lahjendusvedelikuna kasutada peptoonsoola puhverlahust (pH 7,0).

1.3.3. Vajaduse korral lisada sobivat neutraliseerimisvedelikku, näiteks polüsorbaati 20 või 80, letsitiini, tiosulfaati jt.

1.3.4. Söötmetena kasutada mikroobide arvu loendamise agarit (*Plate count agar*), violettpunase sapiagarit glükoosiga (VRB), *Sabouraud*-dekstroosi agarit, tsetrimiidi-nalidikshappega pseudomonaadide agarit (*CN-agar*) ja *Baird-Parker*-i agarit.

1.4. Laboriseadmed ja klaastarvikud:

1.4.1. homogenisaator (stomahher) ja sobivad steriilsed plastikkotid;

1.4.2. veevann, 45±1 °C;

1.4.3. inkubaator, 30±1 °C;

1.4.4. inkubaator, 37±1 °C;

1.4.5. inkubaator, 25±1 °C;

1.4.6. pH-meeter;

1.4.7. autoklaav;

1.4.8. gradueeritud pipetid;

1.4.9. Petri tassid;

1.4.10. kolvid või pudelid;

1.4.11. katseklaasid;

1.4.12. pesade loendaja;

1.4.13. kuumõhukapp nõude steriliseerimiseks;

1.4.14. filtrimiseseade vaakumpumba ja steriilsete membraanidega.

1.5. Mikrobioloogiliseks uurimiseks tuleb võtta vähemalt 1 g või 1 ml (täpselt mõõdetud) kosmeetikatoode, vajaduse korral ühendada aseptiliselt mitu tootepakendit.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.6. Lahustada või lahjendada katsekogus sobivas neutraliseerimisvedelikus vahekorras 1:10. Halvasti märguvate ainete puhul võib lisada sobiva pindaktiivse aine, nt polüsorbaat 80 lahust (1 g/l).

1.7. Vajaduse korral võib algsuspensioonist sama lahjendusvedelikuga valmistada kümnendlahjendused (vastavalt *ISO 6887-1983 Microbiology – General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination*), et vähendada toote antimikroobset toimet või hõlbustada 10–100 pesa loendamist.

2. MEETODID

2.1. Mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide, *Candida albicans* 'i või seente arvu määramine filtrimismeetodil:

2.1.1. Kasutada membraanfiltreid pooride läbimõdduga mitte üle 0,45 µm. Teha kaks paralleelset uuringut. Filtri lehrisse viia 0,1 g katsekogusele vastav uuritav lahjendus ja filtrida kohe. Järgnevalt filter loputada steriilse pesemislahusega, et otsitavad mikroorganismid jaguneksid ühtlaselt.

2.1.2. Membraan asetada Petri tassi söötme pinnale nii, et membraani ja söötme vahele ei jääks õhumullikesi.

2.1.3. Mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide arvu määramiseks inkubeerida vastava söötmega Petri tasse 30±1 °C juures kolm ööpäeva ja seente määramiseks *Sabouraud*-dekstroosi agariga Petri tasse 25±1 °C juures viis ööpäeva. Inkubeerimisaega võib lühendada juhul, kui on võimalik saada usaldusväärseid tulemusi juba varem.

2.1.4. Loendada väljakasvanud pesad.

2.1.5. Arvutada uuritud mikroorganismide arv kosmeetikatoote kaalu- või mahuühikus.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.2. Mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide, *Candida albicans* 'i või seente arvu määramine söötme sisse külvamise (*plate count*) meetodil:

2.2.1. Steriilse pipetiga viia 1 ml lahjendamata homogenaati või selle kümnendlahjendust tühja steriilse Petri tassi põhja. Alustada kõige suuremast valitud lahjendusest ja jätkata madalamate lahjenduste suunas. Sama pipetiga võib analoogselt teha külvid kõigist lahjendustest.

2.2.2. Kõikidesse Petri tassidesse valada 15 min jooksul 15–20 ml vastavat söödet, mille temperatuur on 45±1 °C. Kohe pärast söötme pealevalamist segada ringliigutustega Petri tasside sisu hoolikalt kellaosuti liikumise suunas ja vastupidi.

2.2.3. Ülalkirjeldatu asemel võib kasutada ka teist meetodit: viia 0,1 ml katsekogusest või selle kümnendlahjendusest Petri tassi vastava söötme pinnale ja ajada seal klaasspaatliga ühtlaselt laiali üle kogu söötme pinna.

2.2.4. Mesofiilsete aeroobsete mikroorganismide määramise Petri tasse inkubeerida 30±1 °C juures kolm ööpäeva ja seente määramise tase 25±1 °C juures viis ööpäeva. Inkubeerimisaega võib lühendada juhul, kui on võimalik saada usaldusväärseid tulemusi juba varem.

2.2.5. Loendada väljakasvanud pesad.

2.2.6. Arvutada tulemus nende Petri tasside alusel, millel kasvas mesofiilseid aeroobseid mikroorganisme kuni 300 pesa või seeni kuni 100 pesa.

2.2.7. Tulemus väljendada uuritud mikroorganismide arvuna kosmeetikatoote kaalu- või mahuühikus.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.3. *Enterobacteriaceae* määramise meetod

2.3.1. Steriilse pipetiga viia 1 ml lahjendamata homogenaati või selle kümnendlahjendust tühja steriilse Petri tassi põhja. Alustada kõige suuremast valitud lahjendusest ja jätkata madalamate lahjenduste suunas. Sama pipetiga võib niimoodi teha külvid kõigist lahjendustest.

2.3.2. Kõikidesse Petri tassidesse valada 15 min jooksul umbes 15 ml VRB agarit, mille temperatuur on 45±1 °C. Ettevaatlikult ringliigutustega segada külvikogus söötmega ja lasta agaril tahkuda.

2.3.3. Kihitada tahkunud söötmele umbes 4 ml sama söödet ja lasta tahkuda.

2.3.4. Inkubeerida ümberpööratud Petri tasse 37±1 °C juures üks ööpäev.

2.3.5. Loendada kõik vähemalt 0,5-mm läbimõdduga tüüpilised pesad. Sugukonda *Enterobacteriaceae* kuuluvad bakterid moodustavad söötmes pretsipitatsioonivõõndiga või ilma selleta pesasid, mille värvus on roosast punaseni.

2.3.6. Uuringutulemuste kinnitamiseks teha oksüdaastest ja mikroskopeerida Grami järgi värvitud preparaat. *Enterobacteriaceae* sugukonda kuuluvad bakterid on gramnegatiivsed sirged kepikesed, mis ei moodusta eoside ega mikrotsüste. Nad on fakultatiivselt anaeroobid, oksüdaasnegatiivsed ja fermenteerivad glükoosi happe moodustamisega.

2.3.7. Arvutada tulemus kinnitamist leidnud pesade protsendina tassidel kasvanud pesade arvust vastavalt kasutatud lahjendusastmele.

2.3.8. Tulemus väljendada *Enterobacteriaceae* arvuna kosmeetikatoote kaalu- või mahuühikus.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.4. *Pseudomonas aeruginosa* avastamise meetodid

2.4.1. Katsekogus külvata tsetrimiidi-agarile punktides 2.1 või 2.2 kirjeldatud meetodika järgi.

2.4.2. Inkubeerida 37±1 °C juures kaks ööpäeva.

2.4.3. Loendada pesad. Tüüpilised pesad on lamedad, poolläbipaistvad ja värvunud rohekaskollasest kuni siniseni.

2.4.4. Nende kuuluvuse kinnitamiseks (pr EN ISO12780-1997 järgi) mikroskopeerida Grami järgi värvitud preparaate, teha oksüdaasest ja määrata võime moodustada pigmenti ja ammooniumi atsetamiidist. Vajadusel võib teha veel täiendavaid teste.

Pseudomonas aeruginosa on gramnegatiivne eosteta kepik, oksüdaas- ja katalaaspositiivne, tavaliselt moodustab vees lahustuvat pigmenti ja ammooniumi atsetamiidist.

2.4.5. Tulemus väljendatakse *Pseudomonas aeruginosa* esinemise või puudumisena kosmeetikatoote uuritud koguses.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.5. *Staphylococcus aureus*'e määramise meetodid

2.5.1. Katsekogus külvata *Baird-Parker*'i agarile punktides 2.1 või 2.2 kirjeldatud meetodika järgi.

2.5.2. Inkubeerida 37–1 °C juures kuni kaks ööpäeva. Tüüpilised pesad on mustad, läikivad, kumerad ja ümbritsetud kitsa läbipaistmatu võõndiga, mida ümbritseb omakorda kitsas läbipaistev võõnd, mis vahel ei ole hästi välja kujunenud.

2.5.3. Kinnitamiseks mikroskopeerida Grami järgi värvitud preparaate, määrata hemolüütilised omadused, teha katalaasi ja koagulaasi testid. Vajadusel võib teha täiendavaid teste. *Staphylococcus aureus*'e on grampositiivne kokk, mis on letsitinaas-, katalaas-, koagulaaspositiivne.

2.5.4. Tulemus väljendada *Staphylococcus aureus*'e esinemise või puudumisena kosmeetikatoote uuritud koguses.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.6. *Candida albicans*'i määramise meetod

2.6.1. Katsekogus külvata *Sabouraud*-dekstroosi söötmele punktides 2.1 või 2.2 kirjeldatud meetodika järgi.

2.6.2. Inkubeerida 25–1 °C juures viis päeva. Tüüpilised pesad on beežid, kreemjad ja kumerad.

2.6.3. Kinnitamiseks tuleb preparaate mikroskopeerida, vajadusel võib teha täiendavaid teste.

2.6.4. *Candida albicans*'i hulka kuuluvad pärmiseened, mis moodustavad klamüdospoore ja annavad positiivse *germ-tube*-testi.

2.6.5. Tulemus väljendada *Candida albicans*'i esinemise või puudumisena kosmeetikatoote uuritud koguses.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Lisa 3
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KATSEKOGUSE ETTEVALMISTAMINE KEEMIALABORIS

1. ÜLDOSA

1.1. Võimaluse korral analüüsida iga valimit eraldi. Kui valimi kogus on analüüsiks liiga väike, võtta nõutud koguse saamiseks vähim võimalik arv valimeid. Valimid ühendada koondprooviks ja enne katsekoguse võtmist segada hoolikalt läbi.

1.2. Kosmeetikatoote tootepakend avada ja katsekogus võtta viivitamatult pärast avamist. Kui keemilise analüüsi meetod seda nõuab, siis avada tootepakend inertgaasi keskkonnas. Proovi säilitamiseks sulgeda tootepakend inertgaasi keskkonnas.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.3. Võetud katsekogus tuleb analüüsida kohe.

1.4. Kosmeetikatoode valmistada analüüsiks ette tema algsel (vedelal, tahkel või pooltahkel) kujul. Kui algselt homogeenne toode on kihistunud, siis enne katsekoguse võtmist tuleb ta uuesti homogeniseerida.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.5. Kui kosmeetikatoode turustatakse sellisel kujul või viisil, ettedaei saa käsitleda antud juhendi kohaselt, siis kasutada proovivõtul selleks sobivat protseduuri, mille täpne kirjeldus lisada analüüsiaruandesse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. VEDELA KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.1. Vedel kosmeetikatoode esineb õli-, alkoholi- või vesilahusena (tualettvesi, losjoon, piim jt) ja üldjuhul on see pakendatud pudelisse, ampulli või tuubi.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2.2. Katsekoguse võtmine:

2.2.1. energiliselt raputada tootepakendit enne avamist;

2.2.2. avada tootepakend;

2.2.3. valada mõni milliliiter vedelikku visuaalseks uurimiseks katsutisse proovivõtutehnika täpsustamiseks;

2.2.4. võtta vajalik katsekogus ja sulgeda hoolikalt tootepakend.

3. POOLTAHKE KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

3.1. Pooltahke kosmeetikatoode esineb pasta, kreemi, emulsiooni või geelina ja on üldjuhul pakendatud tuubi, pudelisse või purki.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

3.2. Katsekoguse võtmine:

3.2.1. peene kaelaga tootepakendist: eemaldada pealt vähemalt 1 cm toodet, siis suruda välja katseks vajalik kogus ja kohe sulgeda tootepakend;

3.2.2. laia kaelaga tootepakendist: pinda ühtlaselt kaapides eemaldada pealmine kiht, võtta katsekogus ja kohe sulgeda tootepakend.

4. TAHKE KOSMEETIKATOOTE ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

4.1. Tahke kosmeetikatoode on tolmpuuder, kompaktpuuder, pulkdeodorant, huulepulk või mõni teine tahke toode, mis võib olla pakendatud erinevasse tootepakendisse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

4.2. Katsekoguse võtmine:

4.2.1. tolmpuudrist: energiliselt raputada tootepakendit enne avamist, seejärel avada ja võtta nõuetekohane katsekogus;

4.2.2. kompaktpuudrist või pulgakujulisest kosmeetikatooteist: ühtlaselt kaapides eemaldada pealmine kiht ja võtta katsekogus alumisest kihist.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5. SURVEPAKENDIS KOSMEETIKATOOTE (AEROSOOLTOOTE) ETTEVALMISTAMINE

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5.1. Katsekoguse võtmine

Survepakendi sisu esindav kogus kanda pärast tugevat raputamist sobiva ühenduslülil abil (joon 1, erijuhul võib analüüsimeetod nõuda teistsuguse ühenduslülil kasutamist) üle plastiga kaetud klaasist vahepudelisse. Vahepudel on varustatud aerosoolklapiga ilma sukeldustoruta. Katsekoguse ülekandmise ajal hoitakse pudelit klapiga allapoole, mis võimaldab tegevust visuaalselt kontrollida.

5.2. Analüüsimiseks võtta proov ühel järgmisest neljast viisist:

5.2.1. Kui aerosooltoode on homogeense lahusega valmis vahetuks analüüsiks, siis kanda vahepudelisse analüüsiks vajalik katsekogus.

5.2.2. Kui aerosooltoode koosneb kahest vedelfaasist, siis eraldada alumine faas teise vahepudelisse ning analüüsida mõlemad faasid eraldi. Ülekande ajal hoida esimest vahepudelit klapiga allapoole. Tihti on alumiseks faasiks vesilahus, mis ei sisalda propellenti (nt butaan/vesi).

5.2.3. Kui aerosooltoode sisaldab suspensioonis pulbrit, siis analüüsida toote vedelfaasi pärast pulbri eemaldamist.

5.2.4. Kui on tegemist vahulise või kreemitaolise kosmeetikatootelega, siis kaaluda kõigepealt vahepudelisse 5–10 g (täpsusega 10 mg) 2-metoksüetanolil, mis hoiab ära edasisel degaseerimisel vahu tekke ja võimaldab väljutada propellentgaasid vedelikku kaotamata.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5.3. Abivahendid

Ühenduslülil on tehtud duralumiiniumist või valgevasest selliselt, et polüetüleenistühenduslülil abil on teda võimalik ühendada erinevat tüüpi klappidega. Näiteks on toodud ühenduslülid joonisel 2 ja 3, kuid võib kasutada ka teisi ühenduslülisid. Värvitust klaasist vahepudel mahuga 50–100 ml on väljast kaetud läbipaistvast plastist kaitsekihiga. Pudel on varustatud sukeldustoruta aerosoolklapiga.

5.4. Meetod

Vahepudelist eemaldada õhk selleks, et sinna oleks võimalik üle kanda soovitud katsekogus kosmeetikatoode. Selleks juhtida ühenduslülil kaudu pudelisse umbes 10 ml diklorodifluorometaani või butaani (olenevalt analüüsitava aerosooltoote koostisest) ja hoides vahepudelit klappiga ülespoole, degaseerida proov täielikult kuni vedelfaasi kadumiseni. Eemaldada ühenduslülil ja kaaluda vahepudel (a grammi). Loksutada survepakendit, millest võetakse proov. Ühendada ühenduslülil proovi sisaldava survepakendi klappiga (klapp ülespoole) ja vahepudeligal (kael allapoole) ning vajutada. Täita vahepudel kahe kolmandiku ulatuses. Kui ülekanne katkeb enneaegselt rõhkude võrdsustumise tõttu, saab ülekanne jätkata, kui vahepudelit jahutada. Eemaldada ühenduslülil, täidetud pudel kaaluda (b grammi) ja määrata ülekantud proovi mass $m_1(m_1 = b - a)$.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Võetud proovi kasutatakse:

- tavaliseks keemiliseks analüüsiks;
- lenduvate koostisosade gaasikromatograafiliseks analüüsiks.

5.4.1. Keemiline analüüs

Hoides vahepudelit klappiga ülespoole, toimida järgmiselt:

- degaseerida toode. Kui degaseerimisel tekib vaht, kasutada vahepudelit, kuhu on ühenduslülil kaudu süstlagal sisse viidud täpne kogus (5–10 g) 2-metoksüetanoolil;
- loksutada pudelit veevannis 40 °C juures lenduvate koostisosade kadudeta eemaldamiseks;
- eemaldada ühenduslülil;
- kaaluda uuesti vahepudel (c grammi) ja määrata jäägi mass $m_2(m_2 = c - a)$. (Kui pudelisse lisati 2-metoksüetanoolil, arvatakse maha ka selle mass.);
- eemaldada klapp ja avada vahepudel;
- lahustada jääk täielikult kindlas koguses sobivas lahustis;
- viia läbi soovitud määramised analüüsiks vajaliku kogusega.

Valemid arvutusteks:

$$R = r - m_2 / m_1 \text{ ja}$$

$$Q = R - P / 100, \text{ kus:}$$

m_1 – aerosoolil mass, mis võeti vahepudelisse;

m_2 – aerosoolil jäägi mass pärast soojendamist 40 °C juures;

r – koostisosa sisaldus jäägis m_2 protsentides;

R – koostisosa sisaldus prooviks võetud aerosooltootes protsentides;

Q – koostisosa üldmass aerosooltootes;

P – aerosooltoote netomass (valim).

5.4.2. Lenduvate koostisosade gaasikromatograafiline analüüs

5.4.2.1. Põhimõte

Võtta gaasikromatograafil süstlagal vahepudelist analüüsiks vajalik hulk ja süstida gaasikromatograafil.

5.4.2.2. Abivahendid

Gaasikromatograafil süstal 25 µl või 50 µl (joon 5) seeriast A 2 «täpne proov» või samaväärne. Süstal on varustatud nõela otsas asuva liugsulguriga. Süstal ühendada vahepudeligal ühenduslülil ja süstla küljes oleva polüetüleenitoru abil (pikkus 8 mm, diameeter 2,5 mm).

5.4.2.3. Meetod

Pärast vahepudelist vajaliku koguse aerosooltoote võtmist sobitada süstla kooniline ots vahepudeligal, nagu on kirjeldatud alapunktis 2. Avada klapp ja võtta vajalik kogus vedelikku. Kolbi edasi-tagasi liigutades eemaldada gaasimullid (kui vajalik, jahutada süstalt). Kui süstlas on vajalik kogus mullivaba lahust, sulgeda klapp ja võtta süstal vahepudelist välja. Panna süstlale nõel ja torgata gaasikromatograafil aurutisse, avada klapp ja süstida.

5.4.2.4. Sisestandard

Kui on nõutud katset sisestandardiga, viia standard vahepudelisse (kasutades harilikku klaassüstalt koos ühenduslüluga).

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 1. Ühenduslüli

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 2. Ühenduslüli sise- ja välisklapi vahel

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 3. Ühenduslüli kahe välisklapi vahel

Lisa 4
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

VABA KAALIUM- JA NAATRIUMHÜDROKSIIDI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

Käesolevat meetodit kasutatakse vaba KOH ja NaOH määramiseks juuksetugevdusvahendites ja küünenahandi eemaldamise preparaates.

2. NÄITAJA ÜHIK

Vaba KOH ja NaOH kogus määratakse happega tiitrimisega ja väljendatakse vaba NaOH massiprotsendina tootes.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Proov lahustatakse või disperseeritakse vees ja tiitritakse happega. Pärast iga happkoguse lisamist registreeritakse pH. NaOH ja KOH lihtlahuse korral loetakse tiitrimise lõpp-punktiks koht tiitrimiskõveral, kus registreeritud pH väärtuste muutus oli maksimaalne. Tiitrimiskõvera harilik kuju võib muutuda, kui uuritavas proovis on lisandeid nagu:
– ammoniaak või mõni muu nõrk orgaaniline alus, millel on lame tiitrimiskõver. Ammoniaagi eemaldamiseks vakumeerida proovi toatemperatuuril;
– nõrkade hapete soolad, mis võivad tiitrimiskõveral anda mitu käänupunkti. Sellisel juhul vastab vabast KOH-st ja/või NaOH-st pärineva OH-iiooni neutraliseerimisele ainult kõvera esimene osa kuni esimese käänupunkti.

Kui nõrgad anorgaanilised soolad segavad määramist, kasutada alternatiivmeetodina tiitrimist alkoholis.

Kuigi on olemas teoreetiline võimalus, et ka teised proovis esineda võivad lahustuvad tugevad alused (näiteks liitiumhüdroksiid, kvaternaarsed ammooniumhüdroksiidid) võivad tiitrimisel käituda analoogiliselt KOH ja NaOH-ga, on selliste ühendite esinemine kosmeetikatoodetes äärmiselt ebatõenäoline.

[[RTL 2002, 54, 791](#) – jõust. 06.05.2002]

4. IDENTIFITSEERIMINE

4.1. Reaktiivid

4.1.1. Aluseline standardpuhverlahus, pH 9,18, temperatuuril 25 °C: 0,05 M naatriumtetraboraatekahüdraat

4.2. Aparatuur

4.2.1. Harilik laboriklaas

4.2.2. pH-meeter

4.2.3. Klaaselektrood

4.2.4. Kalomelvõrdluselektrood

4.3. Analüüsi käik

Kalibreerida pH-meeter, kasutades standardpuhverlahust. Valmistada analüüsitavast tootest 10% vesilahus või -dispersioon ja filtreerida. Mõõta pH. Kui pH on 12 või üle selle, siis viia läbi kvantitatiivne määramine.

5. MÄÄRAMINE

5.1. Tiitrimine vesilahuses

5.1.1. Reaktiivid

5.1.1.1. 0,1 N soolhappe standardlahus

5.1.2. Aparatuur

5.1.2.1. Harilikud labori klaasnõud

5.1.2.2. pH-meeter, soovitatav koos isekirjutajaga

5.1.2.3. Klaaselektrood

5.1.2.4. Kalomelvõrdluselektrood

5.1.3. Analüüsi käik

Kaaluda 150-ml keeduklaasi täpne katsekogus toodet massiga 0,5–1,0 g. Kui proovis on ammoniaaki, lisada veidi keemistsentreid, asetada keeduklaas vaakum-eksikaatorisse ja veejoapumbaga eemaldada ammoniaak, kuni enam ei ole tunda tema lõhna (umbes kolm tundi).

Lisada 100 ml vett, lahustada või dispergeerida jääk ja tiitrida 0,1 N HCl-ga (5.1.1.1), registreerides pH-meetriga (5.1.2.2) pH väärtused iga happkoguse lisamise järel.

5.1.4. Arvutused

Teha kindlaks tiitrimiskõvera käänupunktid. Kui esimene käänupunkt asub pH väärtuse juures alla 7, siis proovis ei esine vabu leeliseid. Kui kõveral on rohkem kui üks käänupunkt, siis arvestada ainult esimest. Märkida üles sellele punktile vastav tiitrimislahuse hulk. KOH ja NaOH hulk proovis väljendatakse NaOH massiprotsendina P ja arvutatakse järgmise valemi järgi:

$P = 0,4 V / M$, kus:

V –tiitrimiseks kulunud lahuse hulk, ml;

M –proovi mass, g.

Mõnikord ei esine tiitrimiskõveral selgelt eristatavat käänupunkti, ehkki on teada, et lahuses on märkimisväärsed kogused KOH ja/või NaOH. Sellisel juhul korratakse tiitrimist isopropanoolis.

5.2. Tiitrimine isopropanoolis

5.2.1. Reaktiivid

5.2.1.1. Isopropanool

5.2.1.2. 1,0 N soolhappe standardvesilahus

5.2.1.3. 0,1 N soolhappe lahus isopropanoolis: valmistada vahetult enne kasutamist lahjendades 1,0 N HCl isopropanooliga.

5.2.2. Aparatuur

5.2.2.1. Harilik laboriklaas

5.2.2.2. pH-meeter, soovitatavalt koos isekirjutajaga

5.2.2.3. Klaaselektrood

5.2.2.4. Kalomelvõrdluselektrood

5.2.3. Analüüsi käik

Kaaluda 150-ml keeduklaasi 0,5–1,0 g proovi täpsusega 1 mg. Kui proovis esineb ammoniaaki, lisada veidi keedukivikesi, asetada keeduklaas vaakum-eksikaatorisse ja veejoapumbaga eemaldada ammoniaak, kuni enam ei ole tunda tema lõhna (umbes kolm tundi).

Lisada 100 ml isopropanooli, lahustada või dispergeerida jääk ja tiitrida 0,1 N HCl isopropanoolis (5.2.1.3), registreerides pH muutused (5.2.2.2) iga happkoguse lisamise järel.

5.2.4. Arvutused

NaOH protsent P leida punktis 5.1.4 toodud valemi järgi. Esimene käänupunkt on umbes pH 9 juures.

5.3. Korratavus

Kui NaOH sisaldus on 5% piirides, siis ühest proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ei tohi absoluutväärtuses ületada 0,25%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 80/1335/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 5
sotsiaalministri

OBLIKHAPPE JA TEMA ALUSELISTE SOOLADE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE JUUKSEHOOLDUSVAHENDITES*

1. KASUTUSALA

Allpool kirjeldatud meetod sobib oblikhappe ja tema aluseliste soolade identifitseerimiseks ja määramiseks juuksehooldusvahendites. Meetodit võib kasutada värvitute vesi- või alkoholilahuste ja losjoonide korral, mis sisaldavad umbes 5% oblikhapet või ekvivalentse hulga aluselisi oksalaate.

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud oblikhappe ja tema aluseliste soolade sisaldus väljendatakse vaba oblikhappe massiprotsendina proovis.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Pärast igasuguste anioonsete pindaktiivsete ainete eemaldamist p-toluidiinhüdrokloriidiga oblikhappe ja oksalaadid sadestatakse kaltsiumoksaalidina. Lahus filtreeritakse, sade lahustatakse väävelhappes ja tiitritakse kaaliumpermanganaadiga.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. 5% ammooniumatsetaadi lahus
- 4.2. 10% kaltsiumkloriidi lahus
- 4.3. 95% (v/v) etanool
- 4.4. Tetraklormetaan
- 4.5. Dietüüleeter
- 4.6. 6,8% p-toluidiinhüdrokloriidi lahus
- 4.7. 0,1 N kaaliumpermanganaadilahus
- 4.8. 20% väävelhape
- 4.9. 10% soolhape
- 4.10. Naatriumatsetaatühüdraat
- 4.11. Kontsentreeritud äädikhape
- 4.12. Väävelhape (1:1)
- 4.13. Baariumkloriidi küllastunud lahus

5. APARATUUR

- 5.1. Jaotuslehtrid, 500 ml
- 5.2. Keeduklaasid, 50 ml ja 600 ml
- 5.3. Klaasfiltertiigid
- 5.4. Mõõtsilindrid, 25 ml ja 100 ml
- 5.5. Pipetid, 10 ml
- 5.6. Imikolvid, 500 ml
- 5.7. Veejoapump
- 5.8. Termomeeter, gradueeritud 0–100 °C
- 5.9. Magnetsegaja, soojendusega

5.10. Magnetsegaja pulgakessed, kaetud tefloniga

5.11. Büretid, 25 ml

5.12. Koonilised kolvid, 250 ml

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Kaaluda 6–7 g proovi 50-ml keeduklaasi, viia pH lahjendatud soolhappega (4.9) 3-ni ja valada see lahus jaotuslehttrisse. Loputada keeduklaasi kaks korda 50 ml destilleeritud veega.

Lisada ettevaatlikult pideva joana 25 ml etanooli (4.3), 25 ml p-toluidiinhüdrokloriidi lahust (4.6) ja 25–30 ml tetraklorometaani (4.4) ja loksutada segu intensiivselt.

6.2. Kui faasid on eraldunud, eemaldada alumine (orgaaniline) faas ja korrata ekstraheerimist samade reaktiividega (6.1) ja eemaldada jällegi orgaaniline faas.

6.3. Pesta vesilahus 600-ml keeduklaasi ja eemaldada tetraklorometaani (4.4) jäägid keetmisega.

6.4. Lisada 50 ml ammoniumatsetaadi lahust (4.1), ajada lahus magnetsegajal (5.9) keema ja lisada keevasse lahusesse pidevalt segades 10 ml kuuma kaltsiumkloriidi lahust (4.2). Lasta sademel settida.

6.5. Veendumaks, et sadestumine oli täielik, lisada lahusele mõned tilgad kaltsiumkloriidi lahust (4.2). Lahusesse ei tohi tekkida hägu. Jahutada lahus toatemperatuurini. Magnetsegajaga (5.10) segades lisada lahusesse 200 ml etanooli (4.3) ja jätta 30 minutiks seisma.

6.6. Filtreerida lahus läbi klaasfiltertiigli (5.3). Kanda sade vähese hulga kuuma veega (50–60 °C) üle samasse filtriiglisse ja pesta sadet külma veega.

6.7. Pesta sadet viis korda vähese hulga etanooliga (4.3) ja viis korda vähese hulga dietüüleetriiga (4.5), lahustada sade 50 ml kuumas väävelhappes (4.8). Saadud lahus imeda veejoapumbaga läbi filtri imipudelis.

6.8. Kanda lahus kadudeta üle koonilisse kolbi (5.11) ja tiitrida kaaliumpermanganaadi lahusega (4.7), kuni tekib püsiv nõrk roosa värvus.

7. ARVUTUSED

Oblikhappe sisaldus proovis P avaldada massiprotsendina ja arvutada järgmise valemi järgi:

$P = A \times 4,50179 \times 100 / E \times 1000 = 0,4502 \times A / m$, kus:

A –tiitrimiseks kulunud 0,1 N kaaliumpermanganaadi lahuse hulk, ml;

m –katsekogus, g;

4,50179 –võrdetegur.

8. KORRATAVUS

Kui oblikhappe sisaldus proovis on umbes 5%, siis ühest proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ei tohi absoluutväärtuses ületada 0,15%.

9. IDENTIFITSEERIMINE

9.1. Meetodi põhimõte

Oblikhappe ja oksalaadid sadestatakse kaltsiumoksalaadina ja lahustatakse väävelhappes. Lahusele lisatakse väike hulk kaaliumpermanganaadi lahust. Roosa värvus kaob ja oblikhappes tekib süsinikdioksiid.

Kui moodustunud süsinikdioksiid juhtida läbi baariumhüdroksüüdi lahuse, moodustub valge (piimjas) baariumkarbonaadi sade.

9.2. Analüüsi käik

9.2.1. Detergentide eemaldamiseks töödelda analüüsivat proovi, nagu on kirjeldatud punktides 6.1–6.3.

9.2.2. Punkti (9.2.1) järgi saadud umbes 10 ml lahusele lisada spaatliotsatäis naatriumatsetaati (4.10) ja hapustada lahus mõne tilga kontsentreeritud äädikhappega (4.11).

9.2.3. Lisada 10% kaltsiumkloriidi lahust (4.2) ja filtreerida. Lahustada kaltsiumoksalaadi sade 2 ml väävelhappes (4.12).

9.2.4. Kanda lahus üle katseklaasi ja lisada tilkhaaval umbes 0,5 ml 0,1 N kaaliumpermanganaadi lahust (4.7). Kui proovis on oksalaate, kaotab lahus oma värvuse, alul järk-järgult ja siis kiiresti.

9.2.5. Vahetult pärast kaaliumpermanganaadi lahuse lisamist asetada sobiv korgiga klaatoru katseklaasi peale, soojendada sisu kergelt ja juhtida moodustuv süsinikdioksiidi küllastunud baariumhüdroksüüdi lahusesse (4.13). 3–5 minuti pärast ilmuv piimjas baariumkarbonaadi sade tõestab oblikhappe olemasolu.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 80/1335/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 6
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KLOROFORMI MÄÄRAMINE HAMBAPASTAS*

1. KASUTUSALA

Seda meetodit kasutada kloroformi gaasikromatograafiliseks määramiseks hambapastas. Meetodit saab kasutada, kui kloroformi sisaldus tootes on 5% või vähem.

2. NÄITAJA ÜHIK

Kloroformi sisaldust väljendatakse tema massiprotsendina tootes.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Hambapasta suspenseerida dimetüülformamiidi/metanooli segus, millele on lisatud sisestandardiks kindel kogus atsetonitriili. Pärast tsentrifuugimist saadud vedelast faasist võetud proov analüüsida gaasikromatograafiliselt ja arvutada kloroformi sisaldus tootes.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Kolonni täidis: *Porapak Q*, *Chromosorb 101*, 80–100 *mesh*'i või samaväärne

4.2. Atsetonitriil

4.3. Kloroform

4.4. Dimetüülformamiid

4.5. Metanool

4.6. Sisestandardi lahus

Pipeteerida 5 ml dimetüülformamiidi (4.4) 50-ml mõõtekolbi ja lisada umbes 300 mg (M mg) täpselt kaalutud atsetonitriili (4.2). Täita kolb dimetüülformamiidiga märgini ja segada.

4.7. Lahus suhtelise vastusteguri (*relative response factor*) määramiseks. Sisestandardi ja kloroformi piikide pindalade suhte määramiseks kaaluda 10-ml mõõtekolbi täpne kaalutis, umbes 300 mg (M_1 mg) kloroformi. Pipeteerida kolbi täpselt 5 ml sisestandardi lahust (4.6). Täita dimetüülformamiidiga märgini ja segada.

5. APARATUUR JA VARUSTUS

5.1. Analüütiline kaal

5.2. Gaasikromatograaf leekionisatsioonidetektoriga

5.3. Mikrosüstal, 5–10 μ l, gradueeritud täpsusega 0,1 μ l

5.4. Pipetid, 1, 4 ja 5 ml

5.5. Mõõtekolvid, 10 ja 50 ml

5.6. Katseklaasid, 20 ml, keeratava korgiga, *Sovirel France 20* või samaväärsed. Keerataval korgil on sees tihend, mis on ühelt poolt kaetud tefloniga.

5.7. Tsentrifuug

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Sobivad gaasikromatograafia tingimused:

6.1.1. Kolonni materjal: klaas

Pikkus: 150 cm

Sisemine läbimõõt: 4 mm

Väline läbimõõt: 6 mm.

6.1.2. Täita kolonn vibraatori abil *Porapak Q*, *Chromosorb 101* või muu samaväärsse täidisega (4.1).

6.1.3. Leekionisatsioonidetektor: reguleerida selline tundlikkus, et 3 µl lahuse (4.7) atsetonitriili piik oleks umbes 2/3 terve skaala ulatusest.

6.1.4. Gaasid:

Kandegaas: lämmastik, voolukiirus 65 ml/min;

Abigaasid: reguleerida gaaside vool detektorisse nii, et õhu või hapniku vool oleks 5–10 korda suurem kui vesiniku oma.

6.1.5. Temperatuurid:

Aurusti: 210 °C;

Detektor: 210 °C;

Termostaat: 175 °C.

6.1.6. Isekirjuti lindi liikumiskiirus: umbes 2 cm/min.

6.2. Proovi ettevalmistamine

Katsekogus võtta avamata tuubist. Kolmandik sisust pigistada välja, panna kork tagasi peale, segada hoolega tuubi sisu ja siis võtta proov.

6.3. Määramine

6.3.1. Kaaluda keeratava korgiga katseklaasi (5.6) täpsusega 10 mg 6–7 g punkti 6.2 järgi ettevalmistatud pastat (M_0 g) ja lisada kolm väikest klaashelmest.

6.3.2. Pipeteerida katseklaasi täpselt 5 ml sisestandardi lahust (4.6), 4 ml dimetüülformamiidi (4.4) ja 1 ml metanooli (4.5), sulgeda korgiga ja segada.

6.3.3. Loksutada pool tundi mehhaanilisel loksutil, tsentifuugida suletud katseklaasis 15 min sellise kiirusega, et faasid selgelt eralduksid.

NB! Mõnikord juhtub, et vedel faas sademe peal jääb häguseks. Seda saab mõnevõrra parandada, kui vedelikule lisada 1–2 g NaCl, lasta sadeneda ja siis uuesti tsentrifuegida.

6.3.4. Süstida 3 µl seda lahust punktis 6.1 kirjeldatud tingimustel gaasikromatograafi. Teha paralleelkatse. Ülaloodud tingimuste korral on orienteeruvalt järgmised retensiooniajad:

metanool – umbes 1 min;

atsetonitriil – umbes 2–3 min;

kloroform – umbes 6 min;

dimetüülformamiid – üle 15 min.

6.3.5. Suhtelise vastusteguri – sisestandardi ja kloroformi piikide pindalade suhte määramiseks süstida 3 µl lahust (4.7). Korrata operatsiooni. See tegur tuleb määrata iga päev.

7. ARVUTUSED

7.1. Suhtelise vastusteguri F arvutamine

7.1.1. Mõõta atsetonitriili ja kloroformi piigi kõrgus h ja piigi laius poolkõrgusel w ning arvutada mõlema piigi pindala S , kasutades valemit: $S = h \times w$.

7.1.2. Määrata atsetonitriili ja kloroformi piigi pindala punkti 6.3.5 järgi saadud kromatogrammidel ja arvutada F järgmise valemi järgi:

$F = A_s \times M_i / M_s \times A_i = A_s \times 0,1 M / A_i \times M_i$, kus:

A_s – kloroformi piigi pindala (7.1.1);

A_i – atsetonitriili piigi pindala (7.1.1);

M_s – kloroformi kontsentratsioon lahuses (4.7), mg/10 ml (= M_1);

M_i – atsetonitriili kontsentratsioon lahuses (4.7), mg/10 ml (= 0,1 M).

Arvutada saadud tulemuste keskmine.

7.2. Kloroformi sisalduse arvutamine

7.2.1. Arvutada punkti 7.1.1 järgi kloroformi ja atsetonitriili piigi pindala punkti 6.3.4 järgi saadud kromatogrammidel.

7.2.2. Kloroformi sisaldus P hambapastas, väljendatud massiprotsendina, arvutatakse järgmise valemi järgi:

$P = \frac{As \times M_i \times 100}{Fs \times Ms \times A_i} = \frac{As \times M}{Fs \times A_i \times M_o} \times 100$, kus:
As –kloroformi piigi pindala (6.3.4);
A_i –atsetonitriili piigi pindala (6.3.4);
Ms –proovi mass, mg (6.3.1) (= 1000 –M_o);
M_i –atsetonitriili kontsentratsioon, mg/10 ml lahuses (6.3.2) (= 0,1 M).

Arvutada leitud tulemuste keskmine täpsusega 0,1%.

8. KORRATAVUS

Kloroformi sisalduse puhul umbes 3%, ei tohi ühest proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,3%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 80/1335/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 7
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

TSINGI MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

See meetod sobib tsingi määramiseks, kui ta esineb kosmeetikatootes kas kloriidina, sulfaadina või 4-hüdroksübenseensulfonaadina või nimetatud soolade seguna.

2. NÄITAJA ÜHIK

Tsingi sisaldus proovis määratakse gravimeetriliselt bis(2-metüül-8-kinolüüloksiidi) järgi ja väljendatakse tsingi massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Lahuses olev tsink sadestatakse happelises keskkonnas tsink-bis(2-metüül-8-kinolüüloksiidina). Pärast filtreerimist sade kuivatatakse ja kaalutakse.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. 25% ammoniaak, $d_{4}^{20} = 0,91$

4.2. Kontsentreeritud äädikhape

4.3. Ammooniumatsetaat

4.4. 2-metüül-8-kinolüüloksiid

4.5. Ammoniaagilahus, 60 g/l:

Valada 240 g kontsentreeritud ammoniaagilahust (4.1) 1000-ml mõõtekolbi, täita destilleeritud veega määrgini ja segada.

4.6. Ammooniumatsetaadi lahus, 0,2 M:

Lahustada 15,4 g ammooniumatsetaati (4.3) destilleeritud vees, viia 1000-ml mõõtekolvis maht määrgini ja segada.

4.7. 2-metüül-8-kinolüüloksiidi lahus:

Lahustada 5 g 2-metüül-8-kinolüüloksiidi (4.4) 12 ml kontsentreeritud äädikhappes ja viia destilleeritud veega 1000-ml mõõtekolbi. Täita destilleeritud veega määrgini ja segada.

5. APARATUUR JA VARUSTUS

5.1. Mõõtekolvid, 100 ja 1000 ml

5.2. Keeduklaasid, 400 ml

5.3. Mõõtsilindrid, 50 ja 150 ml

- 5.4. Gradueeritud pipetid, 10 ml
- 5.5. Klaasfiltertiigid, G-4
- 5.6. Imikolvid, 500 ml
- 5.7. Veejoapump
- 5.8. Termomeeter, gradueeritud 0–100 °C
- 5.9. Eksikaator sobiva niiskuseneelaja ja niiskuse indikaatoriga, näiteks värvilise silikageeliga
- 5.10. Kuivatuskapp, reguleeritud temperatuurile 150 –2 °C
- 5.11. pH-meeter
- 5.12. Elektripliit
- 5.13. Filterpaber, *Whatman No 4* või samaväärne

6. ANALÜÜSI KÄIK

- 6.1. Kaaluda 400-ml keeduklaasi 5–10 g (M g) analüüsiks määratud proovi, mis sisaldab umbes 50–100 mg Zn, lisada 50 ml destilleeritud vett ja segada.
 - 6.1.1. Filtreerida, vajadusel kasutada veejoapumpa, filtraat alles hoida.
 - 6.1.2. Korrata ekstraktsiooni 50 ml destilleeritud veega. Filtreerida ja filtraadid ühendada.
- 6.2. Iga lahuses (6.1.2) oleva 10 g Zn kohta lisada 2 ml 2-metüül-8-kinolüüloksiidi lahust (4.7) ja segada.
- 6.3. Lahjendada segu 150 ml destilleeritud veega, soojendada segu kuni 60 °C (5.12) ja lisada pidevalt segades; 45 ml 0,2 M ammoniumatsetaadi lahust (4.6).
- 6.4. 6% ammoniaagilahusega (4.5) reguleerida lahuse pH vahemikku 5,7–5,9 lahust pidevalt segades; pH määramiseks kasutada pH-meetrit.
- 6.5. Lasta lahusel seista 30 min. Filtreerida veejoapumba abil läbi klaasfiltri G-4, mis peab eelnevalt olema kuivatatud 150 °C juures ja pärast jahutamist kaalutud (M₀ g). Pesta sadet 150 ml 95 °C destilleeritud veega.
- 6.6. Asetada tiigel kuivatusahju 150 °C juurde ja kuivatada üks tund.
- 6.7. Võtta tiigel kuivatusahjust, asetada eksikaatorisse (5.9) ja kui tiigel on jahtunud toatemperatuurini, määrata ta mass (M₁ g).

7. ARVUTUSED

Arvutada tsingi sisaldus proovis P massiprotsentides järgmise valemi abil:

$P = (M_1 \times M_0) \times 17,12 / M$, kus:

M –proovi mass (6.1), g;

M₀–tühja ja kuivatatud filtertiigli mass (6.5), g;

M₁–sademega filtertiigli mass (6.7), g.

8. KORRATAVUS

Ligikaudu 1% tsingi sisalduse puhul ei tohi ühest proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe absoluutväärtuses ületada 0,1%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 80/1335/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 8
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

4-HÜDROKSÜBENSEENSULFOONHAPPE MÄÄRAMINE JA IDENTIFITSEERIMINE*

1. KASUTUSALA

See meetod sobib 4-hüdroksübenseensulfoonhappe määramiseks ja identifitseerimiseks sellistes kosmeetikatoodetes nagu aerosoolid ja näolosjoonid.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

4-hüdroksübenseensulfoonhappe sisaldus, määratuna selle meetodi järgi, väljendada veevaba tsink-4-hüdroksübenseensulfoonhappe massiprotsendina tootes.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Katsekogus kontsentreeritakse alarõhu juures, lahustatakse vees ja puhastatakse kloroformiga ekstraheerides. 4-hüdroksübenseensulfoonhappe määratakse filtreeritud vesilahuses jodomeetriliselt.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. 36% kontsentreeritud soolhappe $d_{4}^{20} = 1,18$

4.2. Kloroform

4.3. 1-butanool

4.4. Kontsentreeritud äädikhape

4.5. Kaaliumjodiid

4.6. Kaaliumbromiid

4.7. Naatriumkarbonaat

4.8. Sulfaniilhape

4.9. Naatriumnitrit

4.10. Kaaliumbromaat, 0,1 N

4.11. Naatriumtiosulfaadi lahus, 0,1 N

4.12. Tärklise vesilahus, 10 g/l

4.13. Naatriumkarbonaadi vesilahus, 20 g/l

4.14. Naatriumnitriti vesilahus, 45 g/l

4.15. Ditisoonilahus kloroformis, 0,5 g/l

4.16. Eluent: 1-butanool, kontsentreeritud äädikhape, vesi (mahulises vahekorras 4:1:5); pärast segamist jaotuslehttris alumine faas ära visata.

4.17. *Pauly* reaktiiv:

Lahustada 4–5 g sulfaniilhapet (4.8) 45 ml kontsentreeritud soolhappes, kuumutada, lahjendada lahust veega kuni 500 ml. Jahutada 10 ml seda lahust jääveega kausis ja lisada segades 10 ml naatriumnitriti lahust (4.14). Jätta lahus seisma 15 minutiks 0 °C juures (sel temperatuuril on lahus stabiilne 1–3 päeva) ja vahetult enne pihustamist (7.5) lisada 20 ml naatriumkarbonaadi lahust (4.13).

4.18. Valmis tselluloosplaadid õhekihikromatograafiaks (ÕKK): suurus 20 –20 cm, kihi paksus 0,25 mm.

5. APARATUUR JA VARUSTUS

5.1. Lihviga ümarkolvid, 100 ml

5.2. Jaotuslehtrid, 100 ml

5.3. Lihviga koonilised kolvid, 250 ml

5.4. Büretid, 50 ml

5.5. Pipetid, 1, 2 ja 10 ml

- 5.6. Pipetid, gradueeritud, 5 ml
- 5.7. Mikrosüstal, 10 µl, gradueeritud 0,1 µl täpsusega
- 5.8. Termomeeter, gradueeritud 0–100 °C
- 5.9. Veevann
- 5.10. Kuivatuskapp, hästi ventileeritav ja reguleeritud 80 °C
- 5.11. Tavalised ÕKK vahendid

6. PROOVI ETTEVALMISTAMINE

Allpool kirjeldatud meetodi korral hüdroksübenseensulfoonhappe määramiseks ja identifitseerimiseks aerosoolides kasutada jääki, mis saadakse, kui aerosoolpakendist on eemaldatud normaalsel rõhul aurustuvad lahustid ja propellendid.

7. IDENTIFITSEERIMINE

- 7.1. 5 µl jääki või proovi viia mikrosüstlaga (5.7) kuude punkti ÕKK plaadi stardijoonele 1 cm kaugusele alumisest äärest (4.18).
- 7.2. Asetada plaat kromatograafiatanki, milles on juba eluent (4.16) ja hoida, kuni eluent on tõusnud plaadil 15 cm kaugusele stardijoonest.
- 7.3. Võtta plaat anumast välja ja kuivatada 80 °C juures, kuni äädikhappe lõhna ei ole enam tunda. Pritsida plaati naatriumkarbonaadi lahusega (4.13) ja kuivatada õhu käes.
- 7.4. Katta pool plaati klaasplaadiga kinni ja pritsida katmata osa 0,05% ditisoonilahusega (4.15). Purpurpunaste laikude ilmumine tõestab tsingi olemasolu proovis.
- 7.5. Katta kinni pritsitud pool ja pritsida teist poolt *Pauly* reaktiiviga (4.17). 4-hüdroksübenseensulfoonhappe esinemise korral ilmuvad kollakaspruunid laigud, mille R_f väärtus on umbes 0,26. Kollased laigud R_f väärtusega 0,45 lähedal on iseloomulikud 3-hüdroksübenseensulfoonhappele.

8. MÄÄRAMINE

- 8.1. Kaaluda 10 g proovi või jääki (6) 100-ml ümarkolbi ja aurustada rotaatoraurutiga vaakumis peaaegu kuivaks. Veevanni temperatuur 40 °C.
 - 8.2. Pipeteerida 10,0 ml (V_1) vett kolbi ja lahustada aurutamisejääd (8.1) kuumutamisel.
 - 8.3. Viia lahus kadudeta jaotuslehtrisse (5.2) ja ekstraheerida vesilahust kaks korda 20 ml kloroformiga (4.2). Kloroformifaas visata ära.
 - 8.4. Filtreerida vesilahus läbi kurdfiltrit. Sõltuvalt oletatavast hüdroksübenseensulfoonhappe sisaldusest pipeteerida 1,0 või 2,0 ml (V_2) filtraati 250-ml koonilisse kolbi ja lahjendada veega 75 ml-ni.
 - 8.5. Lisada 2,5 ml 36% HCl (4.1) ja 2,5 g KBr (4.6), segada, kuumutada lahust veevannil kuni 50 °C.
 - 8.6. Lisada büretist 0,1 N KBr (4.10) kuni lahus, mida hoitakse 50 °C juures, muutub kollaseks.
 - 8.7. Lisada veel 3,0 ml KBr (4.10), sulgeda kolb ja jätta seisma veevannil 50 °C juures.
- Kui lahus kümne minuti pärast kaotab oma värvuse, lisada veel 2,0 ml KBr lahust (4.10).
- Sulgeda kolb ja kuumutada kümme minutit veevannil 50 °C juures. Märkida üles kogu kasutatud KBr hulk (a).
- 8.8. Jahutada lahus toatemperatuurini, lisada 2 g KI (4.5) ja segada.
 - 8.9. Tiitrida moodustuv vaba jood 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (4.11). Tiitrimise lõpupoole lisada mõni tilk tärgliselahust (4.12) kui indikaatorit. Märkida üles kasutatud naatriumtiosulfaadi lahuse hulk (b).

9. ARVUTUSED

Tsink-hüdroksübenseensulfoonhappe sisaldus P proovis või jäägis (6), väljendatuna massiprotsendina, arvutada järgmise valemi abil:

$P = (a - b) \times V_1 \times 0,00514 \times 100 / m \times V_2$, kus:
a – lisatud 0,1 N KBr lahuse koguhulk (8.7);
b – tiitrimiseks kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi hulk (8.9), ml;
m – analüüsitud toote või jäägi kogus (8.1), mg;
V₁ – lahuse maht (8.2), ml;
V₂ – analüüsiks kasutatud lahustatud aurutamisjäägi maht (8.4), ml.

Märkus. Aerosooli korral tuleb mõõtmistulemus massiprotsentides jäägi kohta väljendada originaaltoote suhtes. Selleks ümberarvestuseks vaata aerosoolist proovi võtmise eeskirju (lisa 1).

10. KORRATAVUS

Kui tsink-hüdroksübenseensulfoonhappe sisaldus on umbes 5%, siis ühest proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ei tohi absoluutväärtuses ületada 0,5%.

11. TULEMUSTE INTERPRETEERIMINE

Vastavalt Vabariigi Valitsuse 26. novembri 1997. a määrusega nr 228 (RT I 1997, 94, 1570; 1999, 37, 479) kinnitatud «Kosmeetikatoodete valmistamise, terviseohutuse tagamise ja importimise korrale» on tsink-hüdroksübenseensulfoonhappe maksimaalne lubatud sisaldus näovees ja deodorantides 6%. See tähendab, et peale hüdroksübenseensulfoonhappe sisalduse peab olema määratud ka tsingi sisaldus. Korrutades arvutatud tsink-hüdroksübenseensulfoonhappe sisalduse (9) faktoriga 0,1588, saame minimaalse tsingi sisalduse massiprotsentides, mis peaks teoreetiliselt tootes esinema, arvestades määratud hüdroksübenseensulfoonhappe sisaldust. Tsingi hulk, mis määratakse vahetult gravimeetriselt (vaata vastavat meetodit), võib olla mõnevõrra kõrgem, kuna kosmeetikatoodetes võidakse kasutada ka tsinkkloriidi ja tsinksulfaati.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 80/1335/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 9
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

OKSÜDEERIVATE AINETE IDENTIFITSEERIMINE JA VESINIKPEROKSIIDI MÄÄRAMINE JUUKSEHOOLDUSVAHENDITES*

Vesinikperoksiidi jodomeetiline määramine kosmeetikatoodetes on võimalik ainult juhul, kui puuduvad teised oksüdeerivad ained, mis tekitavad jodiidist joodi. Järelikult enne vesinikperoksiidi jodomeetrist määramist on vaja kindlaks teha kõik olemasolevad oksüdeerivad ained. Identifitseerimine toimub kahes etapis: esimeses järjekorras määratakse persulfaadid, bromaadid ja vesinikperoksiid ja teises –baariumperoksiid.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. PERSULFAATIDE, BROMAATIDE JA VESINIKPEROKSIIDI IDENTIFITSEERIMINE

1. Põhimõte

Naatrium-, kaalium- ja ammoonimpersulfaati, kaalium-, naatriumbromaat ja vesinikperoksiidi (olenemata kas nad pärinevad baariumperoksiidist või mitte) identifitseeritakse langeva paberkromatograafia abil, kasutades kahte elueerimislahust.

2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Kõikide järgmiste standardlahuste kontsentratsioon on 5 g/l:

- 2.1.1. Naatriumpersulfaat
- 2.1.2. Kaaliumpersulfaat
- 2.1.3. Ammoonimpersulfaat
- 2.1.4. Kaaliumbromaat
- 2.1.5. Naatriumbromaat
- 2.1.6. Vesinikperoksiid

2.2. Elueerimislahus A –80% (mahu järgi) etanooli vesilahus

2.3. Elueerimislahus B –benseen, metanool, 3-metüülbutaan-1-ool, vesi (mahulises vahekorras 34:38:18:10)

2.4. Ilmutuslahus A –kaaliumjodiidi vesilahus, 100 g/l

2.5. Ilmutuslahus B –tärglise vesilahus, 10 g/l

2.6. Ilmutuslahus C –soolhape, 10%

2.7. 4 N soolhape

3. Aparatuur ja seadmed

3.1. Kromatograafipaber (*Whatman No 3* ja *No 4* või samaväärsed)

3.2. Mikropipett, 1 µl

3.3. Mõõtekolb, 100 ml

3.4. Kurdfiltrid

3.5. Langeva paberkomatograafia aparatuur

4. Proovi ettevalmistamine

4.1. Vees lahustuvad tooted

Igast proovist valmistada kaks lahust, lahustades 1 g ja 5 g toodet 100 ml vees. 1 µl kumbagi lahust kasutada langevas paberkromatograafias, mida on kirjeldatud punktis 5.

4.2. Vees raskesti lahustuvad tooted

4.2.1. 1 g ja 5 g proovi kaaluda ning dispergeerida 50 ml vees. Mõõtekolbides viia lahuste ruumala destilleeritud veega 100 ml-ni ja segada. Mõlemad lahused filtreerida läbi kurdfiltri (3.4) ja 1 µl kumbagi filtraati kasutada paberkromatograafiaks (vaata punkti 5).

4.2.2. Kummastki proovist teha veel kaks dispersiooni, lisades 1 g ja 5 g proovile 50 ml vett. Lahused hapustada soolhappega (2.7). Mõõtekolbides viia lahuste ruumala destilleeritud veega 100 ml-ni ja segada. Lahused filtreerida läbi kurdfiltri (3.4) ja 1 µl iga filtraati kasutada paberkromatograafiaks (vaata punkti 5).

4.3. Kreemid

5 g ja 20 g toodet dispergeerida 50 ml vees ja mõõtekolvis viia lahuste ruumalad 100 ml-ni. 1 µl kumbagi filtraati kasutada paberkromatograafiaks (vaata punkti 5)

5. MEETOD

5.1. Vajalik kogus elueerimislahuseid A (2.2) ning B (2.3) valada kahte eraldi kromatograafiatanki. Tankid küllastada lahusti aurudega vähemalt 24 tunni jooksul.

5.2. Kromatograafiapaberi (3.1) 40–20 cm suuruse tüki stardijoonele kanda mikropipetiga (3.2) 1 µl iga standardlahust ja sama kogus punkti 4.1, 4.2 või 4.3 järgi valmistatud proovilahust. Paber lasta õhu käes kuivada.

5.3. Kromatograafiapaber (5.2) asetada ettevalmistatud kromatograafiatanki (5.1) ja voolutada, kuni elueerimislahuse piir on liikunud stardijoonest 35 cm kaugusele. Kromatografeerimine kestab ligikaudu 15 tundi.

5.4. Protseduure 5.2 ja 5.3 korrata, kasutades elueerimislahust B. Selle eluendiga kestab kromatografeerimine umbes viis tundi.

5.5. Pärast elueerimist võtta kromatogramm tankist välja ja kuivatada õhu käes.

5.6. Ainete identifitseerimiseks kromatogrammil pritsida kromatogramme ilmutuslahustega:

5.6.1. Kõigepealt pritsida kromatogramme ilmutiga A (2.4) ja kohe seejärel ilmutiga B (2.5). Persulfaatide laigud värvuvad esimestena ning seejärel värvub ka peroksiidi laik. Laikude kontuurid märgistada pliatsiga;

5.6.2. Kromatogramme pritsida ilmutiga C (2.6). Bromaatide laigud muutuvad hallikassinisteks.

Standardainete R_f väärtused eluentide A (2.2) ja B (2.3) puhul on ligikaudu järgmised:

Aine	Eluent A (2.2)	Eluent B (2.3)
Naatriumpersulfaat	0,40	0,10
Kaaliumpersulfaat	0,40	0,02 + 0,05
Ammooniumpersulfaat	0,50	0,10 + 0,20

Naatriumbromaat	0,40	0,20
Kaaliumbromaat	0,40	0,10 + 0,20
Vesinikperoksiid	0,80	0,80

B. BAARIUMPEROKSIIDI MÄÄRAMINE

1. Põhimõte

Baariumperoksiid identifitseeritakse pärast proovi hapustamist (A 4.2) baariumiooni juuresolekul vesinikperoksiidi tekkimise kaudu:

– persulfaadi puudumisel (A) lisatakse hapustatud proovile (B 4.1) lahjendatud väävelhapet, mille tulemusena moodustub valge baariumsulfaadi sade. Baariumiooni olemasolu proovis kinnitatakse paberkromatograafiaga (vaata punkti B 5);

– kui proovis on nii baariumperoksiid kui ka persulfaadid (B 4.2), siis lahustatakse jääk leeliselises lahuses (B 4.2). Pärast lahustumist soolhappes tõestatakse baariumiooni olemasolu lahuses (B 4.2.3) paberkromatograafiliselt ja/või baariumsulfaadi sademega.

2. Reaktiivid

2.1. Metanool

2.2. Soolhape, 36%

2.3. Soolhape, 6 N

2.4. Väävelhape, 4 N

2.5. Dinaatriumrodisonaat

2.6. Baariumkloriid ($\text{BaCl}_2 - \text{H}_2\text{O}$)

2.7. Naatriumkarbonaat, veevaba

2.8. Baariumkloriidi vesilahus, 10 g/l

2.9. Elueerimislahus –metanool, kontsentreeritud soolhape (2.2), vesi (mahulises vahekorras 80:10:10)

2.10. Ilmutuslahus –dinaatriumrodisonaadi vesilahus, 1 g/l, mis tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.

3. Aparatuur ja seadmed

3.1. Mikropipett, 5 μl

3.2. Platinatiigel

3.3. Mõõtekolb, 100 ml

3.4. Kromatograafiapaber *Schleicher and Schull 2043b* või selle ekvivalent. Paberi puhastamiseks elueerida seda õõ läbi langeva kromatograafia tankis (A 3.5), kasutades eluenti (B 2.9). Enne kasutamist paber kuivatada.

3.5. Kurdfilter

3.6. Tavaline aparatuur tõusva paberkromatograafia jaoks.

4. Proovi ettevalmistamine

4.1. Toodet, mis ei sisalda persulfaate:

4.1.1. 2 g toodet dispergeerida 50 ml vees ja soolhappes (B 2.3) viia dispersiooni pH umbes üheni.

4.1.2. Dispersioon viia kvantitatiivselt üle 100-ml mõõtekolbi, täita veega margini ja segada. Seda dispersiooni kasutada paberkromatograafiliseks identifitseerimiseks (vaata punkti 5) ja baariumi identifitseerimiseks baariumsulfaadi sademena.

4.2. Toodet, milles on persulfaat:

4.2.1. 2 g toodet dispergeerida 100 ml vees ja filtreerida.

4.2.2. Sade filtril kuivatada, kanda üle platinatiiglis (B 3.2), lisada sademe kaalust 7–10 korda rohkem naatriumkarbonaati (B 2.7), segada ja segu sulatada poole tunni jooksul.

4.2.3. Tiigel jahutada toatemperatuurini, sisu lahustada 50 ml vees ja filtreerida (B 3.5).

4.2.4. Filtreerimisest jäänud sade lahustada soolhappes (B 2.3) ja lahuse ruumala viia mõõtekolvis 100 ml-ni. Lahust kasutada paberkromatograafiliseks analüüsiks (B 5) ja baariumi identifitseerimiseks baariumsulfaadi sademena.

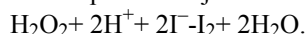
5. Meetod

- 5.1. Vajalik kogus elueerimislahust (B 2.9) valada kromatograafiatanki (B 3.6) ning tanki küllastada eluendi aurudega vähemalt 15 tundi.
- 5.2. Kromatograafia-paberi (B 3.4) stardijoonele kanda mikropipetiga (B 3.1) 5 µl lahuseid B 4.1.2, B 4.2.4 ja standardlahust (B 2.8).
- 5.3. Paber kuivatada õhu käes. Kromatografeerida, kuni eluendi piir on tõusnud 30 cm kõrgusele stardijoonest.
- 5.4. Kromatogramm võtta tankist välja ja kuivatada õhu käes.
- 5.5. Kromatogrammi ilmutamiseks pihustada sellele ilmutit (B 2.10). Baariumi olemasolu korral ilmuvad kromatogrammile punased laigud, mille R_f väärtus on umbes 0,10.

C. VESINIKPEROKSIIDI MÄÄRAMINE

1. Põhimõte

Vesinikperoksiidi jodomeetiline määramine põhineb reaktsioonil:



See reaktsioon toimub aeglaselt, aga seda saab kiirendada ammooniummolübdaadi lisamisega. Moodustunud jood määratakse titrimetriliselt naatriumtiosulfaadiga ja tiitrimiseks kulunud tiosulfaadi ruumala järgi arvutatakse proovis oleva vesinikperoksiidi hulk.

2. Näitaja ühik

Vesinikperoksiidi sisaldust mõõdetakse ülalkirjeldatud viisil ja see väljendatakse massiprotsendina tootes.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. 2 N väävelhape
- 3.2. Kaaliumjodiid
- 3.3. Ammooniummolübdaat
- 3.4. 0,1 N naatriumtiosulfaat,
- 3.5. Kaaliumjodiidi lahus, 100 g/l, mis on enne kasutamist värskelt valmistatud
- 3.6. Ammooniummolübdaadi lahus, 200 g/l
- 3.7. Tärglise lahus, 10 g/l

4. Aparatuur ja seadmed

- 4.1. Keeduklaas, 100 ml
- 4.2. Bürett, 50 ml
- 4.3. Mõõtekolb, 250 ml
- 4.4. Mõõtsilinder, 25 ml ja 100 ml
- 4.5. Pipett, 10 ml
- 4.6. Kooniline kolb, 250 ml

5. Meetod

5.1. 100-ml keeduklaasi kaaluda 10 g (m grammi) toodet, mis sisaldab umbes 0,6 g vesinikperoksiidi. Proov viia veega 250-ml mõõtekolbi, täita veega märgini ja segada.

5.2. Pipeteerida 10 ml proovilahust (5.1) 250-ml koonilisse kolbi (4.6) ja lisada toodud järjekorras 100 ml 2 N väävelhapet (3.1), 20 ml kaaliumjodiidi lahust (3.5) ja kolm tilka ammooniummolübdaadi lahust (3.6).

5.3. Moodustunud jodiid tiitrida kohe 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahusega (3.4). Kui tiitritav lahus on veel nõrgalt kollane, lisada mõni milliliiter tärgliselahust (3.7) kui indikaatorit ja tiitrida ekvivalentpunktini. Märkida üles tiitrimiseks kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi hulk milliliitrites (V).

5.4. Punktide 5.2 ja 5.3 järgi teha ka pimekatse, kus proovilahuse asemel võtta 10 ml destilleeritud vett. Märkida üles pimekatsel kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi kogus V_0 milliliitrites.

6. Arvutused

Vesinikperoksiidi sisaldus tootes massiprotsentides P arvutada järgmise valemi järgi:

$$P = (V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100 / m \times 10 \times 1000 = (V - V_0) \times 4,252 / m, \text{ kus:}$$

m –analüüsitava toote (5.1) kogus, g;

V_0 –pimekatsel (5.4) kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahuse ruumala, ml;

V –proovilahuse (5.3) tiitrimiseks kulunud 0,1 N naatriumtiosulfaadi lahuse hulk, ml.

7. Korratavus

Ligikaudu 6%-lise vesinikperoksiidi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste vahe ületada 0,2%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 82/434/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 10
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

OKSÜDEERIVATE VÄRVAINETE IDENTIFITSEERIMINE JA POOLKVANTITATIIVNE MÄÄRAMINE JUUKSEVÄRVIDES*

1. KASUTUSALA

See meetod sobib kreemjates ja vedelates juuksevärvides järgmiste ainete määramiseks:

Ained	Sümbolid
Fenüleendiamiinid:	
orto-fenüleendiamiin	(OPD)
meta-fenüleendiamiin	(MPD)
para-fenüleendiamiin (lisa V)	(PPD)
Metüülfenüleendiamiinid:	
4-metüül-1,2-fenüleendiamiin(tolueen-3,4-diamiin)	(OTD)
4-metüül-1,3-fenüleendiamiin(tolueen-2,4-diamiin)	(MTD)
2-metüül-1,4-fenüleendiamiin(tolueen-2,5-diamiin)	(PTD)
Diaminofenoolid:	
2,4-diaminofenool	(DAP)
Hüdrokinoonid:	
1,4-benseendiool (benseen-1,4-diool)	(H)
alfa-naftool	(alfa-N)
Pürogallool:	
1,2,3-tridihüdrosübenseen (benseen-1,2,3-triool)	(P)
Resortsinool:	
1,3-dihüdrosübenseen (benseen-1,3-diool)	(R)

2. PÕHIMÕTE

Oksüdeerivad värvained ekstraheeritakse kreemjatest või vedelatest värvidest pH 10 juures 96% etanooliga ja identifitseeritakse kas ühe- või kahedimensionaalse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.

Nende ainete poolkvantitatiivseks määramiseks kromatografeeritakse samades tingimustes nii proovi kui ka standardaineid.

3. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Dehüdreeritud etanool

- 3.2. Atsetoon
- 3.3. Etanool, 96% (v/v)
- 3.4. Ammooniumhüdrosiid, 25% ($d_{4}^{20} = 0.91$)
- 3.5. L(+)-askorbiinhape
- 3.6. Kloroform
- 3.7. Tsükloheksaan
- 3.8. Lämmastik, tehniline
- 3.9. Tolueen
- 3.10. Benseen
- 3.11. n-Butanool
- 3.12. Butaan-2-ool
- 3.13. Hüpfosforishape, 50% (v/v) lahus
- 3.14. Diasoreaktiiv:
– 3-nitro-1-benseendiasoonium-klorobenseensulfonaat (stabiilne soola vorm), näiteks *Red 2 JN –Francolor*; või
– 2-kloro-4-nitro-1-benseentiasooniumnaftaleenbensoaat (stabiilne soola vorm), näiteks *NNCD* reaktiiv –
kataloogi nr 74 150 *FLUKA* või samaväärne.
- 3.15. Hõbenitraat
- 3.16. p-dimetüülaminobensaldehüüd
- 3.17. 2,5-dimetüülfenool
- 3.18. Raudkloriidheksahüdraat
- 3.19. Soolhape, 100 g/l
- 3.20. Standardained
- Standardained on toodud punktis 1 (Kasutusala). Aamiinide korral peab standard olema kas vaba aluse või selle kloriidina (dikloriidina).
- 3.21. Standardlahused, 5 g/l

Igast punktis 1 loetletud standardainest valmistatakse standardlahus kontsentratsiooniga 5 g/l.

Kaaluda 50 mg –1 mg standardainet 10-ml mõõtekolbi, lisada 5 ml 96% etanooli (3.3) ja 250 mg askorbiinhapet (3.5). Ammoniaagilahusega (3.4) viia lahuse pH 10-ni (indikaatorpaberi järgi). Kolb täita 96% etanooliga (3.3) märgini ja segada.

Lahuseid võib hoida külmkapis nädal aega.

Teatud juhtudel võib pärast askorbiinhappe ja ammoniaagi lisamist tekkida sade. Sel juhul tuleb sademel lasta enne lahuse kasutamist settida.

3.22. Elueerimislahused

3.22.1. Atsetoon, kloroform, tolueen (mahulises vahekorras 35:25:40).

3.22.2. Kloroform, tsükloheksaan, absoluutne alkohol, 25% ammooniumhüdrosiid (mahulises vahekorras 80:10:10:1).

3.22.3. Benseen, butaan-2-ool, vesi (mahulises vahekorras 50:25:25).

Vedelik loksutada jaotuslehtis korralikult, eraldada kihid ja elueerimiseks kasutada ülemist faasi.

3.22.4. n-butanol, kloroform, reaktiiv M (mahulises vahekorras 7:70:23). Loksutada vedelikku jaotuslehtis tugevasti, eraldada kihid ja elueerimiseks kasutada alumist faasi.

Reaktiiv M:

Ammooniumhüdrosiidi lahus, 25% (3.4)	24 mahuosa
Hüpfosforishape, 50% (3.13)	1 mahuosa
Vesi	75 mahuosa

Märkus. Ammoniaaki sisaldavaid elueerimislahuseid peab vahetult enne kasutamist loksutama.

3.23. Ilmutid

3.23.1. Diazoreaktiiv

Valitud reaktiivist (3.14) valmistada vesilahus (50 g/l). Lahus valmistada vahetult enne kasutamist.

3.23.2. Ehrlich-i reaktiiv

2 g p-dimetüülaminobensaldehüüdi (3.16) lahustada 100 ml soolhappes (3.19).

3.23.3. 2,5-dimetüülfenool-raudkloriidheksahüdraat:

lahus 1: 1 g dimetüülfenooli (3.17) lahustada 100 ml 96% etanoolis (3.3);

lahus 2: 4 g raudkloriidheksahüdraati (3.18) lahustada 100 ml 96% etanoolis (3.3).

Ilmutamiseks pihustada neid lahuseid eraldi, esmalt lahust 1 ja seejärel lahust 2.

3.23.4. Höbenitraadi ammoniakaalne lahus

Lisada höbenitraadi 50 g/l vesilahusele (3.15) 25% amoniaagi lahust, kuni sade on täielikult lahustunud. See reaktiiv tuleb valmistada vahetult enne kasutamist.

Ärge säilitage reaktiivi.

4. APARATUUR

4.1. Tavalised laboriseadmed õhekihikromatograafia (ÕKK) jaoks.

4.1.1. Plastikust või klaasist kate peab olema tehtud nii, et kromatograafiaplaati saab proovide plaadile kandmise ja plaadi kuivatamise ajal hoida lämmastiku atmosfääris. See ettevaatusabinõu on vajalik, sest teatud värvained on kergesti oksüdeeruvad.

4.1.2. Mikrosüstal, 10-µl, gradueeritud 0,2-µl jaotustega, nelinurkse nõelaga, või 50-µl dispenser, mis on kinnitatud klambriga statiivi külge nii, et plaati saaks hoida lämmastiku all.

4.1.3. Silikageeliga ÕKK-plaadid, kihi paksus 0,25 mm, 20 – 20 cm (*Macherey and Nagel, Silica G-HR*, mis on plastikalusel või samaväärsed).

4.2. Tsentrifuug –4000 pööret/min

4.3. Tsentrifuugiklaasid, 10 ml, keeratava korgiga, *PTFE* tihendiga

5. ANALÜÜSI KÄIK

5.1. Proovide ettevalmistamine

Esimesed 2–3 cm kreemi pigistada tuubist välja ja visata ära.

Tsentrifuugiklaasi (4.3), mis on eelnevalt lämmastikuga läbi puhutud, kaaluda 300 mg askorbiinhapet ja 3 g uuritavat kreemi või homogeniseeritud vedelikku.

Tilkhaaval lisada ammoniagi lahust (3.4), kuni pH on 10. Ruumala viia 96% etanooliga (3.3) 10 ml-ni.

Proov homogeniseerida lämmastiku all, sulgeda tsentrifuugiklaas korgiga ja tsentrifuugida kiirusega 4000 p/min kümme minutit. Analüüsiks kasutada supernatanti.

5.2. Kromatograafia

5.2.1. Plaadile kandmine

Lämmastiku keskkonnas (3.8) kanda ÕKK-plaadile (4.1.3) üksteisest 1,5 cm kaugusele ning umbes 1,5 cm kaugusele plaadi servast 1-µl iga ülalmainitud standardlahust (9 punkti).

Standardlahused paigutada plaadile järgmise skeemi kohaselt:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAp	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	alfa-N							

Punktidesse 10 ja 11 kanda 2 µl iga proovilahust (punkti 5.1 järgi saadud).

Plaati hoida kromatograafiatanki panemiseni lämmastiku atmosfääris.

5.2.2. Elueerimine

Tank puhuda lämmastikuga läbi, valada sisse üks eluentidest (3.22) ja küllastada tank eluendi aurudega. Plaat asetada tanki ning elueerida toatemperatuuril pimedas, kuni lahusti piir on jõudnud umbes 15 cm stardijoonest ülespoole.

Plaat võtta tankist välja ja kuivatada toatemperatuuril lämmastiku keskkonnas.

5.2.3. Ilmutamine

Plaadile pihustada viivitamatult üks neljast ilmutuslahusest (3.23).

5.2.4. Identifitseerimine

Võrrelda proovi ja standardite laikude värvi ja R_f väärtusi.

Tabelis 1 on toodud näitena standardainete ligikaudsed R_f väärtused ja ilmutamisel tekkiv värv olenevalt kasutatud eluendist ja ilmutist.

Kaheldava identifitseerimisetulemuse kinnitamiseks võib kasutada lisamismeetodit (lisada proovile vastava standardaine lahust).

5.2.5. Poolkvantitatiivne hindamine

Aine kontsentratsiooni poolkvantitatiivseks määramiseks võrrelda proovi ja vastava standardaine laigu pindala ja värvi intensiivsust.

Kui ühe või mitme aine kontsentratsioon proovis on liiga suur, tuleb proovilahust lahjendada ja mõõtmist korrata.

Tabel 1

Standardaine laikude värv ja R_f väärtus vahetult pärast kromatogrammi ilmutamist

Standardaine 3.20	Elueerimislahused				Ilmuti			
		R_f väärtused			Ilmutamisel saadud värv			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Diazo 3.23.1	Ehrlich 3.23.2	Di- metüül-AgNO ₃ fenool 3.23.3	3.23.4
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	kahvatu pruun	–	–	kahvatu- pruun
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	violetne pruun*	Kollane	kahvatu- pruun	kahvatu- pruun
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	pruun*	ere- punane*	violetne	roheline
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	pruun*	Kahvatu- oranž	kahvatu- pruun	rohekas- pruun
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	punakaspruun*	Kollane	pruun	must
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	pruun	oranž	violetne*	roheline
DAP	0,07	–	0	0,05	pruun*	oranž	violetne	pruun
H	0,50	0,35	0,80	0,20	–	oranž	violetne	must*
alfa-N	0,90	0,80	0,90	0,75	oranž- pruun	–	violetne*	must
P	0,37	–	0,67	0,05	pruun	Väga kahvatu	väga kahvatu	pruun*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	oranž*	Kahvatu- violetne	väga kahvatu	kahvatu- pruun

Märkused.

1. OPD on ainult nõrgalt näha. OTD ja OPD teineteisest selgelt eraldamiseks peab kasutama lahust 3.22.3.

2. * Näitab parimat ilmutit.

6. KAHEMÕÖTMELINE ÕHEKIHKROMATOGRAAFIA

Kahemõõtmelise ÕKK tegemiseks on vaja täiendavaid reaktiive ja standardeid.

6.1. Täiendavad standardained ja reagentid

6.1.1. beeta-naftool (beeta-N)

- 6.1.2. 2-aminofenool (OAP)
- 6.1.3. 3-aminofenool (MAP)
- 6.1.4. 4-aminofenool (PAP)
- 6.1.5. 2-nitro-1,4-fenüleendiamiin (2-NPPD)
- 6.1.6. 4-nitro-1,2-fenüleendiamiin (4-NOPD)

Loetletud standardainetest valmistada lahused kontsentratsiooniga 5 g/l, nagu on kirjeldatud punktis 3.21.

6.2. Täiendav elueerimislahus

6.2.1. Etüülatsetaat, tsükloheksaan, 25% ammoniaagi lahus (mahulises vahekorras 65:30:0,5)

6.3. Täiendav ilmutussüsteem

Kromatograafiatanki asetada klaasnõuga 2 g joodikristalle ja sulgeda tank kaanega.

6.4. Kromatograafia

6.4.1. Tõmmata kaks joont plaadi (4.1.3) pinnale joonisel 1 näidatud kohtadesse.

6.4.2. Lämmastiku keskkonnas (4.1.1) lisada 1–4 µl lahust (5.1) põhipunkti nr 1 (joon 1), mis on 2 cm kaugusel mõlemast küljest. Lahuse hulk sõltub laigu intensiivsusest kromatogrammil (5.2).

6.4.3. Punktidesse 2 ja 3 (joon 1) kantakse 2 µl nende standardainete lahust (3.21), mis punkti 5.2 järgi saadud kromatogrammil identifitseeriti või jäid üheselt identifitseerimata. DAP-i puhul tuleb võtta 6 µl standardlahust (3.21). Seda tuleb teha lämmastiku keskkonnas (6.4.1).

6.4.4. Operatsiooni 6.4.3 korrata punktides 4 ja 5 (joon 1). Plaati hoida lämmastiku all kromatografeerimistanki panekuni.

6.4.5. Tank puhuda lämmastikuga läbi, valada sisse eluent (3.22.2) ja küllastada tank eluendi aurudega. Plaat asetada tanki ning elueerida toatemperatuuril pimedas, kuni lahusti piir on jõudnud stardijoonest 13 cm kaugusel oleva jooneni.

6.4.6. Plaat võtta elueerimistankist välja ja asetada kuivatamiseks eelnevalt lämmastikuga täidetud tanki. Kuivatamine kestab vähemalt 60 minutit.

6.4.7. Lämmastikuga läbipuhutud järgmise tanki valada sobiv kogus eluenti (6.2) ja plaati kromatografeerida 90–all võrreldes esimese elueerimisega, kuni eluendi piir on tõusnud plaadile tõmmatud jooneni. Elueerimine toimub taas pimedas. Plaat võtta tankist välja ja kuivatada õhu käes.

6.4.8. Plaat asetada kümneks minutiks joodi auruga (6.3) täidetud kromatograafiatanki ja kahemõõtmelist kromatogrammi interpreteerida, kasutades tabelis 1 toodud standardainete R_f väärtusi ja tabelis 2 toodud värve.

Maksimaalse värvi saamiseks tuleb plaat jätta joodiaurudes vähemalt pooleks tunniks.

6.4.9. Punktis 6.4.8 leitud oksüdeerivate juuksevärvide lõplikuks tõestamiseks korrata operatsioone 6.4.1–6.4.8, kandes plaadile punktis 1 lisaks proovile ka eelmisel kromatografeerimisel identifitseeritud ainete standardlahused (1 µl). Kui nüüd kromatografeerimisel uusi laiuke ei lisandu, võib kromatogrammi interpreteerimise lugeda õigeks.

Tabel 2

Standardainete värvid kromatogrammil pärast joodiga ilmutamist

Standardaine	Värv pärast joodiga ilmutamist
R	beež
P	pruun
alfa-N	violetne
beeta-N	kahvatupruun
H	violetne pruun (punakaspruun)
MPD	kollakaspruun
PPD	punakaspruun
MTD	tumepruun
PTD	kollakaspruun
DAP t	tumepruun
OAP	oranž
MAP	kollakaspruun
PAP	violetne pruun
2-NPPD	pruun
4-NOPD	oranž

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 1. Lahuste kandmine ÖKK-plaadile

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 82/434/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 11

NITRITI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

See meetod on sobiv nitriti määramiseks erinevates kosmeetikatoodetes, eriti kreemides ja pastades.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Põhimõte

Nitrit annab 2-aminobensaldehüüd-fenüülhüdrazooniga (Nitriin-) iseloomulikku värvi ühendi.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Lahjendatud väävelhape:

2 ml kontsentreeritud väävelhapet ($D_{4}^{20} = 1,84$) lahjendada 11 ml destilleeritud veega.

3.2. Lahjendatud soolhape:

Lahjendada 1 ml kontsentreeritud soolhapet 11 ml destilleeritud veega.

3.3. Metanool

3.4. 2-aminobensaldehüüd-fenüülhüdrazooni (Nitriin® reaktiiv) lahus metanoolis.

Kaaluda 2 g Nitriin® reaktiivi ja viia 100-ml mõõtekolbi. Lisada tilkhaaval 4 ml lahjendatud soolhapet ja loksutada. Täita kolb metanooliga märgini ja segada, kuni lahus on selge. Hoida lahust pruunist klaasist pudelis (4.3).

4. Aparatuur

4.1. Keeduklaas, 50 ml

4.2. Mõõtekolb, 100 ml

4.3. Pruunist klaasist pudel, 125 ml

4.4. Klaasplaat

4.5. Plastsfaatel

4.6. Filterpaber, 10–10 cm

5. Analüüsi käik

5.1. Jaotada uuritav osa proovist ühtlaselt klaasplaadile (4.4) nii, et see kataks plaati maksimaalselt 1 cm paksuselt.

5.2. Immutada filterpaber destilleeritud veega ja asetada see proovile. Vajutada filterpaber plastsfaatliga (4.5) vastu proovi.

5.3. Oodata üks minut ja lisada filterpaberi keskele:

kaks tilka lahjendatud väävelhapet (3.1) ja seejärel kaks tilka Nitriin-lahust (3.4).

5.4. 5–10 sekundi pärast eemaldada filterpaber ja uurida seda vastu päevavalgust. Nitriti olemasolu tõestab erepunane värv. Kui nitriti sisaldus on madal, muutub erepunane värv 5–15 sekundi pärast kollaseks. Kui nitriti sisaldus proovis on suur, muutub värv alles 1–2 minuti pärast.

6. Märkus

Purpurpunase värvi intensiivsus ja kollaseks muutumise aeg annab märku nitriti sisaldusest proovis.

B. MÄÄRAMINE

1. Rakendusala

Meetod kirjeldab nitriti määramist kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Näitaja ühik

Selle meetodiga määratud nitriti sisaldus proovis väljendatakse naatriumnitriti massiprotsendina.

3. Põhimõte

Pärast proovi lahustamist vees ja selitamist lastakse nitritil regeerida sulfonüülamiidiga ja N-1-naftüületüleendiamiiniga. Lahuse optiline tihedus mõõdetakse 538 nm juures.

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Selitamisreaktiivid: neid ei tohi kasutada rohkem kui üks nädal pärast valmistamist.

4.1.1. *Carres* I reaktiiv

Lahustada 106 grammi kaaliumtsüanoferraati destilleeritud vees ja viia lahus veega liitrini.

4.1.2. *Carres* II reaktiiv

Lahustada 219,5 grammi tsinkatsetaati ja 30 ml kontsentreeritud äädikhapet vees ja lisada destilleeritud vett 1000 ml-ni.

4.2. Naatriumnitriti lahus

Lahustada 0,500 g naatriumnitritit 1000-ml mõõtekolvis destilleeritud vees ja lisada destilleeritud vett määrgini. Lahjendada 10,0 ml standardlahust 500 ml-ni. 1 ml lahust sisaldab 10 µg naatriumnitritit.

4.3. 1 N naatriumhüdroksiidi lahus

4.4. 0,2% sulfaniilamiidhüdrokloriidi lahus:

Lahustada 2,0 grammi sulfaniilamiidi 800 ml vees seda soojendades. Jahutada ja lisada 100 ml kontsentreeritud soolhapet pidevalt segades (liigutades). Viia destilleeritud veega 1000 ml-ni.

4.5. 5 N soolhape

4.6. N-1-naftüülreaktiiv:

See lahus peab olema valmistatud kasutamispäeval. Lahustada 0,1 g N-1-naftüületüleendiamiin-dihüdrokloriidi vees ja lahjendada 100 ml-ni.

5. Aparatuur

5.1. Analüütilised kaalud

5.2. Mõõtekolvid, 100 ml, 250 ml, 500 ml ja 1000 ml

5.3. Maht- või mõõtepipetid

5.4. Mõõtesilinder, 100 ml

5.5. Kurdfilter, nitritivaba, diameetriga 15 cm

5.6. Veevann

5.7. Spektrofotomeeter küvettidega 1 cm

5.8. pH-meeter

5.9. Mikrobürett, 10 ml

5.10. Keeduklaas, 250 ml

6. Analüüsi käik

6.1. Kaaluda umbes 0,5 grammi (m grammi) täpsusega 0,1 mg homogeniseeritud proovi. Kanda kuuma destilleeritud veega kaalutis kvantitatiivselt keeduklaasi (5.10) ja viia mahuni umbes 150 ml. Panna keeduklaas (5.10) pooleks tunniks veevanni (5.6) 80 °C juurde. Segada või loksutada aegajalt klaasi sisu.

6.2. Jahutada toatemperatuurini ja lisada pidevalt segades 2 ml *Carres I* reaktiivi (4.1.1) ja 2 ml *Carres II* reaktiivi (4.1.2).

6.3. Lisada 1N NaOH lahust (4.3) ja tõsta pH väärtus 8,3-ni. Kasutada pH-meetrit (5.8). Klaasi sisu viia kvantitatiivselt üle 250-ml mõõtekolbi (5.2) ja täita see destilleeritud veega märgini.

6.4. Kolvi sisu segada ja filtreerida läbi kurdfiltrit (5.5).

6.5. Pipeteerida (5.3) 100-ml mõõtekolbi (5.2) vajalik kogus (V ml) filtraati, aga mitte rohkem kui 25 ml ja lisada destilleeritud vett 60 ml-ni.

6.6. Pärast segamist lisada 10,0 ml sulfaniilamiidhüdrokloriidi lahust (4.4) ja seejärel 6,0 ml 5 N soolhapet (4.5). Segada ja lasta seista viis minutit. Lisada 2,0 ml N-1-naftüülreaktiivi (4.6). Segada ja lasta seista kolm minutit. Lahjendada veega märgini ja segada.

6.7. Teha pimekatse, korrates operatsiooni 6.5 ja 6.6 N-1-naftüülreaktiivi lisamiseta.

6.8. Mõõta saadud lahuse (6.6) optiline tihedus spektrofotomeetriga (5.7) 538 nm juures, kasutades võrdluslahusena pimelahust (6.7).

6.9. Kalibreerimisgraafikult (6.10) lugeda naatriumnitriti sisaldus (m_1 µg) mikrogrammides 100 ml kohta (µg /100 ml) lahuses, mis vastab punktis 6.8 mõõdetud optilisele tihedusele.

6.10. Kasutades naatriumnitriti põhilahust 10 µg/ml konstrueerida kalibreerimisgraafik kontsentratsioonidega 0, 20, 40, 60, 80 ja 100 µg naatriumnitritit 100 ml kohta.

7. Arvutused

Arvutada naatriumnitriti sisaldus proovis massiprotsendina P, kasutades järgmist valemit:

$P = 250 \times m_1 \times 10^{-6} \times 100 / V \times m = m_1 / V \times m \times 40$, kus:

m –proovi mass grammides (6.1);

m_1 – kalibreerimisgraafikult (6.9) määratud NaNO₂sisaldus mikrogrammides;

V –analüüsiks kasutatud filtraadi maht (6.5) milliliitrites.

8. Korratavus

Ligikaudu 0,2% NaNO₂sisalduse korral ei tohi kahe paralleelkatse tulemuste absoluutväärtuste erinevus olla suurem kui 0,005%.

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 82/434/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 12
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

VABA FORMALDEHÜÜDI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

1. KASUTUSALA

See meetod kirjeldab vaba formaldehüüdi identifitseerimist ja kahte määramismeetodit. Meetodi valik sõltub sellest, kas tootes on formaldehüüdi eraldavaid aineid või mitte. See meetod on kasutatav kõikide kosmeetikatoodete puhul.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1.1. Identifitseerimine

1.2. Määramine pentaan-2,4-diooniga kolorimeetriliselt

Seda meetodit kasutatakse, kui formaldehüüdi on kasutatud üksinda või koos teiste säilitusainetega, mis ei ole formaldehüüdi doonorid.

Kui ei ole tegemist ülalkirjeldatud juhuga või kui tulemus ületab maksimaalse lubatud kontsentratsiooni, siis tuleb kasutada järgmist meetodit.

1.3. Määramine formaldehüüdi doonorite juuresolekul

Ülalnimetatud meetodi (1.2) puhul analüüsi käigus formaldehüüdi doonorid (seotud või polümeriseerunud formaldehüüdi sisaldavad ained) lagunevad ja seetõttu analüüsil saadud tulemus on suurem kui vaba formaldehüüdi sisaldus. Vaba formaldehüüd eraldatakse vedelikkromatograafiliselt.

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodiga määratud vaba formaldehüüdi sisaldus proovis väljendatakse massiprotsendina.

3. IDENTIFITSEERIMINE

3.1. Põhimõte

Vaba ja seotud formaldehüüd muudab väävelhappe keskkonnas *Schiff*'i reaktsiooni roosaks või kahvatulillaks.

3.2. Reaktsioonid

Kõik reaktsioonid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vesi peab olema demineraliseeritud.

3.2.1. Fuksiin

3.2.2. Naatriumsulfitheptahüdraat

3.2.3. Kontsenteeritud soolhape ($d = 1,19$)

3.2.4. Väävelhappe, ligikaudu 1 M

3.2.5. *Schiff*'i reaktsioon –100 mg fuksiini kaaluda keeduklaasi ja lahustada 75 ml vees 80 °C juures. Pärast jahutamist lisada 2,5 g naatriumsulfitit (3.2.2). Lahuse ruumala viia 100 ml-ni. See reaktsioon on kasutamiskõlblik kahe nädala jooksul.

3.3. Analüüsi käik

3.3.1. Kaaluda 10-ml keeduklaasi 2 g proovi.

3.3.2. Proovile lisada kaks tilka väävelhapet (3.2.4) ja 2 ml *Schiff*'i reaktsiooni (3.2.5). See reaktsioon peab olema täiesti värvitu.

Keeduklaasi sisu loksutada ja jätta viieks minutiks seisma.

3.3.3. Kui viie minuti jooksul tekib roosa või lillakas värvitoon, siis on formaldehüüdi sisaldus suurem kui 0,01% ja määramiseks tuleb kasutada meetodit 4 ja vajadusel protseduuri 5.

4. SUMMAARSE FORMALDEHÜÜDI MÄÄRAMINE PENTAAN-2,4-DIOONIGA KOLORIMEETRILISELT

4.1. Põhimõte

Formaldehüüd reageerib pentaan-2,4-diooniga ammooniumatsetaadi juuresolekul, moodustades 3,5-diatsetüül-1,4-dihüdrolutidiini. See ekstraheeritakse 1-butanoliga ja lahuse absorptsiooni mõõdetakse 410 nm juures.

4.2. Reaktsioonid

Kõik reaktsioonid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vesi peab olema demineraliseeritud.

4.2.1. Ammooniumatsetaat, veevaba

4.2.2. Kontsenteeritud äädikhape, $d_{4}^{20} = 1,05$

4.2.3. Pentaan-2,4-dioon, värskest destilleeritud vaakumis 25 mm Hg ja 25 °C juures. Lahuse neeldumine 410 nm juures peab olema null.

4.2.4. Butaan-1-ool

- 4.2.5. Soolhape, 1 M
- 4.2.6. Soolhape, ligikaudu 0,1 M
- 4.2.7. Naatriumhüdroksiid, 1 M
- 4.2.8. Tärgliselahus, värskest valmistatud Euroopa Farmakopöa järgi (1 g 50 ml vees)
- 4.2.9. Formaldehüüdi lahus, 37–40% (mass/maht)
- 4.2.10. Joodi standardlahus, 0,05 M
- 4.2.11. Naatriumtiosulfaadi standardlahus, 0,1 M
- 4.2.12. Pentaan-2,4-diooni reaktiiv

1000-ml mõõtekolvis lahustada 150 g ammooniumatsetaati (4.2.1), 2 ml pentaan-2,4-diooni (4.2.3) ja 3 ml kontsentreeritud äädikhapet (4.2.2). Lisada vett 1000 ml-ni (lahuse pH ligikaudu 4–6). Reaktiivid peavad olema värskest valmistatud.

- 4.2.13. Reaktiiv (4.2.12) ilma pentaan-2,4-dioonita

- 4.2.14. Formaldehüüdi standardi põhilahus

5 g formaldehüüdi lahust (4.2.9) valada 1000-ml mõõtekolbi ja täita see veega 1000 ml-ni.

Lahuse kontsentratsioon määrata järgmiselt:

Võtta 10,00 ml lahust ja lisada sellele 25,00 ml joodi standardlahust (4.2.10) ja 10 ml naatriumhüdroksiidi lahust (4.2.7). Lasta viis minutit seista ja lisada 11 ml 1 N HCl (4.2.5).

Joodi liig tiitritakse naatriumtiosulfaadi standardlahusega (4.2.11), kasutades tärgliselahust (4.2.8) indikaatorina.

1 ml 0,05 N joodilahust (4.2.10) on ekvivalentne 1,5 mg formaldehüüdiga.

- 4.2.15. Formaldehüüdi standardi lahjendatud lahus

Formaldehüüdi põhilahust lahjendada veega 20 korda ja saadud lahust omakorda 100 korda.

1 ml lahjendatud lahust sisaldab ligikaudu 1 µg formaldehüüdi. Arvutada formaldehüüdi täpne kontsentratsioon.

4.3. Aparatuur

- 4.3.1. Standardne labori aparatuur
- 4.3.2. Jaotuslehter
- 4.3.3. Tsentrifuug
- 4.3.4. Veevann 60 °C
- 4.3.5. Spektrofotomeeter
- 4.3.6. Klaasküvetid, optilise teepikkusega 1 cm.

4.4. Analüüsi käik

- 4.4.1. Katsekoguse lahustamine

100-ml mõõtekolbi kaaluda täpsusega 0,001 g selline katsekogus, milles on eeldatavalt 150 µg formaldehüüdi.

Mõõtekolb täita veega märgini ja segada (lahus S).

Kontrollida, et pH oleks kuue lähedal, vastasel juhul lahjendada lahjendatud soolhappes (4.2.6).

50-ml Erlenmeyeri kolbi pipeteerida:

- 10,00 ml lahust S;
- 5,00 ml pentaan-2,4-dioon reaktiivi (4.2.12);

– 15,00 ml demineraliseeritud vett.

4.4.2. Standardlahus

Võimalikud häired, mis on tingitud proovi taustavärvist elimineeritakse järgmise võrdluslahuse kasutamisega.

50-ml Erlenmeyeri kolbi pipeteerida:

- 10,00 ml lahust S;
- 5,00 ml reaktiivi (4.2.13);
- 15 ml demineraliseeritud vett.

4.4.3. Pimekatse

50-ml Erlenmeyeri kolbi pipeteerida:

- 5,00 ml pentaan-2,4-dioon reaktiivi (4.2.12);
- 25 ml demineraliseeritud vett.

4.4.4. Määramine

4.4.4.1. Kolbide (4.4.1), (4.4.2) ja (4.4.3) sisu loksutada ja panna nad veevanni 60 °C juures täpselt kümneks minutiks. Lasta jahtuda kaks minutit jäävees.

4.4.4.2. Lahused kanda üle 50-ml jaotuslehtritesse, kuhu lisada 10,0 ml butaan-1-ooli (4.2.4), igat kolbi loputada 3–5 ml veega ja lisada need loputusveed jaotuslehttrisse. Loksutada segu tugevalt täpselt 30 sekundit ja seejärel lasta kihistuda.

4.4.4.3. Butaan-1-ooli faas filtreerida läbi faasjaotusfiltri mõõtküvetitesse (4.3.2). Võib kasutada ka tsentrifuugimist (3000 g / 5 min).

4.4.4.4. Mõõta katsekoguse (4.4.1) ekstrakti neeldumine A₁410 nm juures standardlahuse ekstrakti (4.4.2) suhtes.

4.4.4.5. Analoogselt mõõta pimealahuse (4.4.3) ekstrakti neeldumine A₂butaan-1-ool suhtes.

NB! Märkus: kõik need operatsioonid tuleb sooritada 25 min jooksul hetkest, mil Erlenmeyeri kolb on asetatud 60 °C veevanni.

4.4.5. Kalibreerimiskõver

4.4.5.1. 50-ml Erlenmeyeri kolbi pipeteerida:

- 5,00 ml lahjendatud standardlahust (4.2.15);
- 5,00 ml pentaan-2,4-dioon reaktiivi (4.2.12);
- 20 ml demineraliseeritud vett.

4.4.5.2. Jätkata, nagu on kirjeldatud punktis 4.4.4 ja mõõta neeldumine butaan-1-ooli (4.2.4) suhtes.

4.4.5.3. Protseduuri korrata, pipeteerides lahjendatud standardlahust (4.2.15) 10, 15, 20 ja 25 ml.

4.4.5.4. Leida reaktiivide neeldumine, toimides punkti 4.4.4.5 kohaselt.

4.4.5.5. Standardlahuste neeldumistest (mõõdetud punktide 4.4.5.1– 4.4.5.3 järgi) lahutada reaktiividest tingitud neeldumine (punkt 4.4.5.4). Saadud tulemused kanda kalibreerimisgraafikule. *Lambert-Beer* 'i seadus on kehtiv, kui formaldehüüdi sisaldus katselahuses (4.4.1) on kuni 30 µg.

4.5. Arvutused

4.5.1. Lahutada A₁-st A₂ja lugeda kalibreerimiskõveralt formaldehüüdi sisaldus C mikrogrammides katselahuses (4.4.1).

4.5.2. Formaldehüüdi sisaldus proovis (M) arvutada massiprotsendina (% m/m) järgmise valemi abil:

Formaldehüüdi sisaldus % M = C / (1000 x m), kus:

m –katsekoguse mass grammides.

4.6. Korratavus

0,2%-lise formaldehüüdi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste vahe ületada 0,005% pentaan-2,4-diooniga kolorimeetrimisel.

Juhul kui määramise tulemusena saadakse kõrgem formaldehüüdi sisaldus, kui on sätestatud Vabariigi Valitsuse 28. oktoobri 1997. a määrusega nr 228 (RT I 1997, 94, 1570; 1999, 37, 479) kinnitatud «Kosmeetikatoodete valmistamise, terviseohutuse tagamise ja importimise korra» lisades, nt:

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

– 0,05% ja 0,2% vahel märgistamata toodetes;

– kõrgem kui 0,2% toodetes, mis on kas märgistatud või märgistamata, siis kasutada punktis 5 kirjeldatud määramismeetodit.

5. FORMALDEHÜÜDI MÄÄRAMINE DOONORITE JUURESOLEKUL

5.1. Meetodi põhimõte

Vedelikkromatograafiliselt eraldatud formaldehüüd viiakse pentaan-2,4-diooniga üle lutidiini derivaadiks kolonni järgses reaktoris. Saadud derivaadi neeldumine mõõdetakse 420 nm juures.

5.2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vesi demineraliseeritud.

5.2.1. Vesi, *HPLC grade* või samaväärne

5.2.2. Ammooniumatsetaat, veevaba

5.2.3. Kontsentreeritud äädikhape

5.2.4. Pentaan-2,4-dioon (hoitud 4 °C juures)

5.2.5. Dinaatriumfosfaat, veevaba

5.2.6. Ortofosforhape, 85% (d = 1,7)

5.2.7. Metanool, *HPLC grade*

5.2.8. Dikloormetaan

5.2.9. Formaldehüüdi lahus, 37–40%

5.2.10. Naatriumhüdroksüüd, 1 M

5.2.11. Soolhape, 1 M

5.2.12. Soolhape, 0,002 M

5.2.13. Tärgliselahus, värskest valmistatud Euroopa Farmakopöa järgi (vt 4.2.8)

5.2.14. Joodi standardlahus, 0,05 M

5.2.15. Naatriumtiosulfaadi standardlahus, 0,1 M

5.2.16. Liikuv faas:

0,006 M dinaatriumfosfaadi (5.2.5) vesilahus, mille pH on viidud ortofosforhappega (5.2.6) 2,1-ni

5.2.17. Kolonni järgse derivatiseerimise reaktiiv:

1000-ml mõõtekolvis lahustada:

– 62,5 g ammooniumatsetaati (5.2.2);

– 7,5 ml äädikhapet (5.2.3);

– 5 ml pentaan-2,4-diooni (5.2.4).

Mõõtekolb täita veega (5.2.1) märgini.

Hoida pimedas! Reaktiivi säilivusaeg: maksimaalselt kolm päeva 25 °C juures.

Värvus ei tohi muutuda!

5.2.18. Formaldehüüdi standardi põhilahus:

1000-ml mõõtekolbi valada 10 g formaldehüüdi lahust (5.2.9) ja täita veega märgini.

Lahuse kontsentratsioon määrata järgmiselt: pipeteerida 5,00 ml lahust, lisada 25,00 ml joodi standardlahust (5.2.14) ja 10,00 ml naatriumhüdroksüüdi lahust (5.2.10).

Jätta viieks minutiks seisma.

Hapestada 11,00 ml HCl-ga (5.2.11) ja tiitrida joodi standardlahuse liig naatriumtiosulfaadi standardlahusega, kasutades indikaatorina tärgliselahust (5.2.13).

1 ml joodilahusele (5.2.14) vastab 1,5 mg formaldehüüdi.

5.2.19. Formaldehüüdi lahjendatud standardlahus:

Põhilahust lahjendada 100 korda liikuva faasiga (5.2.16).

1 ml seda lahust sisaldab umbes 37 mg formaldehüüdi.

5.2.20. Arvutada lahuse täpne kontsentratsioon.

5.3. Aparatuur

5.3.1. Standardne labori aparatuur

5.3.2. Kõrgefektiivse vedelikkromatograafi (*HPLC*) pump, pulseerimisvaba

5.3.3. Madalsurvepump, pulseerimisvaba, reaktiivide jaoks (või teine *HPLC* pump)

5.3.4. Injektor koos 10- μ l silmusega

5.3.5. Kolonni järgne reaktor koos järgmiste osadega:

- 1-liitrine kolmekaelkolb;
- 1-liitrise kolvi kuumuti;
- kaks *Vigreux* kolonni minimaalselt kümne teoreetilise taldrikuga, õhkjahutusega;
- roostevabast terasest 1,6-mm toru (soojavahetuseks), sisemine läbimõõt 0,23 mm, pikkus 400 mm;
- teflontoru, 1,6 mm, sisemine diameeter 0,30 mm, pikkus 5 m (vt *French knitting* u juhendit);
- T-kolmik (*Valco* või samaväärne);
- ühendlüli, tühimahuta, kolm tükki, või:
- kolonni järgne reaktor, näiteks *Applied Biocystems PCRS 520* või samaväärne.

5.3.6. Membraanfilter, poori suurusega 0,45 μ m

5.3.7. SPE kolonn, SEP-PAK^RC₁₈või samaväärne

5.3.8. *HPLC* kolonnid:

- *Bischoff Hypersil RP 18* (tüüp *NC reference C 25.46 1805*), 5 μ m, pikkus 250 mm, sisemine diameeter 4,6 mm, või
- *Dupont, Zorbax ODS*, 5 μ m, pikkus 250 mm, sisemine diameeter 4,6 mm, või
- *Phase SEP, Spherisorb ODS2*, 5 μ m, pikkus 250 mm, sisemine diameeter 4,6 mm.

5.3.9. Eelkolonn

- *Bischoff K₁Hypersil RP 18 reference K₁ g 6301 1805*), 5 μ m, pikkus 10 mm või samaväärne.

5.3.10. Kolonn ja eelkolonn on ühendatud *Ecotubesüsteemi* (*reference A 15020508 Bischoff*) või samaväärse abil.

5.3.11. Aparaaadi (5.3.5) kokkupaneku juhised (vt kolonni järgse reaktori skeem)

Injektorijärgsed ühendused peavad olema nii lühikesed kui võimalik. Roostevabast terasest toru reaktori väljundi ja detektori sisendi vahel on ette nähtud segu jahutamiseks enne detekteerimist. Detektori temperatuur ei ole täpselt fikseeritud, kuid see peab olema konstantne.

5.3.12. UV-VIS detektor

5.3.13. Isekirjuti

5.3.14. Ultrahelivann

5.3.15. Vibrosegisti (*vortex* või samaväärne)

5.4. Analüüsi käik

5.4.1. Kalibreerimisgraafik

Kalibreerimisgraafiku x-teljele kanda formaldehüüdi kontsentratsioon standardlahuses ja y-teljele kromatogrammi piigi kõrgus.

Valmistada standardlahuste rida, lahjendades formaldehüüdi lahust (5.2.19) liikuva faasiga (5.2.16):

- 1,00 ml lahust (5.2.19) lahjendada 20 ml-ni (ligikaudu 1,85 μ g/ml);
- 2,00 ml lahust (5.2.19) lahjendada 20 ml-ni (ligikaudu 3,70 μ g/ml);
- 5,00 ml lahust (5.2.19) lahjendada 25 ml-ni (ligikaudu 7,40 μ g/ml);
- 5,00 ml lahust (5.2.19) lahjendada 20 ml-ni (ligikaudu 9,25 μ g/ml).

Standardlahust hoida üks tund toatemperatuuril ja kasutada üksnes värskest valmistatud lahust.

Kalibreerimisgraafik on lineaarne kontsentratsioonide vahemikus 1,00–15,00 μ g/ml.

5.4.2. Proovi ettevalmistamine

5.4.2.1. Emulsioonid (kreemid, jumestuse alused, silmalainerid)
m grammi proovi, milles on eeldatavalt 100 µg formaldehüüdi, kaaluda täpsusega 0,001 g 100-ml suletavas
mõõtekolbi. Pipeteerida 20 ml dikloormetaani (5.2.8) ja 20 ml soolhapet (5.2.12). Segada vibrosegistil (Vortex
mikseril) (5.3.16) ja ultrahelivannis (5.3.15). Faasid eraldada tsentrifuugimise teel (3000 g / 2 min). SPE kolonn
(5.3.7) pesta 2 ml metanooliga (5.2.7) ja konditsioneerida 5 ml veega (5.2.1).

4 ml tsentrifuugimisel saadud vesifaasi lasta läbi SPE kolonni. Esimesed 2 ml visata ära ja järgnev fraktsioon
koguda.

5.4.2.2. Losjoonid, šampoonid

m grammi proovi, milles on eeldatavalt 500 µg formaldehüüdi, kaaluda täpsusega 0,001 g 100-ml mõõtekolbi.

Lisada liikuvat faasi (5.2.16) määrgini ja segada.

Lahus filtreerida läbi filtri (5.3.6). 4 ml filtraati lasta läbi SPE kolonni (5.3.7), mis on konditsioneeritud punktis
5.4.2.1 toodud juhise järgi. Esimesed 2 ml visata ära ja järgnev fraktsioon koguda. Kõik lahused tuleb puhastada
vahetult pärast valmistamist.

5.4.3. Kromatograaferimise tingimused:

– liikuva faasi voolukiirus –1 ml/min;

– reaktiivi voolukiirus – 0,5 ml/min;

– summaarne voolukiirus detektori väljundis – 1,5 ml/min;

– elueerimistemperatuur: juhul kui on raskusi ainete lahutamise, pannakse kolonn sulava jää vanni ja
oodatakse 15–20 min, kuni alustatakse kromatograaferimist;

– kolonnijärgne reaktor: temperatuur 100 °C;

– detekteerimine: 420 nm.

NB! Kogu kromatograafiline süsteem ja kolonnijärgne reaktor tuleb pärast kasutamist veega (5.2.1) läbi
pesta. Juhul kui süsteemi ei ole rohkem kui kaks päeva kasutatud, tuleb süsteem pärast veega pesemist pesta
täiendavalt metanooliga (5.2.7) ja veel kord veega (5.2.1), et ära hoida rekristallisatsiooni.

5.5. Arvutused

Emulsioonid (5.4.2.1):

Formaldehüüdi sisaldus M (% m/m) = $C \times 10^{-6} \times 100 / 5 \times m = C \times 10^{-4} / 5 \text{ m}$

Losjoonid, šampoonid:

$M = C \times 10^{-6} \times 100 / 5 \times m = C \times 10^{-4} / m$, kus:

m –analüüsitud katsekoguse mass grammides;

C –formaldehüüdi kontsentratsioon µg/100 ml kalibreerimisgraafiku järgi.

5.6. Korratavus

Formaldehüüdi 0,05%-lise sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste
vahe ületada 0,001%.

0,2%-lise formaldehüüdi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe
ületada 0,005%.

French knitting´u juhend

1. Vajalikud abivahendid:

– puust pool: väline läbimõõt 5 cm, keskel ava läbimõõduga 1,5 cm. Lüüa sisse neli terasnaela (nagu näidatud
joonisel 1). Naelte vahe peab olema 1,8 cm ja nad peavad olema avast 0,5 cm kaugusel;

– jäik nõel (heegelnõelatüüpi) teflontorust silmuste moodustamiseks;

– teflontoru, 5 m, 1,6-mm läbimõõduga, sisemine läbimõõt 0,3 mm.

2. Töö käik

Teflontoru ajada läbi pooli ava ülevalt alla (jättes 10 cm toru pooli alt välja, mis võimaldab valmiskootud osa
kudumise käigus tõmmata läbi ava pooli sisse); siis kerida toru naelte ümber nii, nagu on näidatud joonisel 2.

French knitting´u ülemine ja alumine ots kaitsta metallrõngastega ja survekruvidega.

Tuleb olla ettevaatlik, et mitte vigastada teflontoru kruvide pingutamisel.

Pöörata toru ümber iga naela teist korda ja teha järgmised «pisted» (alustada «kudumist»):

– tõsta haagiga alumine toru üle ülemise toru (moodustada silmused nagu kudumisel);

– korrata seda järjekorras igal naelal (1, 2, 3, 4 kellaosuti liikumisele vastupidises suunas), kuni on ära kasutatud
kõik 5 m või saadud soovitud pikkus;

– jätta umbes 10 cm toru kudumiahela sulgemiseks. Ajada toru läbi igast neljast silmusest ja tõmmata õrnalt, et sulgeda kudumiahel.

NB! Müüakse ka tööstuslikult valmistatud *French knitting*´ut kolonnijärgse reaktori jaoks (*Supelco*).

(v.t. RTL 2000, 22, 302)
Joonis 1. Pooli skemaatiline kujutis

«Kudumiseks» tõsta alumine torukeerd
(pidev joon) üle teise torukeeru
(katkendlik joon)
(v.t. RTL 2000, 22, 302)
Joonis 2. «Kudumine»

Kolonnijärgse reaktori skeem:

1	HPLC pump
2	Injektori klapp
3	Kolonn koos eelkolonniga
4	Reaktiivipump
5	T-kolmik, tühimahuta
5'	T-kolmik (<i>Vortex</i>)
6–6'	Tühimahuta ühendus
7	<i>French knitting</i>
7'	Reaktor
8	Kolmkaelkolb keeva veega
9	Kolvi kuumuti
10	Jahuti
11	Roostevabast terasest soojusvaheti toru
11'	Soojusvaheti
12	UV VIS detektor
13	Kolonnijärgne moodul <i>PCRS 520</i>

(v.t. RTL 2000, 22, 302)

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 90/207/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 13
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

RESORTSINOOLI MÄÄRAMINE ŠAMPOONIDES JA JUUKSEPALSAMITES*

1. KASUTUSALA

Selle meetodi järgi määratakse resortsinooli gaasikromatograafiliselt šampoonides ja juuksepalсамites. See meetod on kasutatav kontsentratsioonide vahemikus 0,1–2%.

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud resortsinooli sisaldus proovis väljendatakse massiprotsendina.

3. PÕHIMÕTE

Resortsinool ja 3,5-dihüdrosütolueen (5-metüülresortsinool, mida lisatakse sisestandardina, eraldada proovist õhekihikromatograafia (ÕKK) abil). Mõlema aine laigud ÕKK-plaadil kraabitakse maha ja ained ekstraheeritakse silikageelist metanooliga. Ekstraheeritud ühendid kuivatatakse, silüleeritakse ja määratakse gaasikromatograafiliselt.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Soolhape, 25%

4.2. Metanool

4.3. Etanool, 96%-line (v/v)

4.4. Silikageeliga ÕKK-plaat, plastikust või alumiiniumist alusega, fluorestseeruva indikaatoriga. Deaktiveerimiseks pihustada silikageeli ÕKK-plaadile vett, kuni silikageel klaasistub. Lasta plaatidel kuivada toatemperatuuril 1–3 tundi.

NB! Kui plaadid ei ole deaktiveeritud, siis võib osa resortsinooli pöördumatult adsorbeeruda silikageelile.

4.5. Elueerimislahus: atsetoon, kloroform, äädikhape (mahulises vahekorras 20:75:5)

4.6. Resortsinooli standardlahus: lahustada 400 mg resortsinooli 100 ml 96%-lises etanoolis (4.3). 1 ml standardlahuses on 4000 µg resortsinooli.

4.7. Sisestandardi lahus: lahustada 400 mg 3,5-dihüdrosütolueeni (DHT) 100 ml 96%-lises etanoolis (4.3). 1 ml standardlahuses on 4000 µg DHT.

4.8. Standardsegu: segada 10 ml lahust 4.6 ja 10 ml lahust 4.7 100-ml mõõtekolvis. Täita märgini 96%-lise etanooliga (4.3) ja segada. 1 ml standardlahuses on 400 µg resortsinooli ja 400 µg DHT.

4.9. Silüleerivad reaktiivid:

4.9.1. N,O-bis-(trimetüülsilüül)trifluoroatsetamiid (BSTFA)

4.9.2. Heksametüüldisilasaan (HMDS)

4.9.3. Trimetüülklorosilaan (TMCS)

5. APARATUUR

5.1. Tavalised ÕKK ja gaasikromatograafia seadmed

5.2. Klaasnõud

6. PROTSEDUUR

6.1. Proovi ettevalmistus

6.1.1. 150-ml keeduklaasi kaaluda täpsusega 1 mg «m» grammi kosmeetikatoode, mis sisaldab umbes 20 mg resortsinooli.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

6.1.2. Hapustada soolhappega, kuni segu on happeline (umbes 2–4 ml). Lisada 10 ml (40 mg DHT) sisestandardi lahust ja segada. Etanooliga (4.3) viia kvantitatiivselt üle 100-ml mõõtekolbi, täita etanooliga (4.3) märgini ja segada.

6.1.3. Kanda 250 µl lahust (6.1.2) ÕKK-plaadi (4.4) stardijoonele pideva, umbes 8 cm pikkuse joonena. Joon teha nii kitsas kui võimalik.

6.1.4. Samal viisil (6.13) kanda samale plaadile 250 µl standardlahust (4.8).

6.1.5. Sama plaadi stardijoonele kanda ka 1 µg kumbagi standardlahust (4.6) ja (4.7), et saaks identifitseerida proovist pärit laike ÕKK-plaadil.

6.1.6. Plaati elueerida eluendiga (4.5) tankis, mis ei ole eluendiaurudega küllastatud, kuni eluendi front on jõudnud stardijoonest 12 cm kaugusele. Tavaliselt kestab elueerimine 45 minutit. Plaat kuivatada õhus ja lokaliseerida resortsinooli-DHT tsooni laik UV-valguses (250 nm). Kahel ühendil on umbes võrdne R_f väärtus. Laigu ümber, umbes 2 mm kauguselt laigu välisest tumedast servast, tõmmata pliiaatsiga joon. Mõlema laigu adsorbendid kraapida plaadilt lahti ja viia eraldi üle 10-ml pudelitesse.

6.1.7. Ekstraheerida adsorbenti, mis sisaldab proovi ja adsorbenti, mis sisaldab standardsegu, ühtemoodi: lisada 2 ml metanooli (4.2) ja ekstraheerida ühe tunni vältel pidevalt segades. Filtreerida segu ja korrata ekstraheerimist veel 15 minutit 2 ml metanooliga.

6.1.8. Ekstraktid ühendada ja lahus panna üheks ööks vaakumeksikaatorisse, milles on metanooli aure absorbeeriv aine. Lahust ei tohi mingil juhul kuumutada.

6.1.9. Jäägid (6.1.8) silüleerida, nagu on kirjeldatud punktis 6.1.9.1 või punktis 6.1.9.2.

6.1.9.1. Kummalegi jääkidest (6.1.8) lisada mikrosüstlaga 200 µl BSTFA (4.9.1) ja jätta kinnisesse anumasse 12 tunniks toatemperatuurile seisma.

6.1.9.2. Lisada mikrosüstlaga 200 µl HMDS (4.9.2) ja seejärel 100 µl TMCS (4.9.3) ning kuumutada segu 30 minutit 60 °C juures kinnises anumas, jahutada.

6.2. Gaasikromatograafia

6.2.1. Gaasikromatograafia tingimused

Kolonn eraldusvõime R peab olema vähemalt 1,5.

$R = 2d' (r_2 - r_1) / w_1 + w_2$, kus:

r_1 ja r_2 – kahe aine retentsiooniajad, min;

w_1 ja w_2 – nende ainete piikide laiused poolkõrgusel, mm;

d' – lindi kiirus, mm/min.

Sobivad gaasikromatograafia tingimused:

Kolonn:	materjal	roostevaba teras
	pikkus	200 cm
	sisediameter	3 mm
	täidis	10% <i>OV-17 Chromosorb WAW</i> µl, 100–200 <i>mesh</i> 'i

Leekionisatsiooni detektor:

Temperatuurid:

kolonn	185 °C (isotermiline)
detektor	250 °C
aurusti	250 °C

Kandegaas:

gaasi voolukiirus	lämmastik 45 ml/min
-------------------	------------------------

Vesiniku ja õhu voolukiirused tuleb valida vastavalt tootja instruksioonidele.

6.2.2. Süstida 1–3 µl saadud lahust (6.1.9) gaasikromatograafi. Iga lahusega (6.1.9) teha viis paralleelsüsti. Mõõta kromatogrammidel piigi pindala, leida aritmeetilised keskmised ning arvutada piikide pindalade suhe: $S = \text{resortsinooli piigi pindala} / \text{DHT piigi pindala}$.

7. ARVUTUSED

Resortsinooli kontsentratsioon proovis P väljendada massiprotsendina ja leida järgmise valemi järgi:

$P = 4 \times S_{\text{proov}} / M - S_{\text{standard}}$, kus:

M – proovi kogus grammides (6.1.1);

S_{proov} – proovilahuse resortsinooli piigi keskmise piigi pindala (6.2.2);

S_{standard} – standardsegu (4.8) piigi keskmine pindala (6.2.2).

8. KORRATAVUS

Resortsinooli sisalduse puhul umbes 0,5% ei tohi sama proovi kahe paralleelse määramise tulemuste erinevus ületada 0,025%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 82/434/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 14
sotsiaalministri
23. detsembr 1999. a
määruse nr 91 juurde

METANOOLI MÄÄRAMINE ETANOOLIS VÕI PROPAAAN-2-OOLIS*

1. KASUTUSALA

See meetod kirjeldab metanooli gaasikromatograafilist analüüsi kõikides kosmeetikatoodetes (sh aerosoolides). Metanooli saab määrata vahemikus 0–10%.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud metanooli sisaldus väljendatakse metanooli massiprotsendina etanoolis või propaan-2-oolis.

3. PÕHIMÕTE

Metanooli määramine toimub gaasikromatograafiliselt.

4. REAKTIIVID

Reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Metanool

4.2. Absoluutne etanool

4.3. Propaan-2-ool

4.4. Kloroform, mis vabastatakse alkoholidest veega pesemisel

5. APARATUUR

5.1. Gaasikromatograaf, mis on varustatud:

– kataromeetriga aerosoolproovide jaoks;
– µleekionisatsioonidetektoriga teiste proovide jaoks

5.2. Mõõtekolb, 100 ml

5.3. Pipetid, 2 ml, 20 ml ja 0–1 ml

5.4. Mikrosüstlad, 0–100 µl ja 0–5 µl ning aerosoolproovide jaoks spetsiaalne tihendi ja liugklapiga süstal (vt lisa 3 punkti 5.4.2)

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Aerosooltoodete korral võtta proov survepakendist lisa 3 punkti 5 järgi ja analüüsida seda gaasikromatograafiliselt käesoleva lisa punkti 6.2.1 järgi.

6.1.2. Teistest kosmeetikatoodetest võtta proov lisa 3 punktide 1–4 järgi, lahjendada veega, kuni etanooli või 2-propanooli sisaldus on 1–2% ja analüüsida saadud lahust punkti 6.2.2 järgi.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

6.2. Gaasikromatograafia

6.2.1. Aerosoolproovide puhul kasutada detektorina kataromeetrit.

6.2.1.1. Kolonn: 10% *Hallcomid M18 Chromosorb WAW* µl, 100–200 mesh'.

6.2.1.2. Kolonni lahutusvõime R peab olema vähemalt 1,5.

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (w_1 + w_2)$, kus:

r_2 ja r_1 – ainete piikide retentsiooniajad, min;

w_1 ja w_2 – samade piikide laiused poolkõrgusel, mm;

d' – isekirjuti lindi kiirus (mm/min).

6.2.1.3. Tingimused, mis võimaldavad saada nõutud lahutusvõime:

kolonni materjal	roostevaba teras
pikkus	3,5 m
diameeter	3 mm
kataromeetrilise silla voolutugevus	150 mA
kandegaas	heelium
rõhk	2,5 baari
kandegaasi voolukiirus	45 ml/min
temperatuurid:	
aurusti	150 °C
detektor	150 °C
termostaat	65 °C

Piigi pindala saab täpsemini mõõta elektroonilise integreerimise teel.

6.2.2. Teiste kosmeetikatoodete proovide analüüsimisel

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

6.2.2.1. Kolonni täidis: *Chromosorb 105* või *Porapak QS*; leekionisatsioonidetektor.

6.2.2.2. Kolonni lahutusvõime R peab olema vähemalt 1,5.

$R = 2d' (r_2 - r_1) / (w_1 + w_2)$, kus:

r_2 ja r_1	– ainete retentsiooniajad, min;
w_1 ja w_2	– samade piikide laiused poolkõrgusel, mm;
d'	– isekirjuti lindi kiirus, mm/min.

6.2.2.3. Tingimused, mis võimaldavad saada nõutud lahutusvõime:

7. KALIBREERIMISGRAAFIK

7.1. gaasikromatograafiliseks määramiseks (6.2.1) *Hallcomid M18* kolonniga kasutada järgnevaid standardsegusid. Need segud tuleb kokku pipeteerida, kuid iga aine täpne kogus leida mõõtekolvi kaalumisega pärast iga pipeteerimist.

Metanooli: etanooli (2-propanooli) suhe	Metanool, ml	Etanool või 2- propanool, ml	Kloroform lisatakse kuni mahuni
umbes 2,5%	0,5	20	100 ml
umbes 5,0%	1,0	20	100 ml
umbes 7,5%	1,5	20	100 ml
umbes 10,0%	2,0	20	100 ml

Süstida 2–3 µl iga lahust kromatograafi. Kromatograferimise tingimused on toodud punktis 6.2.1.

Arvutada metanool/etanool või metanool/2-propanool piikide pindalade suhe kõikide standardsegude jaoks. Konstrueerida kalibreerimisgraafik, kandes x-teljele metanooli protsendi etanooli või 2-propanooli suhtes ja y-teljele vastavate piikide pindalade suhte (metanool/etanool või metanool/2-propanool).

7.2. Gaasikromatograafiliseks määramiseks punkti 6.2.2 järgi (*Porapak QS* või *Chromosorb 105* kolonniga) kasutada järgnevaid standardsegusid. Need segud tuleb kokku pipeteerida, kuid iga aine täpne kogus leida mõõtekolvi kaalumisega pärast iga pipeteerimist.

Metanooli : etanooli (2-propanooli) suhe	Metanool, µl	Etanool või 2- propanool, ml	Kloroform lisatakse kuni mahuni
umbes 2,5%	50	2	100 ml
umbes 5,0%	100	2	100 ml
umbes 7,5%	150	2	100 ml
umbes 10,0%	200	2	100 ml

Süstida 2–3 µl lahust kromatograafi. Kromatograferimise tingimused on toodud punktis 6.2.2.

Arvutada metanool/etanool või metanool/2-propanool piikide pindalade suhe kõikide standardsegude jaoks. Konstrueerida kalibreerimisgraafik, kandes x-teljele metanooli protsendi etanooli või 2-propanooli suhtes ja y-teljele vastavate piikide pindalade suhte (metanool/etanool või metanool/2-propanool).

7.3. Kalibreerimisgraafik peab olema lineaarne.

8. KORRATAVUS

Kui metanooli sisaldus proovis on 5% etanooli või 2-propanooli suhtes, siis kahe paralleelproovi tulemuste erinevus ei tohi ületada 0,25%.

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 82/434/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 15
sotsiaalministri
23. detsembr 1999. a
määruse nr 91 juurde

DIKLOROMETAANI JA 1,1,1-TRIKLOROETAANI MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

See meetod kirjeldab diklorometaani (metüleenkloriidi) ja 1,1,1-trikloroetaani määramist kõikides kosmeetikatoodetes, mis võivad sisaldada nimetatud lahusteid.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud diklorometaani ja 1,1,1-trikloroetaani sisaldus proovis väljendatakse massiprotsentides.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Diklorometaan ja 1,1,1-trikloroetaan määratakse gaasikromatograafiliselt, kasutades sisestandardina kloroformi.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. Kloroform (CHCl_3)
- 4.2. Tetrakloorsüsinik (CCl_4)
- 4.3. Diklorometaan (CH_2Cl_2)
- 4.4. 1,1,1-trikloroetaan (CH_3CCl_3)
- 4.5. Atsetoon
- 4.6. Lämmastik

5. APARATUUR

- 5.1. Harilik labori aparaatuur
- 5.2. Gaasikromatograaf, varustatud termilise juhtivusdetektoriga (kataromeetriga)
- 5.3. Vahepudel, 50–100 ml (vt lisa 3 punkti 5.3)
- 5.4. Gaasisüstal, 25 või 50 μl (vt lisa 3 punkti 5.4.2)

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Proov, mis ei ole surve all: kaaluda täpne kogus proovi suletavasse koonilisse kolbi. Lisada sisestandardina täpselt kaalutud kogus kloroformi (4.1), mis oleks ligilähedane diklorometaani ja 1,1,1-trikloroetaani oletatava sisaldusega proovis. Segada hoolikalt läbi.

6.2. Survepakendis proov: kasutada lisa 3 kirjeldatud proovivõtumeetodit, arvestades järgmiste täpsustustega:

6.2.1. Pärast proovi ülekandmist vahepudelis (5) ja pudeli kaalumist lisada sinna kindel kogus kloroformi (4.1) sisestandardina, mis oleks ligilähedane diklorometaani ja/või 1,1,1-trikloroetaani oletatava sisaldusega proovis.

Segada hoolikalt läbi. Ventiili tühimaht loputada 0,5 ml tetrakloorsüsinikuga (4.2). Pärast ventiili kuivatamist kaaluda pudel taas. Lisatud sisestandardi mass on kahe kaalumise vahe.

6.2.2. Pärast süstla täitmist prooviga tuleb süstla otsik lämmastikuga (4.6) läbi puhuda nii, et sinnaei jääks proovi jääke enne kromatograafi süstimist.

6.2.3. Pärast iga proovi võtmist tuleb ventiili ja ülekandedetaili pind loputada mitu korda atsetooniga (4.5) (kasutades nõuetekohaselt jahutatud süstalt) ja kuivatada hoolikalt lämmastikuga (4.6).

6.2.4. Iga proovi puhul võtta kaks paralleelproovi eraldi vahepudelitesse ja kummastki pudelist teha viis määramist.

7. KROMATOGRAFEERIMISE TINGIMUSED

7.1. Eelkolonn: roostevabast terasest, diameeter 3 mm või 6 mm, pikkus 300 mm, kolonni täidis –sama, mis analüütilises kolonnis.

7.2. Kolonn: statsionaarne faas –*Hallcomid M 18 Chromosorb*–il. Kolonni lahutusvõime peab olema vähemalt 1,5:

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_2 ja r_1 – retensiooniaeg, min;
 W_1 ja W_2 – piigi laius poolkõrgusel, mm;
 d' – lindi liikumiskiirus, mm/min.

7.3. Nõutud tulemuse annavad näiteks järgmised kolonnid:

Kolonn:	I	II
Materjal:	roostevaba teras	roostevaba teras
Pikkus:	350 cm	400 cm
Diameeter:	3 mm	6 mm
Kandja:		
<i>Chromosorb:</i>	<i>WAW</i>	<i>WAW-DMCS-HP</i>
sõelanalüüs:	100–120 <i>mesh</i> 'i	60–80 <i>mesh</i> 'i
statsioonarne faas:	<i>Hallcomid M 18,10%</i>	<i>Hallcomid M 18,20%</i>

Temperatuuritingimused võivad varieeruda olenevalt kromatograafist.

Näiteks võivad nad olla järgmised:

8. SUHTELISE VASTUSTEGURI MÄÄRAMISE SEGU

Teha suletavasse koonilisse kolbi segu järmistest täpselt kaalutud ainetest:

- diklorometaan (4.3), 30% (m/m);
- 1,1,1-trikloroetaan (4.4), 35% (m/m);
- kloroform (4.1), 35% (m/m).

9. ARVUTUSED

9.1. Aine «p» suhtelise vastusteguri leidmine sisestandardina kasutatud aine «a» suhtes.

Olgu esimene aine «p» ja:

- k_p – tema vastustegur;
- m_p – tema mass segus;
- A_p – tema piigi pindala.

Olgu teine aine «a» ja:

- k_a – tema suhteline tundlikkus ($k_a = 1$);
- M_a – tema mass segus;
- A_a – tema piigi pindala, siis:
 $k_p = m_p \cdot A_a / M_a \cdot A_p$.

Näiteks on saadud järgmised suhtelised vastustegurid kloroformi suhtes:

diklorometaan: $k_1 = 0,78 - 0,03$;

1,1,1-trikloroetaan: $k_2 = 1,00 - 0,03$.

9.2. Diklorometaani ja 1,1,1-trikloroetaani sisalduse arvutamine:

Olgu:

- m_a – sisseviidud kloroformi mass, g;
- M_a – analüüsitud proovi mass, g;
- A_a – kloroformi piigi pindala;
- A_1 – diklorometaani piigi pindala;
- A_2 – 1,1,1-trikloroetaani piigi pindala, siis:
 $C_1 = m_a \cdot A_1 - k_1 - 100 / A_a - M_a$;
- $C_2 = m_a \cdot A_2 - k_2 - 100 / A_a - M_a$, kus:
 C_1 – diklorometaani kogus proovis (massiprotsentides);
 C_2 – 1,1,1-trikloroetaani kogus proovis (massiprotsentides).

10. KORRATAVUS

25%-lise diklorometaani ja/või 1,1,1-trikloroetaani sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 2,5%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 16
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a

8-HÜDROKSÜKINOLIINI JA BIS(8-HÜDROKSÜKINOLIIN)SULFAADI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod kirjeldab 8-hüdroksükinoliini (kinoliin-8-ooli) ja tema sulfaadi identifitseerimist ja kvantitatiivset määramist.

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodi järgi määratud 8-hüdroksükinoliini ja bis(8-hüdroksükinoliin)sulfaadi sisaldus proovis väljendatakse 8-hüdroksükinoliini massiprotsentides.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

3.1. Identifitseerimine

8-hüdroksükinoliin identifitseeritakse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.

3.2. Määramine

Reaktsioonis 8-hüdroksükinoliini ja *Fehling*'i lahuse vahel tekib kompleks, mille neeldumine määratakse spektrofotomeetriliselt 410 nm juures.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. 8-hüdroksükinoliin

4.2. Benseen. Tema toksilisuse tõttu tuleb töötades olla väga hoolikas!

4.3. Kloroform

4.4. Naatriumhüdroksiid, 50% vesilahus

4.5. Vasksulfaatpentahüdraat

4.6. Kaalium-naatriumtartraat

4.7. Soolhape, 1 N

4.8. Väävelhape, 0,5 M

4.9. Naatriumhüdroksiidi lahus, 1 M

4.10. Etanool

4.11. 1-butanool

4.12. Kontsentreeritud äädikhape

4.13. Soolhape, 0,1 N

4.14. *Celite 545* või samaväärne

4.15. Standardlahused:

4.15.1. 100 mg 8-hüdroksükinoliini (4.1) kaaluda 100-ml mõõtekolbi ja lahustada väikeses hulgas väävelhappes (4.8). Mõõtekolb täita väävelhappega (4.8) märgini.

4.15.2. 100 mg 8-hüdroksükinoliini (4.1) kaaluda 100-ml mõõtekolbi ja lahustada etanoolis (4.10). Mõõtekolb täita etanooliga (4.10) märgini ja segada.

4.16. *Fehling*'i lahus

Lahus A

7 g vasksulfaatpentahüdraati (4.5) kaaluda 100-ml mõõtekolbi ja lahustada väheses hulgas vees. Mõõtekolb täita veega märgini ja segada.

Lahus B

35 g kaalium-naatriumtartraati (4.6) kaaluda 100-ml mõõtekolbi ja lahustada 50 ml vees. Lisada 20 ml naatriumhüdrosiidi (4.4), täita veega märgini ja segada. Vahetult enne kasutamist pipeteerida 10 ml lahust A ja 10 ml lahust B 100-ml mõõtekolbi, täita veega märgini ja segada.

4.17. Elueerimislahused õhekihikromatograafiaks:

I lahus: 1-butaanool (4.11), äädikhape (4.12), vesi (mahulises vahekorras 80:20:20);

II lahus: kloroform (4.3), äädikhape (4.12) (mahulises vahekorras 95:5).

4.18. 2,6-dikloro-4-(kloroimino)tsükloheksa-2,5-dienoon, 10 g/l lahus etanoolis (4.10)

4.19. Naatriumkarbonaat, 10 g/l vesilahus

4.20. Etanool (4.10), 30% (v/v) vesilahus

4.21. Trilon B, 50 g/l vesilahus

4.22. Puhverlahus, pH 7

27 g veevaba kaaliumdivesinikfosfaati ja 70 g dikaaliumvesinikfosfaadi trihüdraati kaalutakse 1-liitrisesse mõõtekolbi ning kolb täidetakse veega märgini.

4.23. ÕKK-plaadid

Valmis ÕKK-plaadid, sorbendi kihi paksus 0,25 mm (nt *Merck Kieselgel 60*või samaväärsed). Enne kasutamist pritsitakse plaat üle 10 ml reaktiiviga 4.21 ja kuivatatakse 80 °C juures.

5. APARATUUR

5.1. Lihviga ümarkolb, 100 ml

5.2. Mõõtekolvid

5.3. Gradueeritud pipetid, 5 ml ja 10 ml

5.4. Mahtpipetid, 20, 15 ja 5 ml

5.5. Jaotuslehtid, 100, 50 ja 25 ml

5.6. Kurdfilter, läbimõõt 90 mm

5.7. Rotatsioonaurusti

5.8. Lihviga püstjahuti

5.9. Spektrofotomeeter

5.10. Spektrofotomeeteri küvetid, optiline teepikkus 10 mm

5.11. Küttega magnetsegaja

5.12. Klaaskolonn: 160 mm pikk, läbimõõt 8 mm, allosas kitsenev, kuhu pannakse klaasvatist tropp ja ülemises otsas adapter rõhu rakendamiseks.

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Identifitseerimine

6.1.1. Vedelad proovid

6.1.1.1. Katsekoguse pH viia 7,5-ni ja 10 µl proovi kanda ÕKK-plaadi (4.23) stardijoonele.

6.1.1.2. 10 ja 30 µl standardlahust (4.15.2) kanda ÕKK-plaadi stardijoonele kahte teise punkti. Plaat panna kromatograafitanki, kuhu on valatud ühte kahest elueerimislahusest (4.17).

6.1.1.3. Kui lahus on tõusnud 15 cm kõrgusele, kuivatada plaati 110 °C juures 15 minutit. UV-lambi (366 nm) all fluorestseeruvad 8-hüdroksükinioliini laigud kollaselt.

6.1.1.4. Plaati pritsitakse naatriumkarbonaadi lahusega (4.19), kuivatada ja pritsida 2,6-dikloro-4-(kloroimino)tsükloheksa-2,5-dienooni lahusega (4.18). 8-hüdroksükinioliin annab sinised laigud.

6.1.2. Tahked proovid või kreemid

6.1.2.1. Dispergeerida 1 g proovi 5 ml puhverlahuses (4.22) ning kanda 10 ml kloroformiga (4.3) üle jaotuslehttrisse, loksutada. Pärast kloroformi eraldamist ekstraheerida vesilahust veel kaks korda kloroformiga. Ühendatud ja filtreeritud kloroformi ekstrakt aurutada peaaegu kuivaks 100-ml ümarkolvis (5.1) rotatsioonaurustis (5.7). Jääk lahustada 2 ml kloroformis (4.3) ja 10 ja 30 µl saadud lahust kanda ÖKK-plaadi (4.23) stardijoonele, nagu on kirjeldatud punktis 6.1.1.1.
6.1.2.2. ÖKK-plaadile kanda ka 10 ja 30 µl standardlahust (4.15.2) ja jätkata nagu on kirjeldatud punktides 6.1.1.2– 6.1.1.4.

6.2. Määramine

6.2.1. Vedelad proovid

6.2.1.1. 5 g proovi kaaluda 100-ml ümarkolbi. Lisada 1 ml väävelhappelahust (4.8) ja aurutada segu peaaegu kuivaks alarõhu ja 50 °C juures.

6.2.1.2. Jääk lahustada 20 ml soojas vees ja kanda üle 100-ml mõõtekolbi. Loputada kolm korda 20 ml veega. Viia 100 ml-ni ja segada.

6.2.1.3. Pipeteerida 5 ml seda lahust 50-ml jaotuslehttrisse (5.5). Lisada 10 ml *Fehling*'i lahust (4.16).

Ekstraheerida moodustunud 8-hüdroksükiniin-vaskkompleks kolm korda 8 ml kloroformiga (4.3).

6.2.1.4. Kloroformikihid koguda ja filtreerida 25-ml mõõtekolbi (5.2). Kolb täita kloroformiga märgini ja loksutada. Lahuse optiline tihedus mõõta 410 nm juures kloroformi suhtes.

6.2.2. Tahked proovid või kreemid

6.2.2.1. Kaaluda 0,500 g proovi 100-ml ümarkolbi (5), lisada 30 ml benseeni (4.2) ja 20 ml soolhapet (4.7). Kolville panna püstjahu ja keeta 30 minutit kolvi sisu segades.

6.2.2.2. Kolvi sisu valada 100-ml jaotuslehttrisse (5.5) ja kolb loputada 5 ml 1 N HCl-ga (4.7). Veefaas lasta ümarkolbi (5.1) ja benseenifaasi loputada 5 ml soolhappega (4.7), mis lisada ümarkolbi.

6.2.2.3. Juhul kui tekib emulsioon, mis takistab edasist tööd, tuleb 0,500 g proovi segada 2 g *Celite 545*-ga (4.14), et tekiks vabalt liikuv pulber. Segu viia üle väikeste portsjonite kaupa klaasist kromatograafiakoloni (5.12).

Pärast iga lisamist tampida viimane portsjon korralikult kinni. Soolhappega (4.3) elueerimist alustada kohe pärast koloni täitmist. Elueerimiskiirus on umbes 1 ml/min (kui vaja, elueeritakse lämmastiku kerge rõhu all). Tuleb jälgida, et kolonitaidis oleks kogu aeg kaetud soolhappega. Esimese 10 ml eluaadiga toimida nii, nagu on kirjeldatud punktis 6.2.2.4.

6.2.2.4. Kogutud vesifaasid (6.2.2.2) aurutada rotatsioonaurustil vaakumis peaaegu kuivaks.

6.2.2.5. Jääk lahustada 6 ml naatriumhüdroksüüdi lahuses (4.9), lisada 20 ml *Fehling*'i lahust (4.1) ja kolvi sisu kanda üle 50-ml jaotuslehttrisse (5.5). Kolb loputada 8 ml kloroformiga (4.3). Loksutada ja kloroformifaas filtreerida 50-ml mõõtekolbi (5.2).

6.2.2.6. Ekstraheerimist 8 ml kloroformiga (4) korrata kolm korda ja kõik kloroformi faasid filtreerida 50-ml mõõtekolbi. Kolb täita kloroformiga märgini ja loksutada. Kollase lahuse optiline tihedus mõõta 410 nm juures kloroformi suhtes.

7. KALIBREERIMISGRAAFIK

Võtta neli 100-ml ümarkolbi (5.1) ja kõikidesse kolbidesse pipeteerida 3 ml 30% etanooli vesilahust (4.20). Neisse pipeteerida veel 5, 10, 15 ja 20 ml standardlahust (4.15.1). Kolbides on vastavalt 5, 10, 15 ja 20 mg 8-hüdroksükiniini. Edasi toimida punkti 6.2.1 järgi.

8. ARVUTUSED

8.1. Vedelad proovid

8-hüdroksükiniini sisaldus M (massiprotsentides) arvutada valemist:

$$M = a / m \times 100, \text{ kus}$$

a –lahuse optilisele tihedusele vastav 8-hüdroksükiniini sisaldus milligrammides kalibreerimisgraafikul (7);
m –katsekoguse mass (6.2.1.1), mg.

8.2. Vedelad proovid ja kreemid

8-hüdroksükiniini sisaldus M (massiprotsentides) arvutatakse valemist:

$$M = 2a / m - 100, \text{ kus}$$

a –lahuse optilisele tihedusele vastav 8-hüdroksükiniini sisaldus milligrammides kalibreerimisgraafikul (7);
m –katsekoguse mass (6.2.1.1), mg.

9. KORRATAVUS

Ligikaudu 0,3%-lise 8-hüdroksükinioliini sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste vahe ületada 0,02%.

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 17
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

AMMONIAAGI MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod kirjeldab vaba ammoniaagi määramist kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodi järgi määratud ammoniaagi sisaldus proovis väljendada ammoniaagi massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Metanooli vesilahusega lahjendatud kosmeetikatoote katsekogusele lisatakse baariumkloriidi lahust. Kui tekib sade, filtreeritakse või tsentrifuugitakse see välja. See protseduur väldib ammoniaagi kadu veeauru destillatsioonil rasvhapete ammooniumisooladest, samuti ammooniumkarbonaadist ja -hüdrokarbonaadist. Kadusid ei õnnestu vältida ainult ammooniumatsetaadi puhul. Ammoniaak destilleeritakse veeauruga filtraadist või supernatandist ja määratakse potentsiomeetrilise või mõne muu tiitrimismeetodiga.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Metanool

4.2. Baariumkloriidi lahus, 250 g/l

4.3. Ortoboorhappe lahus, 40 g/l

4.4. Väävelhape, 0,25 M standardlahus

4.5. Vahutamisvastane vedelik

4.6. Naatriumhüdroksüüd, 0,25 M standardlahus

4.7. Indikaator, vajaduse korral: 5 ml metüülpunase etanoolilahust (1 g/l) segada 2 ml metüleensinise vesilahusega (1 g/l).

5. APARATUUR

5.1. Harilik labori aparaat

5.2. Tsentrifuug koos 100-ml korgiga tsentrifuugiklaasidega

5.3. Veeauruga destilleerimise seade

5.4. Potentsiomeeter

5.5. Indikaatorelektrood ja kalomelektrood

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. 100-ml mõõtekolbi kaaluda selline katsekogus (g) kosmeetikatoodet, mille oletatav ammoniaagisisaldus on maksimaalselt 150 mg.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

6.2. Kolbi lisada 10 ml vett, 10 ml metanooli (4.1) ja 10 ml baariumkloriidi lahust (4.2) ning täita metanooliga 100 ml-ni.

6.3. Segada ja jätta ööseks külmkappi seisma (5 °C).

6.4. Külm lahus tsentrifuugida suletud katseklaasides või filtreerida, etsaadaläbipaistev selge filtraat või supernatant.

6.5. Pipeteerida 40 ml selget lahust veeauruga destilleerimise seadmesse (5.3) ja vajadusel lisada 0,5 ml vahutamisevastast vahendit (4.5).

6.6. Destilleerida ja koguda 200 ml destillaati 250-ml keeduklaasi, mis sisaldab 10 ml väävelhappe standardlahust (4.4) ja 0,1 ml indikaatorit (4.7).

6.7. Happe liig tiitrida tagasi naatriumhüdrosüüdi lahusega (4.6).

6.8. NB! Potentsiomeetrilise tiitrimise jaoks koguda 200 ml destillaati 250-ml keeduklaasi, mis sisaldab 25 ml ortoboorhappe lahust (4.3) ja tiitrida väävelhappe standardlahusega (4.4). Joonistada tiitrimiskõver.

7. ARVUTUSED

7.1. Arvutus tagasitiitrimise korral:

Ammoniaagi sisaldus kosmeetikatootes M (massiprotsentides) leida valemist:

$M = (20 N_2 - V_1 N_1) \times 17 \times 100 / 0,4 m = (20 N_2 - V_1 N_1) \times 4250 / m$, kus:

V_1 – tiitrimiseks kulunud naatriumhüdrosüüdi (4.6) maht, ml;

N_1 – naatriumhüdrosüüdi lahuse (4.6) normaalsus;

N_2 – väävelhappe lahuse (4.4) normaalsus;

m – katsekoguse (6.1 k) mass, mg.

7.2. Arvutus otsesel potentsiomeetrilisel tiitrimisel:

Ammoniaagi sisaldus kosmeetikatootes M (massiprotsentides) leida valemist:

$M = V_2 \times N_2 \times 17 \times 100 / 0,4 m = 4250 V_2 N_2 / m$, kus:

V_2 – tiitrimiseks kulunud väävelhappe (4.4) maht, ml;

N_2 – väävelhappe lahuse (4.4) normaalsus;

m – katsekoguse (6.1) mass, mg.

8. KORRATAVUS

Ligikaudu 6%-lise ammoniaagisisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,6%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 18
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

NITROMETAANI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod sobib kuni 0,3% nitrometaani identifitseerimiseks ja määramiseks kosmeetikatoodetes, mis on pakendatud survepakendisse.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodi järgi määratud nitrometaani sisaldus väljendatakse nitrometaani massiprotsentides kogu survepakendi sisu kohta.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Nitrometaan identifitseeritakse värvusreaktsiooni järgi. Nitrometaan määratakse gaasikromatograafiliselt pärast sisestandardi lisamist.

4. IDENTIFITSEERIMINE

4.1. Reaktiivid

4.1.1. Naatriumhüdroksiid, 0,5 M lahus

4.1.2. *Folin*- i reaktiiv

0,1 g naatrium-3,4-dihüdro-3,4-dioksonaftaleen-1-sulfonaati lahustatakse 100 ml vees.

4.2. Analüüsi käik

1 ml proovile lisada 10 ml lahust (4.1.1) ja 1 ml lahust (4.1.2). Violetne värvus näitab nitrometaani olemasolu.

5. MÄÄRAMINE

5.1. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

5.1.1. Kloroform (sisestandard 1)

5.1.2. 2,4-dimetüülheptaan (sisestandard 2)

5.1.3. Etanool, 95%

5.1.4. Nitrometaan

5.1.5. Kloroformi standardlahus:

Kaalutud 25-ml mõõtekolbi viia ligikaudu 650 mg kloroformi (5.1.1). Kolb koos kloroformiga kaaluda taas.

Kolb täita 95% etanooliga (5.1.3) märgini. Kolb kaaluda ja arvutada kloroformi massiprotsent selles lahuses.

5.1.6. 2,4-dimetüülheptaan standardlahus:

Toimida analoogselt eelmises lõigus kirjeldatule, kaaludes kloroformi asemel 270 mg 2,4-dimetüülheptaan (5.1.2).

5.2. Aparatuur

5.2.1. Gaasikromatograaf leekionisatsioonidetektoriga

5.2.2. Aparatuur proovivõtuks survepakendist (vt lisa 3)

5.2.3. Tavaline labori aparatuur

5.3. Analüüsi käik

5.3.1. Proovi ettevalmistamine

Eelnevalt kaalutud 100-ml vahepudelis, mis on läbi puhutud või teiseldatud vastavalt lisa 3 punktis 5 toodule, sisestada ligikaudu 5 ml kas kloroformi (5.1.5) või 2,4-dimetüülheptaan (5.1.6) sisestandardi lahust. Kasutada nõelata 10- või 20-ml klaassüstalt, mis on sobitatud ülekandelüliliga lisa 3 punktis 5 kirjeldatud viisil. Kaaluda vahepudel uuesti sisestatud hulga täpselt määramiseks. Sama tehnikat kasutades kanda sellesse pudelis üle umbes 50 g kosmeetikatoodet. Vahepudel kaaluda, et määrata täpne proovi kogus. Segada hoolega.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5.3.2. Standardi ettevalmistamine

50-ml mõõtekolbi kaaluda analüütilistel kaaludel ligikaudu 500 mg nitrometaani (5.1.4) ja kas 500 mg kloroformi (5.1.1) või 210 mg 2,4-dimetüülheptaan (5.1.2). Kolb täita 95% etanooliga (5.1.3) märgini. Segada hoolikalt. 5 ml seda lahust pipeteerida 20-ml mõõtekolbi. Kolb täita 95% etanooliga (5.1.3) märgini.

Gaasikromatograafi süstida mikrosüstlaga (5.2.2) umbes 10 µl. Teha viis kordussüstimist.

5.3.3. Gaasikromatograafia

5.3.3.1. Kolonn

Kolonn koosneb kahest osast. Esimene osa sisaldab didetsüülfalaati *Gas Chrom Q*µl, teine osa *Ucon 50 HB 280X Gas Chrom Q*µl. Selle kombineeritud kolonni lahutusvõime R peab olema parem kui 1,5.

R arvutatakse valemist:

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_1 ja r_2 – kahe aine retensioonitajad, min;

W_1 ja W_2 – piikide laiused poolkõrgusel, mm;

d' – isekirjutaja lindi kiirus, mm/min.

Nõutud lahutusvõime annavad näiteks kaks järgmist varianti:

Kolonn A:

materjal: roostevaba teras;

pikkus: 1,5 m;
diameeter: 3 mm;
täidis: 20% didetsüülfalaati *Gas Chrom Q* μ l (100– 120 mesh'i).

Kolonn B:
materjal: roostevaba teras;
pikkus: 1,5 m;
diameeter: 3 mm;
täidis: 20% *Ucon 50 HB 280X Gas Chrom Q* μ l (100– 120 mesh'i).

Leekionisatsioonidetektori elektromeetri sobivaks tundlikkuseks on $8 - 10^{-10}$ A.

5.3.3.3. Temperatuurid:
aurusti: 150 °C;
detektor: 150 °C;
kolonn: 50– 80 °C (oleneb kolonni ja kromatograafi iseärasustest).

5.3.3.4. Gaasid:
kandegaas: lämmastik;
rõhk: 2,1 baari;
voolukiirus: 40 ml/min.

6. ARVUTUSED

6.1. Nitrometaani vastustegur (*response factor*), arvutatud kasutatud sisestandardi suhtes:

$k_n = m'_n \times S'_c / m'_c \times S'_n$, kus:
 k_n – nitrometaani vastustegur (k_n on aparraadi funktsioon);
 m'_n – nitrometaani mass (g) segus;
 S'_n – nitrometaani piigi pindala;
 m'_c – sisestandardi mass (g) segus;
 S'_c – sisestandardi piigi pindala.

6.2. Nitrometaani sisaldus proovis leitakse valemist:

$M = 100 \times m'_c \times m'_c \times S'_n / a \times S'_c$, kus:
 k_n – nitrometaan vastustegur;
 S'_n – nitrometaani piigi pindala;

m'_c – sisestandardi mass (g) segus;
 S'_c – sisestandardi piigi pindala;
 a – ülekantud aerosooli mass (g);

7. KORRATAVUS

Ligikaudu 0,3% nitrometaani sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,03%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 19
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

MERKAPTOÄÄDIKHAPPE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE JUUKSETUGEVDUSVAHENDITES, JUUKSEKOOLOUTUSVAHENDITES JA DEPILAATORITES*

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod kirjeldab merkaptöädikhappe identifitseerimist ja määramist juuksetugevdus- ja juuksekoolustusvahendites, lokivedelikes ja depilaatorites, milles võivad olla ka teised redutseerivad ained.

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi leitud merkaptöädikhappe sisaldus proovis väljendatakse merkaptöädikhappe massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Merkaptoäädikhape identifitseeritakse tilkanalüüsiga ja õhekihikromatograafia (ÕKK) abil ning määratakse jodomeetriliselt või gaasikromatograafiliselt.

4. IDENTIFITSEERIMINE

4.1. Identifitseerimine tilkanalüüsiga

4.1.1. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1.1.1. Pliidiatsetaapaber

4.1.1.2. Soolhappe lahus (üks osa kontsentreeritud soolhapet ja üks osa vett)

4.1.2. Analüüsi käik

4.1.2.1. Merkaptoäädikhappe identifitseerimine värvusreaktsiooni abil pliidiatsetaadiga

Tilk uuritavat proovi tilgutada pliidiatsetaapaberile (4.1.1.1). Kui tekib erkkollane laik, siis on proovis tõenäoliselt merkaptoäädikhapet.

Tundlikkus: 0,5%.

4.1.2.2. Anorgaaniliste sulfiidide identifitseerimine hapustamisel tekkiva vesiniksulfiidi abil

Katseklaasi viia väike kogus uuritavat proovi. Lisada 2 ml destilleeritud vett ja 1 ml soolhapet (4.1.1.2). Eralduv vesiniksulfiid on äratuntav tema lõhna järgi. Pliidiatsetaapaberil (4.1.1.1) moodustub must pliiisulfiidi sade.

4.1.2.3. Sulfitite identifitseerimine hapustamisel tekkiva vääveldioksiidi abil

Toimida alapunkti 4.1.2.2 järgi. Segu ajada keema. Vääveldioksiid on äratuntav tema lõhna järgi ja tema redutseerivate omaduste järgi (näiteks reaktsioon permanganaatiooniga).

4.2. Identifitseerimine ÕKK abil

4.2.1. Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad, juhul kui ei ole nõutud teisiti.

4.2.1.1. Merkaptoäädikhape (tioglükoolhape), minimaalne puhtus 98% (jodomeetriliselt)

4.2.1.2. 2,2'-ditiidiäädikhape, minimaalne puhtus 99% (jodomeetriliselt)

4.2.1.3. 2-merkaptopropioonhape (tiopiimhape), minimaalne puhtus 95% (jodomeetriliselt)

4.2.1.4. 3-merkaptopropioonhape, minimaalne puhtus 98% (jodomeetriliselt)

4.2.1.5. 3-merkaptopropaan-1,2-diool (1-tioglütserool), minimaalne puhtus 98% (jodomeetriliselt)

4.2.1.6. Õhekihikromatograafia plaat, 0,25 mm silikageeli

4.2.1.7. Õhekihikromatograafia plaat, alumiiniumoksid, *Merck F 254 E* või samaväärne

4.2.1.8. Soolhappe kontsentreeritud, $d^{20} = 1,19$ g/ml

4.2.1.9. Etüülatsetaat

4.2.1.10. Kloroform

4.2.1.11. Diisopropüleeter

4.2.1.12. Süsiniktetrakloriid

4.2.1.13. Kontsentreeritud äädikhape

4.2.1.14. Kaaliumjodiidi vesilahus, 10 g/l

4.2.1.15. Plaatinatetrakloriidi vesilahus, 10 g/l

4.2.1.16. Elueerimislahused:

4.2.1.16.1. etüülatsetaat (4.2.1.9), kloroform (4.2.1.10), diisopropüleeter (4.2.1.11), äädikhape (4.2.1.13) (mahulises vahekorras 20:20:10:10);

4.2.1.16.2. kloroform (4.2.1.10), äädikhape (4.2.1.13) (mahulises vahekorras 90:20).

4.2.1.17. Ilmutid:

4.2.1.17.1. vahetult enne kasutamist segada võrdsetes mahtudes lahused 4.2.1.14 ja 4.2.1.15;

4.2.1.17.2. broomi lahus, 55 g/l: 5 g broomi lahustada 100 ml süsiniktetrakloriidis (4.2.1.12);

4.2.1.17.3. fluorestsüünilahus, 1 g/l: 100 mg fluorestsüüni lahustada 100 ml etnoolis;

4.2.1.17.4. heksaamooniumheptamolüüdaadi vesilahus, 100 g/l.

4.2.1.18. Standardlahused:

4.2.1.18.1. merkaptoäädikhappe (4.2.1.1) vesilahus, 4 g/l;

4.2.1.18.2. 2,2'-ditiidiäädikhappe (4.2.1.2) vesilahus, 4 g/l;

4.2.1.18.3. 2-merkaptopropioonhappe (4.2.1.3) vesilahus, 4 g/l;

4.2.1.18.4. 3-merkaptopropioonhappe (4.2.1.4) vesilahus, 4 g/l;

4.2.1.18.5. 3-merkaptopropaan-1,2-dioli (4.2.1.5) vesilahus, 4 g/l.

4.2.2. Aparatuur

Tavalised ÕKK vahendid.

4.2.3. Analüüsi käik

4.2.3.1. Proovi ettevalmistamine

Katsekogus hapustada pH 1-ni mõne tilga soolhappega (4.2.1.8) ja vajadusel filtreerida.

Juhul kui proovi on vaja lahjendada, hapustada see enne lahjendamist.

4.2.3.2. Elueerimine

Plaadile kanda 1 µl proovilahust (4.2.3.1) ja 1 µl iga standardlahust (4.2.1.18). Plaat kuivatada hoolikalt kerges lämmastikuvoolus ja elueerida lahustitega 4.2.1.16.1 või 4.2.1.16.2. Plaat kuivatada nii ruttu kui võimalik, et minimaliseerida tioolide oksüdatsiooni.

4.2.3.3. Määramine

Plaati pritsida ühega kolmest reakriivist 4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 või 4.2.1.17.4. Juhul kui plaati pritsiti reaktiiviga 4.2.1.17.3, siis töödelda plaati broomiaurudega. Tanki panna väike keeduklaas reaktiiviga 4.2.1.17.4, kuni laigud on muutunud nähtavaks. Määramine reaktiiviga 4.2.1.17.4 pritsimise teel on mõttekas ainult siis, kui kuivatusaeg ei ületa 30 minutit.

4.2.3.4. Interpreteerimine

Võrrelda standardlahuste Rf väärtust ja laikude värvust standardlahuste omaga. Allpool toodud Rf väärtused on ligikaudsed. Rf väärtused sõltuvad:

- ÖKK plaadi aktivatsiooniseisundist kromatograferimise momendil;
- kromatograferimistanki temperatuurist.

Ligikaudsed Rf väärtused ÖKK silikageelplaatidel

Standard	Elueerimislahus	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Merkaptoäädikhape	0,25	0,80
2-merkaptopropioonhape	0,40	0,95
2,2'-ditiodiäädikhape	0,00	0,35
3-merkaptopropioonhape	0,45	0,95
Merkaptopropaan-1,2-diool	0,45	0,35

5. MÄÄRAMINE

Määramiseks võtta kinnine müügipakend, et vältida määratavate ainete oksüdatsiooni.

Määramine algab igal juhul jodomeetrilise tiitrimisega.

5.1. Jodomeetria

5.1.1. Meetodi põhimõte

Määramine põhineb SH-rühma oksüdatsioonil joodiga happelises keskkonnas vastavalt järgmisele võrrandile:



5.1.2. Reaktiivid

Jood, 0,05 M standardlahus

5.1.3. Aparatuur

Tavaline laborivarustus

5.1.4. Analüüsi käik

Täpne kogus (0,5– 1 g) proovi kaaluda 150-ml korgiga koonilisse kolbi, milles on 50 ml destilleeritud vett.

Lisada 5 ml soolhapet (4.1.1.2, pH ligikaudu 0) ja tiitrida joodi lahusega 5.1.2 kuni kollase värvuse ilmuniseni. Soovi korral kasutada indikaatorit (tärgliselahust või süsiniktetrakloriidi).

5.1.5. Arvutused

Merkaptoäädikhappe sisaldus proovis M (massiprotsentides) arvutada järgmise valemi järgi:

$$M = 92 \times n \times 100 / 1000 \times 10 \times m = 0,92n / m, \text{ kus:}$$

m –katsekoguse mass, g;

n –tiitrimisel kulunud joodilahuse (5.1.2) maht, ml.

5.1.6. Märkus

Kui merkaptoäädikhappe sisaldus on 0,1% või enam alla lubatud piirkontsentratsiooni, siis ei ole vajadust määramist jätkata. Kui tulemus on võrdne või kõrgem kui lubatud piirkontsentratsioon ja kui määramisel on avastatud mitu redutseerivat ainet, on vajalik läbi viia gaasikromatograafiline määramine.

5.2. Gaasikromatograafia

5.2.1. Meetodi põhimõte

Merkaptoäädikhape eraldatakse ekstsipiendilt kaadmiumdiatsetaadiga sadestamise teel. Pärast metüleerimist diasometaaniga, mis valmistatakse *in situ* või varem dietüüleetri lahusega, määratakse merkaptoäädikhappe metüül-derivaat gaasi- või vedelikkromatograafiliselt. Sisestandardina kasutatakse metüül-oktanoaati.

5.2.2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

5.2.2.1. Merkaptoäädikhape, 98%

5.2.2.2. Soolhape, kontsenteeritud, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml

5.2.2.3. Metanool

5.2.2.4. Kaadmiumdiatsetaadihüdraadi vesilahus, 100 g/l

5.2.2.5. Metüül-oktanoaadi lahus metanoolis, 20 g/l

5.2.2.6. Atsetaatpuhver: naatriumatsetaatrihüdraati 77 g ja kontsenteeritud äädikhapet 27,5 g lahustada demineraliseeritud vees ja lahuse maht viia ühe liitrini.

5.2.1.7. Soolhape, värskelt valmistatud 3 M lahus metanoolis (5.2.2.3)

5.2.1.8. 1-metüül-3-nitro-1-nitrosoguanidiin

5.2.1.9. Naatriumhüdroksüüd, 5 M lahus

5.2.1.10. Jood, 0,05 M standardlahus

5.2.1.11. Dietüüleeter

5.2.1.12. Diasometaani lahus, mis on valmistatud N-metüül-N-nitrosotolueen-4-sulfoonamiidist (*Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967*).

Saadud lahus sisaldab umbes 1,5 g diasometaani 100 ml dietüüleetris. Kuna diasometaan on väga toksiline ja ebapüsiv gaas, tuleb kõik katsed läbi viia hea tõmbega tõmbekapis ja vältida klaaslihvidega seadmete kasutamist (on olemas spetsiaalsed seadmed selleks reaktsiooniks).

5.2.3. Aparatuur

5.2.3.1. Tavaline labori aparatuur

5.2.3.2. Seade diasometaani saamiseks *in situ* metüleerimiseks (vt Fales, H.M., Jaouni, T.M. and Babashak, J.F., *Analyt. Chem.* 1973, 45, 2302)

5.2.3.3. Seade diasometaani eelnevaks valmistamiseks (*Fieser*)

5.2.4. Proovi ettevalmistamine

50-ml tsentrifuugiklaasi kaaluda piisav kogus proovi, mis sisaldab eeldatavalt 50–70 mg merkaptoäädikhapet. Proov hapustada mõne tilga soolhappes (5.2.2.2), nii et pH oleks ligikaudu 3.

Proovile lisada 5 ml demineraliseeritud vett ja 10 ml atsetaatpuhvrit (5.2.2.6).

pH-paberiga kontrollida, et pH oleks ligikaudu 5. Lisada 5 ml kaadmiumdiatsetaadi lahust (5.2.2.4).

Lasta seista kümme minutit ja tsentrifuugida vähemalt 15 minutit 4000 g juures. Eemaldada supernatantvedelik, mis võib sisaldada lahustumatut rasva (juhul kui on tegemist kreemidega). Rasva ei saa segi ajada tiolidega, mis kogunevad kompaktsena katseklaasi põhja. Kui supernatandile lisada mõni tilk kaadmiumdiatsetaadi lahust (5.2.2.4), ei tohi tekkida sadet.

Kui eelnevalt on tõestatud, et proovis peale tiolide teisi redutseerijaid ei esine, tuleb jodomeetriselt kontrollida, et tiolide kontsentratsioon supernatandis ei ületaks 6–8% esialgsest kogusest.

10 ml metanooli (5.2.2.3) lisada sademega tsentrifuugiklaasi ja dispergeerida sade pulgakese segades. Tsentrifugeerida uuesti vähemalt 15 minutit 4000 g juures. Supernatant valada välja ja kontrollida, ettaei sisaldaks tiole.

Sadet pesta veel kord ülalkirjeldatud viisil.

Tsentrifugeeriklaasi lisada:

– 2 ml metüül-oktanoaadi lahust (5.2.2.5);

– 5 ml soolhappe lahust metanoolis (5.2.2.7).

Lahustada tiolid täielikult (väike kogus lahustumatuid aineid võib püsima jääda ekstsipiendist). See lahus tähistatakse tähega «S».

Selles lahuses peab tiolide sisaldus jodomeetriselise määramise järgi olema vähemalt 90% sellest sisaldusest, mis määrati punktis 5.1.

5.2.5. Metüleerimine

Metüleerimine viia läbi kas *in situ* (5.2.5.1) või varem valmistatud diasometaani lahusega (5.2.5.2).

5.2.5.1. Metüleerimine *in situ*

Metüleerimisseadmesse (5.2.3), mis sisaldab 1 ml eetrit (5.2.2.11), viia 50 µl lahust «S» ja metüleerida umbes 300 mg 1-metüül-3-nitro-1-nitrosoguanidiiniga (5.2.2.8) meetodi 5.2.3.2 järgi. 15 minuti pärast (eetrilahus peab jääma kollaseks, mis näitab diasometaani liiga) viia proovilahus 2-ml õhukindlalt suletavasse pudelisse ja panna ööseks külmikusse. Korruga metüleeritakse kaks proovi.

5.2.5.2. Metüleerimine varemvalmistatud diasometaani lahusega

5-ml korgiga suletavasse kolbi pipeteerida 1 ml diasmetaanilahust (5.2.2.1.12) ja 50 µl lahust «S». Jätta ööseks külmikusse.

5.2.6. Standardite valmistamine

Valmistada kindla kontsentratsiooniga merkaptotäidikhape standardlahus «E» (ligikaudu 60 mg merkaptotäidikhapet (5.2.2.1) 2 ml-s).

Proovi valmistada ette ja metüleerida, nagu on kirjeldatud punktides 5.2.4 ja 5.2.5.

5.2.7. Gaasikromatograafilised tingimused

5.2.7.1. Kolonn:

materjal –roostevaba teras;

pikkus –2 m;

diameeter –3 mm.

5.2.7.2. Kolonni täidis

20% didetsüülfalaati *Chromosorb WAW* µl (80– 100 mesh'ī).

5.2.7.3. Detektor

Leekionisatsioonidetektor. Leekionisatsioonidetektori elektromeeri sobiv tundlikkus on $8 \cdot 10^{-10}$ A.

5.2.7.4. Gaasid:

kandegaas –lämmastik;

rõhk –2,2 baari;

voolukiirus –35 ml/min;

abigaas –vesinik;

rõhk –1,8 baari;

voolukiirus –15 ml/min;

detektoritoide –nagu on ette nähtud aparadi tootjate poolt.

5.2.7.5. Temperatuurid:

injektor –200 °C;

detektor –200 °C;

termostaat –90 °C.

5.2.7.6. Isekirjutaja lindi liikumiskiirus 5 mm/min

5.2.7.7. Sisestatav kogus –süstida 3 µl, teha viis paralleelsüstimist

5.2.7.8. Kromatograafiatingimused on antud soovituslikena. Need võimaldavad saada lahutusvõime R, mis on võrdne või parem kui 1,5, kusjuures:

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_2 ja r_1 –retensiooniaeg, min;

W_1 ja W_2 –piigi laius poolkõrgusel, mm;

d' –lindi liikumiskiirus, mm/min.

Kromatograferimine on soovitatav lõpetada temperatuuri tõstmisega 90 °C-lt 150 °C-ni kiirusega 10 °C/min, selleks et elimineerida ained, mis võivad segada järgnevaid mõõtmisi.

5.2.8. Arvutused

5.2.8.1. Merkaptotäidikhappe vastustegur k_t

See arvutada standardsegu alusel metüüloktanoaadi suhtes valemi järgi:

$k_t = m'_t \times S'_c / m'_c \times S'_t$, kus:

k_t –merkaptotäidikhappe vastustegur;

m'_t –merkaptotäidikhappe mass (mg) segus;

S'_t –merkaptotäidikhappe piigi pindala;

m'_c –metüüloktanoaadi mass (mg) segus;

S'_c –metüüloktanoaadi piigi pindala.

See tegur sõltub kasutatud aparatuurist.

5.2.8.2. Merkaptotäidikhappe kontsentratsioon M (massiprotsentides) proovis leitakse valemist:

$M = m'_c \times k_t \times S'_t \times 100 / m \times S'_c$, kus:

k_t –merkaptotäidikhappe vastustegur;

S'_t –merkaptotäidikhappe piigi pindala;

m'_c –metüüloktanoaadi mass (mg) segus;

S'_c –metüüloktanoaadi piigi pindala;

m –metüüloktanoaadi (mg) algses katsekoguses.

7. KORRATAVUS

8% (m/m) merkaptotäidikhappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,8%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 20
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

HEKSAKLOROFEEINI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

See meetod sobib kasutamiseks kõikide kosmeetikatoodete puhul.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Heksaklorofeen ekstraheeritakse proovist etüülatsetaadiga ja identifitseeritakse õhekihikromatograafiliselt (ÖKK).

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Väävelhape, 4 M lahus

3.2. *Celite AW*

3.3. Etüülatsetaat

3.4. Elueerimislahus: benseen, milles on 1% (v/v) kontsentreeritud äädikhapet

3.5. Ilmutuslahus I:

Rodamiinilahus: 100 mg rodamiin B lahustada segus, mis koosneb 150 ml dietüüleestrist, 70 ml absoluutsest etanoolist ja 16 ml veest.

3.6. Ilmutuslahus II:

– 2,6-dibroom-4-kloroiminotsükloheksa-2,5-dienooni lahus: 400 mg 2,6-dibroom-4-kloroiminotsükloheksa-2,5-dienooni lahustada 100 ml metanoolis (iga päev valmistada värske lahus);

– naatriumkarbonaadi lahus: 10 g naatriumkarbonaati lahustada 100 ml demineraliseeritud vees.

3.7. Standardlahus: heksaklorofeeni lahus etüülatsetaadis, 0,5 g/l

4. Aparatuur

4.1. *Kiesel gel 254* ÖKK-plaadid, 200–200 mm (või samaväärsed)

4.2. Tavalised ÖKK vahendid

4.3. Termostaat (+26 °C), millesse on asetatud kromatograafitank

5. Proovi ettevalmistamine

5.1. 1 g homogeniseeritud proovi segada hoolikalt 1g *Celite AW*-ga (3.2) ja 1 ml väävelhappega (3.1).

5.2. Proovi kuivatada 100 °C juures kaks tundi.

5.3. Kuivatud jääk jahutada ja pulbristada.

5.4. Pulber ekstraheerida kaks korda 10 ml etüülatsetaadiga (3.3). Pärast iga ekstraheerimist segu tsentrifuugida. Etüülatsetaadi kihid ühendada.

5.5. Lahusti destilleerida pealt 60 °C juures.

5.6. Jääk lahustada 2 ml etüülatsetaadis (3.3).

6. Analüüsi käik

6.1. 2 µl katselahust (5.6) ja 2 µl võrdluslahust (3.7) kanda ÖKK-plaadile (4.1).

- 6.2. Tank (4.3) küllastada elueerimislahuse aurudega (3.4).
- 6.3. Plaadid asetada tanki ja elueerida, kuni eluent on tõusnud 150 mm-ni.
- 6.4. Plaat võtta tankist välja ja kuivatada ventileeritavas ahjus umbes 105 °C juures.
- 6.5. Ilmutamine

Heksaklorofeeni laigud ÕKK-plaadil ilmutada punkti 6.5.1 või 6.5.2 kohaselt.

6.5.1. Ilmutuslahus (3.5) pihustada ühtlaselt plaadile. 30 minuti pärast vaadata plaati UV-valguses (254 nm).

6.5.2. 2,6-dibroom-4-kloroiminotsükloheksa-2,5-dienooni ilmutuslahust (3.6) pihustada ühtlaselt plaadile.

Seejärel pritsida plaati naatriumkarbonaadi lahusega (3.6), kuivatada plaati 10 min toatemperatuuril ja vaadelda plaati päevavalguses.

7. Interpreteerimine

7.1. Ilmutuslahus I (3.5):

Heksaklorofeeni olemasolu näitab sinakas laik kollakasoranžilt fluorestseerival taustal. Selle Rf on ligikaudu 0,5.

7.2. Ilmutuslahus II (3.6):

Heksaklorofeeni olemasolu näitab sinine (taevasinisest kuni türkiissiniseni) laik valgel taustal ja selle Rf on ligikaudu 0,5.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

See meetod sobib kõikide kosmeetikatoodete analüüsimiseks.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Näitaja ühik

Heksaklorofeeni sisaldus proovis väljendatakse heksaklorofeeni massiprotsendina.

3. Meetodi põhimõte

Heksaklorofeen määratakse pärast tema muundamist metüülderivaadiks gaasikromatograafiliselt elektronihaarde detektoriga.

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. Etüülatsetaat
- 4.2. N-metüül-N-nitroso-p-tolueensulfoonamiid (diazald)
- 4.3. Dietüüleeter
- 4.4. 2-(2-etoksüetoksü)etanool (karbitool)
- 4.5. Metanool
- 4.6. Sipelghape
- 4.7. Kaaliumhüdrosiidi värskeltvalmistatud vesilahus, 50% (m/m)
- 4.8. Heksaan *for spectroscopy*
- 4.9. Broomklorofeen (standard 1)
- 4.10. 4,4',6,6'-tetrakloro-2,2'-tiodifenool (standard 2)
- 4.11. 2,4,4'-trikloro-2-hüdrosü-difenüüleeter (standard 3)
- 4.12. Atsetoon

4.13. Väävelhape, 4 M

4.14. *Celite AW*

4.15. Sipelghape/etüülatsetaat, 10% (v/v) lahus

4.16. Heksaklorofeen

5. Aparatuur

5.1. Tavaline labori klaas

5.2. Miniseade diasometaani valmistamiseks (*Anal.Chem.*, 1973, 45, 2302-2)

5.3. Gaasikromatograaf elektronhaarde detektoriga, mille elektronide allikaks on ⁶³Ni

6. Analüüsi käik

6.1. Standardlahuse valmistamine

Standard valida nii, ettaei reageeriks ühegi ainega, mis sisaldub uuritava toote ekstsipiendis. Harilikult sobib kõige paremini standard 1 (4.9).

6.1.1. Kaaluda 100-ml mõõtekolbi täpselt ligikaudu 50 mg standardit 1, 2 või 3 (4.9, 4.10 või 4.11) ja 50 mg heksaklorofeeni (4.16). Kolb täita etüülatsetaadiga (4.1) märgini (lahus A). 10 ml lahust A lahjendada etüülatsetaadiga 100 ml-ni (lahus B).

6.1.2. Kaaluda 100-ml mõõtekolbi täpsusega 0,1 mg ligikaudu 50 mg standardit 1, 2 või 3 (4.9, 4.10 või 4.11). Kolb täita etüülatsetaadiga (4.1.) märgini (lahus C).

6.2. Proovi ettevalmistamine

Kuna heksaklorofeeni võivad sisaldada väga erinevat tüüpi kosmeetikatooted, siis on oluline selle protseduuri abil enne määramise alustamist kontrollida heksaklorofeeni ekstraheerimise saagist proovist. Kui saagis on madal, siis tuleb meetodit modifitseerida, näiteks asendada lahusti (kasutada benseeni etüülatsetaadi asemel).

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Kaaluda 1 g homogeniseeritud proovi täpsusega 1 mg ja segada hoolikalt 1 ml väävelhappe (4.13), 15 ml atsetooni (4.12) ja 8 g *Celite AW*-ga (4.1.4). Segu kuivatada õhu käes auruvannil 30 minutit, seejärel ventileeritavas ahjus 1,5 tundi. Jaak jahutada, pulbristada ja viia klaaskoloni.

Elueerida etüülatsetaadiga (4.1) ja koguda 100 ml eluaati. Lisada 2 ml sisestandardi lahust (lahus C; 6.1.2).

6.3. Proovi metüleerimine

Reaktiivid ja seade jahutada 0–4 °C-ni (umbes kahe tunniga). Diasoteerimiseseadme (5.2) välisesse kambrisse viia 2 ml punktis 6.2 saadud lahust ja 0,1 ml metanooli (4.4). Seadme keskmisesse reservuaari panna umbes 200 mg diazaldi (4.2), 1 ml karbitooli (4.5) ja 1 ml dietüületrit (4.3) ning lahustada. Seade panna kokku, asetada ta poolenisti jäävanni 0 °C juures ja süstida keskmisesse reservuaari umbes 1 ml jahutatud kaaliumhüdrosiidi lahust (4.7). Veenduda, et kollane värvus, mis tekib diasometaani moodustumisel, on püsiv. Kui kollane värvus kaob, siis korrata metüleerimist täiendava 200 mg diazaldi kogusega.

Märkus. Püsiv kollane värvus näitab diasometaani liiga, mis on vajalik proovi täielikuks metüleerimiseks.

15 minuti pärast võtta seade vannist välja ja jätta ta suletult 12 tunniks toatemperatuurile seisma. Seade avada, lisada mõni tilk 10% sipelghappe lahust etüülatsetaadis (4.1.5) diasometaani liia neutraliseerimiseks ja orgaaniline lahus kanda üle 25-ml mõõtekolbi. Kolb täita heksaaniga (4.8) märgini.

1,5 µl saadud lahust süstida kromatograafi.

6.4. Standardi metüleerimine

Reaktiivid ja seade jahutada 0–4 °C-ni (umbes kahe tunniga). Diasoteerimiseseadme (5.2) välisesse kambrisse viia 0,2 ml lahust B (6.1.1), 1 ml etüülatsetaati (4.1) ja 0,1 ml metanooli (4.4). Jätkata metüleerimist, nagu on kirjeldatud punktis 6.3.

1,5 µl saadud lahust süstida kromatograafi.

7. Gaasikromatograafia

Kolonn peab andma lahutusvõime «R», mis on võrdne või parem kui 1,5:

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_2 ja r_1 – retensiooniaeg, min;

W_1 ja W_2 -piigi laius poolkõrgusel, mm;
 d' – lindi liikumiskiirus, mm/min.

Gaasikromatograafia tingimused:
kolonn – roostevaba teras;
pikkus – 1,7 m;
diameeter – 3 mm.

Tahke kandja – *Chromosorb WAW* (80– 100 mesh' i)

Statsionaarne faas – 10% *OV 17*

Temperatuurid:
kolonn – 280 °C;
injektor – 280 °C;
detektor – 280 °C.

Kandegaas – hapnikuvaba lämmastik:
rõhk – 2,3 baari;
voolukiirus – 30 ml/min.

8. Arvutused

8.1. Heksaklorofeeni võrdetegur k_h standardlahuses arvutada segus oleva standardi suhtes valemist:

$k_h = m'_h \times A'_s / m'_s \times A_{x_h}$, kus:
 k_h – heksaklorofeeni võrdetegur;
 m'_h – heksaklorofeeni mass (g) segus;
 A'_h – heksaklorofeeni piigi pindala;
 m'_s – valitud standardi mass (g) segus;
 A'_s – valitud standardi piigi pindala.

8.2. Heksaklorofeeni sisaldus proovis M (massiprotsendina) arvutada valemist:

$M = m_s \times k_h \times A_h / m \times A_s$, kus:
 k_h – heksaklorofeeni võrdetegur;
 A_h – heksaklorofeeni piigi pindala;
 m_s – valitud standardi, mass (g) segus;
 A_s – valitud standardi, piigi pindala;
 m – analüüsiks võetud proovi kogus (g).

9. Korratavus

0,1% heksaklorofeeni sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,005%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 21
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

TOSÜÜLKLOOROAMIIDNAATRIUMI (KLORAMIIN-T) KVANTITATIIVNE MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

See meetod kirjeldab tosüülkloroamiidnaatriumi (kloramiin-T) kvantitatiivset määramist õhekihikromatograafiliselt (ÕKK).

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud kloramiin-T sisaldus proovis väljendatakse tema massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Kloramiin-T hüdrolyüsatakse täielikult 4-toluensulfoonamiidiks soolhappega keetmisel.

Moodustunud 4-tolueensulfoonamiid määratakse fotodensitomeetriliselt pärast ÕKK-d.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. Tosüülkloroamiidnaatrium (kloramiin-T)
- 4.2. 4-tolueensulfoonamiidi standardlahus: 50 mg 4-tolueensulfoonamiidi lahustada 100 ml etanoolis (4.5)
- 4.3. Soolhape, 37%, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml
- 4.4. Dietüüleeter
- 4.5. Etanool, 96% (v/v)
- 4.6. Eluent:
 - 4.6.1. 1-butanool, etanool (4.5), vesi (mahulises vahekorras 40:4:9), või
 - 4.6.2. kloroform, atsetoon (mahulises vahekorras 6:4).
- 4.7. Valmis ÕKK-plaadid, silikageel, fluorentsindikaatorita
- 4.8. Kaaliumpermanganaat
- 4.9. Soolhape, 15% (m/m)
- 4.10. Ilmutuslahus: 2-toluidiin, 10 g/l etanoolis (4.5)

5. APARATUUR

- 5.1. Tavaline labori sisseseade
- 5.2. Tavalised ÕKK vahendid
- 5.3. Fotodensitomeeter

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Hüdrolüüs

Kaaluda ligikaudu 1 g proovi (m) täpsusega 0,001g 50-ml ümarkolbi. Lisada 5 ml soolhapet (4.3), panna kolvile püstjahuti ja keeta üks tund. Kuum vesisuspensioon kanda kohe üle 50-ml mõõtekolbi. Lasta jahtuda ja kolb täita veega märgini. Tsentrifugeerida viie minuti vältel tsentrifugaalkiirendusega 3000 g. Supernatant filtreerida.

6.2. Ekstraheerimine

6.2.1. 30 ml filtraati ekstraheerida kolm korda 15 ml dietüüleetriga (4.4). Kui vaja, kogutud eetrifaasid kuivatada ja viia üle 50-ml mõõtekolbi. Kolb täita dietüüleetriga (4.5) märgini.

6.2.2. 25 ml ekstrakti aurutada lämmastikujoas kuivaks. Jääk lahustada 1 ml etanoolis (4.5).

6.3. ÕKK

6.3.1. 30 µl etanooli lahust (6.2.2) kanda ÕKK-plaadile (4.7).

Samale plaadile kanda ka 8, 12, 16 ja 20 µl 4-tolueensulfoonamiidi standardlahust (4.2).

6.3.2. Plaat asetada tanki (5.2), milles on elueerimislahus (4.6.1 või 4.6.2) ja elueerida, kuni lahusti piir on tõusnud 150 mm.

6.3.3. Pärast plaadi täielikku kuivatamist panna plaat 2–3 minutiks kloori aurudesse. Klooriaurude saamiseks valada ühte kromatograafiatanki 100 ml soolhapet (4.9) ja lisada 2 g kaaliumpermanganaati (4.8). Kloori liig eraldada, kuumutades plaate 100 °C juures viie minuti vältel. Plaat pritsida reaktiiviga (4.10).

6.4. Mõõtmine

Ühe tunni pärast mõõta violetsed laigud fotodensitomeetriliselt 525 nm juures.

6.5. Kalibreerimisgraafik

Graafiku ühel teljel on 4-tolueensulfoonamiidi standardlahuste (4.2) kontsentratsioonid ja teisel neile vastavad piikide absorptsiooni maksimumväärtused.

7. MÄRKUS

Meetodit kontrollida, kasutades 1 või 2 g/l kloramiin-T (4.1) lahust, mida käsitleda analoogiliselt proovile (6).

8. ARVUTUSED

Kloramiin-T sisaldus proovis M väljendada massiprotsendina ja arvutada valemist:

$M = 1,33 \times a / 60 \times m$, kus:

1,33 –4-tolueensulfoonamiidi ja kloramiin-T vaheline ülekandetegur;

a –proovi absorptsioonile (6.4) vastav 4-tolueensulfoonamiidi sisaldus (μg) kalibreerimisgraafikul;

m –proovi kogus (g).

9. KORRATAVUS

0,2% kloramiin-T sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,03%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 22
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

ÜLDFLUORI MÄÄRAMINE HAMBAPASTADES*

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod on ette nähtud üldfluori määramiseks hambapastades, kui fluori sisaldus ei ületa 0,25%.

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodi järgi määratud fluori sisaldus proovis väljendatakse massiprotsentides.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Pastas sisalduv fluor reageerib klorotrietüülsilaaniga, andes trietüülfluorosilaani (TEFS). Reaktsioon toimub happelises lahuses. TEFS ekstraheeritakse ksüleeniga, mis sisaldab sisestandardina tsükloheksaani. TEFS määratakse gaasikromatograafiliselt.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

4.1. Naatriumfluoriid, kuivatatud 120 °C juures püsiva kaaluni

4.2. Bidestillitud vesi või samaväärne

4.3. Soolhape, 37%, $d_4^{20} = 1,18 \text{ g/ml}$

4.4. Tsükloheksaan (CH)

4.5. Ksüleen, mis prooviga (6.1) samadel tingimustel kromatografeerimisel ei anna kromatogrammil ühtki piiki peale lahusti oma. Kui vaja, destilleeritakse (5.8).

4.6. Klorotrietüülsilaan (*TECS Merck* või samaväärne)

4.7. Fluori standardlahused:

4.7.1. Põhilahus: 0,250 mg F⁻/ml. Kaaluda täpselt 138,1 mg naatriumfluoriidi (4.1) ja lahustada vees (4.2). Kogus viia kvantitatiivselt üle 250-ml mõõtekolbi (5.5). Kolb täita veega (4.2) märgini ja segada.

4.7.2. Lahjendatud lahus: 0,050 mg F⁻/ml. Pipeteerida 20 ml põhilahust (4.7.1) 100-ml mõõtekolbi (5.5). Kolb täita veega märgini ja segada.

4.8. Sisestandardi lahus

1 ml tsükloheksaani (4.4) ja 5 ml ksüleeni (4.5) segada.

4.9. Klorotrietüülsilaani / sisestandardi lahus

0,6 ml klorotrietüülsilaani (4.6) ja 0,12 ml sisestandardi lahust (4.8) pipeteerida (5.7) 10-ml mõõtekolbi. Kolb täita ksüleeniga (4.5) märgini ja segada. Iga päev valmistatakse värske lahus.

4.10. Perkloorhape, 700 g/l

4.11. Perkloorhape, 200 g/l

5. APARATUUR

5.1. Tavaline labori sisseseade

5.2. Leekionisatsioonidetektoriga gaasikromatograaf

5.3. *Vortex*-mikser või samaväärne

5.4. *Bühleri* loksuti, *SMB*-tüüpi või samaväärne

5.5. Polüpropüleenist mõõtekolvid, 100 ja 250 ml

5.6. Klaasist keeratava korgiga ja teflontihendiga tsentrifuugiklaasid, 20 ml, *Sovirel 611-56* tüüpi või samaväärsed. Tsentrifuugiklaaside puhastamiseks leotada neid mõned tunnid perkloorhappes (4.11). Seejärel loputada neid vähemalt viis korda veega (4.2) ja lõpuks kuivatada 100 °C juures.

5.7. Automaatpipetid, 50–200 µl, ühekordsete plastotsikutega

5.8. Destillatsiooniparaat, milles on kolme munaga *Schneider* kolonn või samaväärne *Vigreux* kolonn

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Proovi analüüs

6.1.1. Kinnine uus hambapastatuub lõigata lahti ja kogu sisu viia üle plastnõusse, segada hoolega ja hoida sellistes tingimustes, et oleks välditud pasta riknemine.

6.1.2. Kaaluda täpselt 150 mg (m) proovi tsentrifuugiklaasi (5.6), lisada 5 ml vett (4.2) ja homogeniseerida (5.3).

6.1.3. Lisada 1 ml ksüleeni (4.5).

6.1.4. Tilgakaupa lisada 5 ml soolhapet (4.3) ja homogeniseerida (5.3).

6.1.5. Tsentrifuugiklaasi (5.6) pipeteerida 0,5 ml klorotrietüülsilaani / sisestandardi lahust (4.9).

6.1.6. Tsentrifuugiklaas sulgeda keeratava korgiga (5.6) ja segada hoolikalt 45 minutit loksutil (5.4), mis teeb 150 tsükli minutis.

6.1.7. Tsentrifuugida kümme minutit sellise kiirusega, mis tagab faaside täieliku eraldumise. Tsentrifuugiklaas avada, eraldada orgaaniline faas ja 3 µl orgaanilist faasi süstida gaasikromatograafi (5.2).

Kromatograferimine kestab umbes 30 minutit.

6.1.8. Süstimist korrata. Arvutada piikide keskmiste pindalade suhe (A_{TEFS}/A_{CH}) ja leida sellele suhtele vastav fluori kogus m_1 (mg) kalibreerimisgraafikult (6.3).

6.1.9. Fluori üldkogus proovis avaldatakse massiprotsendina (7).

6.2. Kromatograafia

6.2.1. Kolonn: roostevaba teras, pikkus: 1,8 m, diameeter: 3 mm.

Täidis: *Gaschrom Q* või *Porapak Q*, 80–100 mesh'i.

Statsionaarne faas: 20% silikoonõli DC 200 või samavääset. Kolonni konditsioneerida õõ läbi 100 °C juures (kandegaasi voolukiirus 25 ml minutis). Konditsioneerimist korrata igal ööl. Pärast iga nelja või viit süstimist tuleb kolonn konditsioneerida, kuumutades teda 30 minutit 100 °C juures.

Temperatuurid:

termostaat	– 70 °C;
aurusti	– 150 °C;
detektor	– 250 °C.

Kandegaas: lämmastik, voolukiirus 35 ml/min.

6.3. Kalibreerimisgraafik

6.3.1. Kuude tsentrifuugiklaasi (5.6) pipeteerida 0, 1, 2, 3, 4 ja 5 ml fluori lahjendatud standardlahust (4.7.2).

Viia maht igas klaasis veega (4.2) 5 milliliitrini.

6.3.2. Toimida, nagu on kirjeldatud alapunktides 6.1.3–6.1.6.

6.3.3. Süstida 3 µl orgaanilist faasi kromatograafi (5.2).

6.3.4. Süstimist korrata ja arvutada piikide keskmiste pindalade suhe (A_{TEFS}/A_{CH}).

6.3.5. Kalibreerimisgraafik koostada standardlahuse (6.3.1) fluori massi (mg) ja punkti 6.3.4 järgi mõõdetud piikide keskmiste pindalade suhte (A_{TEFS}/A_{CH}) alusel. Korrelatsioonsirge parameetriteks on graafiku punktide regressioonanalüüsil saadud tulemused.

7. ARVUTUSED

Üldfluori sisaldus proovis M fluori massiprotsentides leida valemist:

$M = m_1 \times 100 / m$, kus:

m – proovi kogus (6.1.2), mg;

m_1 – fluori sisaldus kalibreerimiskõvera järgi (6.1.8), mg.

8. KORRATAVUS

Ligikaudu 0,15% fluori sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,012%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 23
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

ELAVHÕBEORGAANILISTE ÜHENDITE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

Kasutusala

Allpool kirjeldatud meetodit kasutatakse elavhõbeorgaaniliste ühendite identifitseerimiseks ja määramiseks. Neid aineid kasutatakse säilitusainetena silmakosmeetikatoodetes. Seda meetodit saab rakendada *thiomersali* (INN) (2-(etüülmerkuriotio)naatriumbensoadi) ja fenüülelavhõbeda ja tema soolade määramisel.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Meetodi põhimõte

Elavhõbeorgaanilised ühendid moodustavad kompleksi 1,5-difenüül-3-tiokarbasooniga. Ditiosonaat ekstraheeritakse süsiniktetrakloriidiga ja määratakse järgnevalt õhekihikromatograafiliselt (ÕKK). Ditiosonaadilaigud on oranžid.

2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Väävelhape, 25% (v/v)

2.2. 1,5-difenüül-3-tiokarbasooni (ditisooni) lahus: 0,8 mg 100 ml süsiniktetrakloriidis (2.4)

2.3. Lämmastik

2.4. Süsiniktetrakloriid

2.5. Elueerimislahus: heksaan, atsetoon (mahulises vahekorras 90:10)

2.6. Standardlahus: teha 0,001% vesilahus järgmistest ainetest:

- 2-(etüülmerkuriotio)naatriumbensoaat;
- etüülelavhõbekloriid või metüülelavhõbekloriid;
- fenüülelavhõbenitrat või fenüülelavhõbeatsetaat;
- elavhõbedikloriid või elavhõbediatsetaat.

2.7. Valmis silikageelplaadid (nt *Merck 5721* või samaväärsed)

2.8. Naatriumkloriid

3. Aparatuur

- 3.1. Tavaline labori sisseseade
- 3.2. Tavalised ÖKK vahendid
- 3.3. Faase eraldav filter (jaotuslehter)

4. Analüüsi käik

4.1. Ekstraheerimine

- 4.1.1. Lahustada 1 g proovi tsentrifuugiklaasis 20 ml destilleeritud vees. Dispergeerida maksimaalselt ja soojendada veevannis 60 °C-ni. Lisada 4 g naatriumkloriidi (2.8) ja jahutada.
- 4.1.2. Tsentrifuugida vähemalt 20 minutit kiirusel 4500 pöret/min, selleks et eraldada suurem osa tahket ainet vedelast. Filtreerida jaotuslehtrisse ja lisada 0,25 ml väävelhappe lahust (2.1).
- 4.1.3. Filtraati ekstraheerida mõned korrad 2 või 3 ml ditisooni lahusega (2.2), kuni viimane orgaaniline faas jääb roheliseks.
- 4.1.4. Iga orgaaniline faas filtreerida läbi faase eraldava filtri (3.3).
- 4.1.5. Lahused aurutada kuivaks lämmastikujoas (2.3).
- 4.1.6. Kuivjääk lahustada 0,5 ml süsiniktetrakloriidis (2.4). Jätkata kohe alapunkti 4.2.1 järgi.

4.2. Eraldamine ja identifitseerimine

- 4.2.1. 50 µl saadud tetrakloorsüsiniku lahust (4.1.6) kanda viivitamatult silikageelplaadile (2.7). 10 ml standardlahusega (2.6) toimida punkti 4.1 järgi ja 50 µl saadud lahust (4.1.6) kanda samale plaadile.
- 4.2.2. Plaat asetada kromatograafitanki elueerimislahusesse (2.5) ja elueerida, kuni eluendi piir on tõusnud 150 mm. Elavhõbeorgaanilised ühendid ilmuvad püsiva värviga laikudena. Plaadid tuleb katta klaasplaadiga kohe pärast lahuse aurumist.

Orienteeruvad R_f väärtused

Ühend	R _f	Värvus
<i>Thiomersal</i>	0,33	oranž
Etüülelavhõbekloriid	0,29	oranž
Metüülelavhõbekloriid	0,29	oranž
Fenüülelavhõbeda soolad	0,21	oranž
Elavhõbe (II) soolad	0,10	oranž
Elavhõbediatsetaat	0,10	oranž
1,5-difenüül-3-tiokarbasoon	0,09	Roosa

B. MÄÄRAMINE

1. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud elavhõbeorgaaniliste ühendite sisaldus proovis väljendatakse elavhõbeda massiprotsentides.

2. Meetodi põhimõte

Meetod põhineb proovis sisalduva kogu elavhõbeda kvantitatiivses määramises. Seepärast on oluline esiteks kindlaks teha, et proovis ei esine anorgaanilist elavhõbedat ja siis identifitseerida elavhõbeorgaanilised ühendid proovis. Pärast mineraliseerimist määratakse vabanenud elavhõbe külmauru meetodil.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. Kontsentreeritud lämmastikhape, $d_4^{20} = 1,41$ g/ml
- 3.2. Kontsentreeritud väävelhappe, $d_4^{20} = 1,84$ g/ml
- 3.3. Bidestilleeritud vesi
- 3.4. Kaaliumpermanganaat, 70 g/l lahus
- 3.5. Hüdroksüülammoniumkloriid, g/l lahus
- 3.6. Dikaaliumperoksüdisulfaat, 50 g/l
- 3.7. Tinadikloriid, 10 g/l lahus
- 3.8. Kontsentreeritud soolhape, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml

3.9. Palladiumdikloriidiga impregneeritud klaasvatt, 1% (m/m)

4. Aparatuur

4.1. Tavaline labori sisseseade

4.2. Aatomiabsorptsioonspektromeeter elavhõbeda määramiseks külmauru meetodil koos vajalike klaasnõudega. Kūveti optilise tee pikkus vähemalt 100 mm.

5. Analüüsi käik

Kasutada tuleb kõiki ettevaatusabinõusid, mis on ette nähtud töötamisel elavhõbeda mikrokoostega.

5.1. Lagundamine

5.1.1. Umbes 150 mg proovi (m) kaaluda täpselt. Lisada 10 ml lämmastikhapet (3.1) ja proov jätta kolmeks tunniks lagunema õhukindlalt suletud kolvis veevannis (55 °C). Aeg-ajalt loksutada. Samal ajal teha pimekatse reaktiividega.

5.1.2. Pärast jahutamist lisada proovile 10 ml väävelhapet (3.2) ja panna uuesti veevanni (55 °C).

5.1.3. Kolb panna jäävanni ja lisada ettevaatlikult 20 ml vett (3.3).

5.1.4. 2 ml kaupa lisada 7% kaaliumpermanganaadi lahust (3.4) kuni püsiva värvuse tekkimiseni. Kolb panna 15 minutiks tagasi veevanni (55 °C).

5.1.5. Lisada 4 ml kaaliumperoksüsulfaadi lahust (3.6). Soojendamist veevannis 55 °C juures jätkata veel 30 minutit.

5.1.6. Kolb jahutada ja selle sisu kanda üle 100-ml mõõtekolbi. Esiteks loputada kolbi 5 ml hüdroksüülammooniumkloriidi lahusega (3.5) ja seejärel neli korda 10 ml veega (3.3). Lahus peab muutuma täielikult värvituks. Mõõtekolb täita veega (3.3) märgini.

5.2. Määramine

5.2.1. 10 ml katselahust (5.1.6) viia spektromeetri (4.2) klaasnõusse (4.2). Lisada 100 ml vett (3), 5 ml väävelhapet (3.2) ja 5 ml tinadikloriidi (3.7) lahust. Pärast iga lahuse lisamist segu segada. Oodata 30 sekundit, et kõik elavhõbedaeioonid oleksid taandatud metallilisse olekusse ja lugeda näit (n).

5.2.2. Panna palladiumdikloriidiga immutatud klaasvatti (3.9) elavhõbeda redutseerimisnõu ja spektrometrikuveti (4.2) vahele. Protseduuri (5.2.1) korrata ja lugeda näit. Kui näit erineb nullist, siis ei olnud mineralisatsioon täielik ja analüüsi tuleb korrata.

6. Arvutused

Elavhõbeda sisaldus proovis M, väljendatuna massiprotsentides, arvutada järgmise valemi järgi:

$M = n / m$, kus:

m – katsekoguse mass (mg);

n – elavhõbeda hulk (µg) instrumendi näidu järgi.

7. Märkused

7.1. Mineraliseerimise parandamiseks võib proovi lahjendada.

7.2. Kui on kahtlus, et substraat võib neelata elavhõbedaga samal lainepikkusel, tuleb kvantitatiivsel määramisel kasutada standardi lisamist.

8. Korratavus

0,007% elavhõbeda sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelse määramise tulemuste vahe ületada 0,00035%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 24
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

LEELIS- JA LEELISMULDSULFIIDIDE MÄÄRAMINE

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod kirjeldab sulfiidide määramist kosmeetikatoodetes. Tioolide ja teiste redutseerijate (k.a sulfitid) juuresolek ei sega määramist.

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud sulfiidide kontsentratsioon proovis väljendatakse väavli massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Proovilahus hapustatakse ja vesiniksulfiid kantakse lämmastikujoaga püüdjasse, kus see fikseeritakse kaadmiumsulfiidina. Kaadmiumsulfiid filtreeritakse, loputatakse ja määratakse jodomeetriliselt.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. Kontsentreeritud soolhape, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml
- 4.2. Naatriumtiosulfaat, 0,1 N standardlahus
- 4.3. Jood, 0,05 N standardlahus
- 4.4. Dinaatriumsulfiid
- 4.5. Kaadmiumdiatsetaat
- 4.6. Kontsentreeritud ammoniaak, $d_4^{20} = 0,90$ g/ml
- 4.7. Kaadmiumdiatsetaadi ammoniaakaalne lahus: 100-ml mõõtekolvis lahustada 10 g kaadmiumdiatsetaati (4.5) umbes 50 ml vees. Lisada ammoniaaki (4.6), kuni sade lahustub (ligikaudu 20 ml). Kolb täita veega 100 ml märgini.
- 4.8. Lämmastik
- 4.9. Ammoniaagi lahus, 1 M

5. APARATUUR

- 5.1. Tavaline labori sisseseade
- 5.2. Kolmkael-ümarkolb, 100 ml, standardlihv
- 5.3. Kaks 150-ml koonilist lihviga kolbi, mis on varustatud pesupudelitepeaga gaasi väljalaskmiseks
- 5.4. Pika toruga lehter

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Sulfiidide ülekanne
6.1.1. Võtta avamata pakend. Kaaluda täpne kogus m (grammides) kosmeetikatoodet, mis eeldatavalt sisaldab mitte rohkem kui 30 mg sulfiidioone, ümarkolbi (5.2). Lisada 60 ml vett ja kaks tilka vahuvastast ainet.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

6.1.2. 50 ml lahust (4.7) pipeteerida kumbagi koonilisse kolbi (5.3).
6.1.3. Ümarkolvile (5.2) panna tilklehter, kolvi põhjani ulatuv gaasi sisselasketoru ja gaasi väljavoolutoru, mis ühendada esimese koonilise kolviga (5.3) PVC-toru abil. Esimese koonilise kolvi (5.3) järele ühendada teine kooniline kolb (5.3).

NB! Aparatuuri hermeetilisust tuleb eelnevalt kontrollida, asendades uuritava katsekoguse 10 ml sulfiidilahusega (4.4), mis sisaldab «X» mg sulfiidi (jodomeetriliselt määratud). Olgu «Y» sulfiidi kogus mg-des, mis määrati kontrollkatses. «X» ja «Y» vahe ei tohi ületada 3%.

6.1.4. Seadmest (6.1.3) puhuda 15 minutit läbi lämmastikku (4.8) voolukiirusega kaks mulli sekundis, et vabaneda õhust ümarkolvis (5.2).

6.1.5. Ümarkolb kuumutada 85–5 °C-ni.

6.1.6. Lämmastiku (4.8) vool peatada ja lisada tilgakaupa 40 ml soolhapet (4.1).

6.1.7. Taas lasta lämmastikku läbi lahuse, kuni peaaegu kogu hape on üle kandunud, jättes miinimumkoguse vedelikku kolvi põhja, et vältida vesiniksulfiidi lekkimist.

6.1.8. Kuumutamine lõpetada 30 minuti pärast. Kolb jahutada, kuid lämmastikku juhtida veel vähemalt 1,5 tundi läbi kolbide.

6.2. Tiitrimine

- 6.2.1. Kaadmiumsulfiidi lahus filtreerida läbi lehtri (5.4).
6.2.2. Koonilised kolvid (5.3) loputada esiteks ammoniaagi lahusega (4.9), mis valada ka filtrile. Seejärel loputada kolbe (5.3) destilleeritud veega ja seda vett kasutatakse filtril oleva sademe pesemiseks.
6.2.3. Sademe pesemine lõpetada 100 ml veega.
6.2.4. Paberfilter panna esimesesse koonilisse kolbi, mis sisaldas sadet. Lisada 25 ml (m_1) joodilahust (4.3), umbes 20 ml soolhapet (4.1) ja 50 ml destilleeritud vett.
6.2.5. Joodi liig tiitrida naatriumtiosulfaadiga (4.2) (n_2).

7. ARVUTUSED

Sulfiidide sisaldus proovis S, mis väljendatakse väavli massiprotsendina, arvutatakse järgmise valemi järgi:

$S = 32 (n_1 x_1 x n_2 x_2) / 20 m = 1,6 (n_1 x_1 x n_2 x_2) / m$, kus:

- n_1 – tiitrimiseks kulunud joodilahuse hulk, ml;
 x_1 – kasutatud joodilahuse normaalsus;
 n_2 – naatriumtiosulfaadi standardlahuse hulk, ml;
 x_2 – naatriumtiosulfaadi standardlahuse normaalsus;
 m – proovi mass, g.

8. KORRATAVUS

Ligikaudu 2% sulfiidide sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,2%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 83/514/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 25
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

GLÜTSEERÜÜL-1-(4-AMINOBEENSOAADI) IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Selle meetodiga määratakse alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaati (glütserüül-1-(4-aminobensoaati), samuti ka etüül-4-aminobensoaati (bensokaiin *INN*), mis võib esineda lisandina.

3. Meetodi põhimõte

Nimetatud ühendid identifitseeritakse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil fluorestsents-indikaatoriga silikageelplaadil. Vaba aminorühm määratakse, tekitades plaadil diasovärvaine.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Lahustite segu: tsükloheksaan, propaan-2-ool, stabiliseeritud diklorometaan (mahulises vahekorras 48:64:9)

3.2. ÕKK eluent: petrooleeter (40–60 °C), benseen, atsetoon, ammooniumhüdroksiidi lahus (minimaalselt 25% ammoniaaki) (mahulises vahekorras 35:35:35)

3.3. Ilmutuslahus:

- a) 1 g naatriumnitrit lahustada 100 ml 1 M soolhappes (valmistatakse vahetult enne kasutamist);
b) 0,2 g 2-naftooli lahustada 100 ml 1 M kaaliumhüdroksiidi lahuses.

3.4. Standardlahused:

- 0,05 g alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaati lahustada 100 ml lahustite segus (3.1);
– 0,05 g etüül-4-aminobensoaati lahustada 100 ml lahustite segus (3.1)

3.5. Silikageelplaadid 60 F 254, kihi paksus 0,25 mm, 200 mm – 200 mm.

4. Aparatuur

4.1. Tavalised ÕKK vahendid

4.2. Ultrahelivann

4.3. Membraanfilter (*Millipore filter FH 0,5 µm*) või samaväärne

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

1,5 g analüüsitavat kosmeetikatoodet kaaluda 10-ml lihvorgiga mõõtekolbi. Kolb täita lahusega (3.1) märgini. Kolb sulgeda ja panna üheks tunniks toatemperatuuril ultrahelivanni (4.2). Kolvi sisu filtreerida läbi membraanfiltril (4.3). Kromatografeerimiseks kasutada filtraati.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

5.2. ÖKK

Plaadile (3.5) kanda 10µl proovilahust (5.1) ja kumbagi standardlahust (3.4). Elueerida lahusega (3.2) eluendi aurudega küllastatud tankis, kuni eluendi front on tõusnud 150 mm-ni. Plaat kuivatada toatemperatuuril.

5.3. Ilmutamine

5.3.1. Plaati uurida UV-kiirte all 254 nm juures.

5.3.2. Täielikult kuiva plaati pritsida lahusega (3.3.a).

Plaadil lasta kuivada toatemperatuuril üks minut ja pritsida kohe lahusega (3.3.b). Plaat kuivatada kuivatuskapis 60 °C juures. Plaadile ilmuvad oranžid laigud. Alfa-monoglütseriin-4-aminobensoaadi R_f on 0,07, etüül-4-aminobensoaadi R_f on 0,55.

B. MÄÄRAMINE

1. Rakendusala

Selle meetodiga määratakse alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaati, samuti etüül-4-aminobensoaati. Alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaati ei tohi proovis olla üle 5% ja etüül-4-aminobensoaati üle 1%.

2. Näitaja ühik

Alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi ja etüül-4-aminobensoaadi sisaldus tootes väljendatakse massiprotsendina.

3. Meetodi põhimõte

Analüüsitav toode suspendeerida metanoolis ja pärast proovi ettevalmistust määratakse alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaat ja etüül-4-aminobensoaat kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (*HPLC*).

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajadusel puhtusega *HPLC grade*.

4.1. Metanool

4.2. Kaaliumdivesinikfosfaat, KH_2PO_4

4.3. Tsinkdiatsetaat, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$

4.4. Äädikhape, $d_{4}^{20} = 1,05$

4.5. Tetrakaaliumheksatsüanoferraat, $K_4(Fe(CN)_6) \cdot 3H_2O$

4.6. Etüül-4-hüdroksübensoaat

4.7. Alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaat

4.8. Etüül-4-aminobensoaat

4.9. 0,02 M fosfaatpuhver: 2,72 g kaaliumdivesinikfosfaati (4.2) lahustada ühes liitris vees

4.10. Eluent: fosfaatpuhver (4.9), metanool (4.1.1) (mahulises vahekorras 61:39).

Kui lahutustegur R jääb alla 1,5, tuleb eluendi koostist muuta, etsaadalahutustegur üle 1,5.

$R = 2 d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_1 ja r_2 – retensiooniajad (min);
 W_1 ja W_2 – piikide laiused poolkõrgusel (mm);
 d' – isekirjuti lindi liikumise kiirus (mm/min).

4.11. Alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi põhilahus:

Ligikaudu 40 mg alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaati kaaluda täpsusega 0,1 mg 100-ml mõõtekolbi ja lahustada 40 ml metanoolis (4.1). Kolb täita puhverlahusega (4.9) märgini ja segada.

4.12. Etüül-4-aminobensoaadi põhilahus:

Ligikaudu 40 mg etüül-4-aminobensoaati kaaluda täpsusega 0,1 mg 100-ml mõõtekolbi ja lahustada 40 ml metanoolis (4.1). Kolb täita puhverlahusega (4.9) märgini ja segada.

4.13. Sisestandardi lahus:

Ligikaudu 50 mg etüül-4-hüdroksübensoaati (4.6) kaaluda täpsusega 0,1 mg 100-ml mõõtekolbi, ja lahustada 40 ml metanoolis (4.1). Kolb täita puhverlahusega (4.9) märgini ja segada.

4.14. Standardlahused:

Valmistada 4 standardlahust, lahustades 100 ml eluendis (4.10) tabelis toodud kogused põhilahuseid 4.11, 4.12, 4.13 ja 4.14:

Standardlahus	Alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaat		Etüül-4-amino- bensoaat		Etüül-4-hüdroksü- bensoaat	
	µg/ml*	ml (4.11)	µg/ml*	ml (4.12)	µg/ml*	ml (4.13)
I	8	2	8	2	50	10
II	16	4	12	3	50	10
III	24	6	16	4	50	10
IV	40	10	20	5	50	10

Märkus. Tabelis toodud väärtused on orienteerivad, tegelik sisaldus arvutatakse põhilahuse tegemiseks kasutatud kaalutise järgi.

Neid lahuseid võib valmistada mitmel viisil.

4.15. Carrez´i I lahus:

26,5 g tetrakaaliumheksatsüanoferraati (4.5) lahustada vees, lahuse maht viia 250 ml-ni.

4.16. Carrez´i II lahus:

54,9 g tsinkdiatsetaati (4.3) ja 7,5 ml äädikhapet (4.4) lahustada vees ja lahuse maht viia 250 ml-ni.

4.17. HPLC kolonni täidis: *Merck Lichrosorb RP-18* või samaväärne, 5 µm.

5. Aparatuur

5.1. Tavaline labori sisseseade.

5.2. Kõrgefektiivne vedelikukromatograaf muudetava lainepikkusega UV-detektoriga ja kolonni termostaadiga.

5.3. HPLC kolonn: pikkus –250 mm, sisemine diameeter –4,6 mm, täidis –*Lichrosorb RP-18*(4.17).

5.4. Ultrahelivann

6. Analüüsi käik

6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Kaaluda umbes 1 g proovi täpsusega 0,1 mg 100-ml keeduklaasi ja lisada 10 ml metanooli (4.1).

6.1.2. Keeduklaas panna 20 minutiks ultrahelivanni (5.4), et proov suspendeerida. Suspensioon viia kvantitatiivselt üle 100-ml mõõtekolbi mitte rohkem kui 75 ml eluendiga (4.10). Lisada 1 ml *Carrez*– i I lahust (4.15) ja seejärel 1 ml *Carrez*´i II lahust (4.16). Pärast iga lahuse lisamist kolvi sisu segada. Eluendiga (4.10) täita kolb märgini ja segada. Lahus filtreerida läbi kurdfiltritri.

6.1.3. 3,0 ml saadud filtraati (6.1.2) ja 5,0 ml sisestandardilahust (4.13) pipeteerida 50-ml mõõtekolbi. Eluendiga (4.10) täita kolb märgini ja segada. Lahust kasutada kromatograafilise analüüsi (6.2) järgi.

6.2. Kromatograafia

Liikuva faasi (4.10) voolukiirus –1,2 ml/min ja kolonni temperatuur –45 °C.

Detektori (5.2) lainepikkus –274 nm.

Mikrosüstlaga süstida kromatograafi vähemalt kaks korda 20 µl lahust (6.1.3) ja mõõta piikide pindalad.

6.3. Kalibreerimisgraafik

6.3.1. Süstida kromatograafi 20 µl iga standardlahust (4.14) ja mõõta piikide pindalad.

6.3.2. Iga kontsentratsiooni jaoks arvutada alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi ja sisestandardi piikide pindalade suhe. Teha graafik, kandes abtsissteljele leitud suhted ja ordinaatteljele vastavad alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi standardlahuste kontsentratsioonid.

6.3.3. Ülalkirjeldatud protseduuri korrata etüül-4-hüdroksübensoaadiga.

7. Arvutused

7.1. Saadud kalibreerimisgraafikult leida masside suhted (RP1, RP2), mis vastavad punkti 6.2.3 järgi mõõdetud piikide pindalade suhetele ja kus:

RP1 – alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi mass / etüül-4-hüdroksübensoaadi mass;

RP2 – etüül-4-aminobensoaadi mass / etüül-4-hüdroksübensoaadi mass.

7.2. Saadud masside suhte alusel arvutada alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi sisaldus proovis P1 ja etüül-4-aminobensoaadi sisaldus proovis P2 (massiprotsentides) järgmiste valemite järgi:

1) $P1 = RP1 \times q : 6p$, kus:

q – etüül-4-hüdroksübensoaadi kogus sisestandardis (4.12), mg;

p – proovi kogus (6.1.1), g.

2) $P2 = RP2 - q : 6p$, kus:

q – etüül-4-hüdroksübensoaadi kogus sisestandardis (4.12), mg;

p – proovi kogus (6.1.1), g.

8. Korratavus

8.1. 5%-lise alfa-monoglütserüül-4-aminobensoaadi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,25%.

8.2. 1%-lise etüül-4-aminobensoaadi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,10%.

9. Märkused

9.1. Enne analüüside alustamist tuleb kontrollida, kas proov sisaldab aineid, mille piigid võivad kattuda sisestandardiks kasutatava etüül-4-aminobensoaadi piigiga.

9.2. Et vevenduda segavate tegurite puudumises, tuleb määramist korrata, muutes metanooli osa liikuvast faasis 10% võrra.

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 26
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KLOROBUTANOOLI MÄÄRAMINE*

1. RAKENDUSALA

Käesolevat meetodit saab kasutada klorobutanooli (*INN*) määramiseks kõikides kosmeetikatoodes (v.a aerosooltooted), kui klorobutanooli sisaldus tootes ei ületa 0,5%.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. NÄITAJA ÜHIK

Selle meetodi järgi määratud klorobutanooli sisaldus tootes väljendatakse massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Pärast proovi ettevalmistust määratakse klorobutanool gaasikromatograafiliselt, kasutades sisestandardina 2,2,2-trikloroetanooli.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 4.1. Klorobutanool (1,1,1-trikloro-2-metüülpropan-2-ool)
- 4.2. 2,2,2-trikloroetanool
- 4.3. Absoluutne alkohol
- 4.4. Klorobutanooli standardlahus: 0,025 g lahustatakse 100 ml etanoolis (4.3).
- 4.5. 2,2,2-trikloroetanooli standardlahus: 4 mg lahustatakse 100 ml etanoolis (4.3).

5. APARATUUR

- 5.1. Tavaline labori sisseseade
- 5.2. Gaasikromatograaf elektronhaardedetektoriga

6. ANALÜÜSI KÄIK

6.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 0,1–0,3 g proovi (p g) täpsusega 0,1 mg ja kanda üle 100-ml mõõtekolbi, lahustada etanoolis (4.3), lisada 1 ml sisestandardi lahust (4.5) ja viia etanooliga märgini.

6.2. Gaasikromatograafia tingimused

6.2.1. Tingimused peavad tagama lahutusteguri R väärtuseks vähemalt 1,5.

$R = 2d' (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_1 ja r_2 – retensiooniajad (min);

W_1 ja W_2 – piikide laiused poolkõrgusel (mm);

d' – isekirjuti lindi liikumise kiirus (mm/min).

6.2.2. Orienteeruvad kromatografeerimise tingimused:

6.3. Kalibreerimisgraafik

Viide 100-ml mõõtekolbi pipeteerida igaühte 1 ml standardlahust (4.5) ja 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 või 0,6 ml lahust 4.4. Kolvid täita etanooliga (4.3) märgini ja segada. Süstida 1 µl iga standardlahust kromatograafi punktis 6.2.2 toodud tingimustel ja teha kalibreerimisgraafik, kandes abtsisssteljele klorobutanooli ja 2,2,2-trikloroetanooli masside suhte standardlahuses ja ordinaatteljele vastavate piikide pindalade suhte.

6.4. 1 µl punktis 6.1 saadud lahust süstida kromatograafi punktis 6.2.2 toodud tingimustel.

7. ARVUTUSED

7.1. Kalibreerimisgraafikult (6.3) leida klorobutanooli sisaldus lahuses (6.1), väljendatuna µg-des.

7.2. Klorobutanooli sisaldus proovis P arvutada järgmise valemi järgi:

$$P = a \times 10^2 / p \times 10^6 = a / p \times 10^4$$

8. KORRATAVUS

0,5%-lise klorobutanooli sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,01%.

Juhul kui tulemus on võrdne või ületab lubatud maksimaalset kogust, tuleb kontrollida klorobutanooli määramist segavate ainete puudumist.

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 27
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

KINIINI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod on ette nähtud kiniini identifitseerimiseks šampoonides ja juuksevedelikes.

2. Meetodi põhimõte

Kiniin identifitseeritakse silikageel-õhekihikromatograafiliselt (ÕKK). Kiniin annab happelises keskkonnas ÕKK-plaadil 360 nm juures siniselt fluorestseeruva laigu.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Fluorestsentsindikaatorita silikageelplaadid: kihi paksus 0,25 mm, 200 mm –200 mm

3.2. Eluent: tolupeen, dietüüleeter, diklorometaan, dietüülamiin (mahulises vahekorras 20:20:20:8)

3.3. Metanool

3.4. Väävelhape, 96%, $d_4^{20} = 1,84$ g/ml

3.5. Dietüüleeter

3.6. Ilmutuslahus: keeduklaasi valada 95 ml dietüületrit (3.5), klaas jahutada jäävannis ja lisada ettevaatlikult 5 ml väävelhapet

3.7. Broom

3.8. Amooniumhüdrosiidi lahus, 28%, $d_4^{20} = 0,90$ g/ml

3.9. Kiniin, veevaba

3.10. Standardlahus: 100-ml mõõtekolbi kaaluda täpsusega 0,1 mg ligikaudu 100,0 mg veevaba kiniini (3.9) ja kolb täita metanooliga (3.3) märgini.

4. Aparatuur

4.1. Tavalised ÕKK vahendid

4.2. Ultrahelivann

4.3. Membraanfilter, *Millipore*'i filter, *FH 0,5 fm* või samaväärne

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 100-ml mõõtekolbi täpsusega 0,1 mg selline kogus proovi, mille eeldatav kiniinisisaldus on 100 mg. Proov lahustada metanoolis (3.3) ja kolb täita metanooliga (3.3) märgini.

Mõõtekolb sulgeda ja jätta üheks tunniks toatemperatuuril ultrahelivanni (4.2). Lahus filtreerida läbi membraanfiltri (4.3) ja filtraati kasutada kromatograferimiseks.

5.2. ÕKK

Kanda silikageelplaadile (3.1) 1,0 µl standardlahust (3.10) ja 1,0 µl proovilahust (5.1). Plaat panna eluendi aurudega (3.2) eelnevalt küllastatud tanki ja elueerida, kuni eluendi front on tõusnud 150 mm kõrguseni.

5.3. Ilmutamine

5.3.1. Plaat kuivatada toatemperatuuril

5.3.2. Plaati pritsida reaktiiviga 3.6

5.3.3. Plaati kuivatada toatemperatuuril üks tund

5.3.4. Plaati uurida UV-lambi all lainepikkuse 360 nm juures. Kiniini laigud fluorestseeruvad siniselt.

Kiniini grupi peamiste alkaloidide R_f väärtused, kui eluendiks on lahus 3.2

Alkaloid	R_f
Kiniin	0,20
Kinidiin	0,29
Tsinhoniin	0,33

Tsinhonidiin	0,27
Hüdrokinidiin	0,17

5.3.5. Kiniini olemasolu kinnitamiseks panna plaat umbes üheks tunniks broomiaurudesse (3.7). Helendus kaob ära. Kui sedasama plaati hoida ammoniaagi (3.8) aurudes, ilmuvad need laigud taas, seekord pruunidena, ja kui plaati vaadelda uuesti UV-kiirtes lainepikkuse 360 nm juures, siis helenduvad need laigud kollaselt.

Avastamispiir: 0,1 µg kiniini.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod sobib kiniini määramiseks, kui teda on kuni 0,5% šampoonides ja 0,2% juuksevedelikes.

2. Näitaja ühik

Selle meetodi järgi määratud kiniini sisaldus tootes väljendada tema massiprotsendina.

3. Meetodi põhimõte

Pärast proovi ettevalmistust määratakse kiniini sisaldus kõrgeefektiivse vedelikkromatograafia (*HPLC*).

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja kui vaja, *HPLC grade*.

4.1. Atsetonitriil

4.2. Kaaliumdivesinikfosfaat, KH_2PO_4

4.3. Ortofosforhape, 85%, $d_4^{20} = 1,7 \text{ g/ml}$

4.4. Tetrametüülammooniumbromiid

4.5. Kiniin, veevaba

4.6. Metanool

4.7. 0,1 M ortofosforhappe lahus: 1000-ml mõõtekolbi kaaluda 11,53 g ortofosforhapat (4.3), lahustada vees ja kolb täita veega märgini.

4.8. 0,1 M kaaliumdivesinikortofosfaadi lahus: 13,6 g kaaliumdivesinikortofosfaati (4.2) kaaluda 1000-ml mõõtekolbi, lahustada vees ja kolb täita veega märgini.

4.9. Tetrametüülammooniumbromiidi lahus: 15,4 g tetrametüülaminobroomi (4.4) kaaluda 1000-ml mõõtekolbi, lahustada vees ja kolb täita veega märgini.

4.10. Eluent: 0,1 M ortofosforhappe lahus (4.7), 0,1 M kaaliumdivesinikfosfaadi lahus (4.8), tetrametüülammooniumbromiidi lahus (4.9), vesi, atsetonitriil (4.1) (mahulises vahekorras 10:50:100:340:90).

Eluendi koostist võib muuta, et lahutustegur R oleks vähemalt 1,5.

$R = 2 \times d' \times (r_2 - r_1) / (W_1 + W_2)$, kus:

r_1 ja r_2 – retensiooniajad (min);

W_1 ja W_2 – piigi laiused poolkõrgusel (mm);

d' – isekirjuti lindi liikumise kiirus (mm/min).

4.11. Silikageel, töödeldud oktaetsüülsilaaniga, 10 µm.

4.12. Standardlahused: ligikaudu 5,0; 10,0; 15,0 ja 20,0 mg veevaba kiniini kaaluda täpsusega 0,1 mg 100-ml mõõtekolbidesse. Lisada metanooli (4.6) ja loksutada, kuni kiniin on lahustunud. Kolb täita metanooliga (4.6) märgini. Kõik proovid filtreerida läbi 0,5 µm-lise membraanfiltriga.

5. Aparatuur

5.1. Tavaline labori sisseseade

5.2. Ultrahelivann

5.3. Kõrgefektiivne vedelikkromatograaf muudetava lainepikkusega UV-detektoriga

5.4. Kolonn: pikkus –250 mm, sisemine diameeter –4.6 mm, täidis –silikageel (4.11)

5.5. Membraanfilter, *Millipore*’i filter, *FH 0,5 fm* või samaväärne koos vajaliku filtreerimiseseadmega

6. Analüüsi käik

6.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 100-ml mõõtekolbi täpsusega 0,1 mg (m grammi) toodet, mis eeldatavasti sisaldaks vähemalt 10 mg veevaba kiniini. Proovile lisada 20 ml metanooli (4.6) ja kolb panna 20 minutiks ultrahelivanni (5.2). Kolb täita metanooliga (4.6) märgini. Segada ja vajalik kogus filtreerida.

6.2. Kromatograafia

Liikuva faasi voolukiirus –1,0 ml/min;

Detektori (5.3) lainepikkus –332 nm;

Süstitav kogus –10 µl filtreeritud lahust (6.1).

6.3. Kalibreerimisgraafik

Kromatograafi süstida vähemalt kolm korda 10 µl iga standardlahust (4.12). Mõõta piikide pindalad ja leida igale kontsentratsioonile vastav keskmine piigi pindala.

Teha kalibreerimisgraafik ja kontrollida, et see on lineaarne.

7. Arvutused

7.1. Kalibreerimisgraafikult (6.3) määrata kiniini sisaldus (µg) süstitud koguses (6.2).

7.2. Veevaba kiniini sisaldus tootes P (massiprotsentides) arvutatakse järgmise valemi järgi:

$P = A / B$, kus:

B –veevaba kiniini sisaldus (µg) 10 µl filtreeritud lahuses (6.1);

A –katsekoguse mass (6.1), g.

8. Korratavus

8.1. 0,5%-lise veevaba kiniini sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,02%.

8.2. 0,2%-lise veevaba kiniini sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,01%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 28
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

ANORGAANILISTE SULFITITE JA VESINIKSULFITITE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab anorgaaniliste sulfitite ja vesiniksulfitite identifitseerimist ja määramist kosmeetikatoodetes. See meetod sobib vesi- ja alkoholilahuste analüüsimiseks, mis sisaldavad kuni 0,2% vääveldioksiidi.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Meetodi põhimõte

Proovi kuumutatakse soolhappes ja vabanenud vääveldioksiid identifitseeritakse lõhna järgi või indikaatorpaberiga.

2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Soolhape, 4 M

2.2. Kaaliumjodiidiga tärglisepaber või midagi samaväärset

3. Aparatuur

3.1. Tavaline labori sisseseade

3.2. 25-ml kolvid, lühikese püstjahutiga

4. Analüüsi käik

4.1. Umbes 2,5 g proovi kaaluda täpsusega 1 mg kolbi (3.2), milles on 10 ml soolhapet (2.1).

4.2. Segada ja kuumutada keemiseni.

4.3. Vääveldioksiidi olemasolu teha kindlaks kas lõhna järgi või indikaatorpaberiga (2.2).

B. MÄÄRAMINE

1. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud sulfiti või vesiniksulfiti sisaldus proovis väljendada vääveldioksiidi massiprotsendina.

2. Meetodi põhimõte

Pärast proovi hapustamist vabanenud vääveldioksiid destilleeritakse vesinikperoksiidi lahusesse. Moodustunud väävelhappe tiitritakse tagasi kaaliumhüdroksiidi standardlahusega.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Vesinikperoksiid, 2 g/l, iga päev valmistada värske lahus

3.2. Ortofosforhape, $d_4^{20} = 1,75$ g/ml

3.3. Metanool

3.4. Naatriumhüdroksiidi 0,01 M standardlahus

3.5. Lämmastik

3.6. Indikaator: vahekorras 1:1 segada metüülpunast (0,3 g/l lahus etanoolis) ja metüleensinist (0,5 g/l lahus etanoolis). Lahus filtreerida.

4. Aparatuur

4.1. Tavaline labori sisseseade

4.2. Destilleerimisaparaat (vt joonis 1)

5. Analüüsi käik

5.1. Ligikaudu 2,5 g proovi kaaluda täpsusega 1 mg destillatsioonikolbi A (joon 1).

5.2. Lisada 60 ml vett ja 50 ml metanooli (3.3) ja segada.

5.3. Destillaatori vastuvõtukolbi D (joon 1) panna 10 ml vesiniperoksiidi (3.1), 60 ml vett ja mõned tilgad indikaatorit (3.6). Lisada mõned tilgad naatriumhüdroksiidi (3.4), kuni indikaator värvub roheliseks.

- 5.4. Protseduuri 5.3 korratakse pesupudeliga E (joon 1).
- 5.5. Seade panna kokku ja lämmastikujoa (3.5) kiiruseks reguleerida umbes 60ulli minutis.
- 5.6. Tilklehtrist lisada destillatsioonikolbi A 15 ml ortofosforhapet (3.2).
- 5.7. Kolvi sisu ajada kiiresti keema ja keeta vaikselt 30 minutit.
- 5.8. Võtta vastuvõtukolb D seadme küljest. Ühendustoru loputada ja loputusvesi lisada vastuvõtukolbi. Lahus tiitrida naatrimhüdroksiidi lahusega (3.5), kuni indikaator (3.6) värvub roheliseks.

6. Arvutused

Sulfiti või vesiniksulfiti sisaldus proovis P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = 3,2 M V / m$, kus:

M –naatriumhüdroksiidi molaarne kontsentratsioon (3.4);

V –tiitrimiseks (5.8) kulunud naatriumhüdroksiidi (3.4) kogus, ml;

m –proovi mass (5.1), g.

7. Korratavus

0,2%-lise väveldioksiidi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,006%.

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 1. Väveldioksiidi destillatsiooniparaat Tanneri järgi (kõik mõõdud on antud millimeetrites)

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 29
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

LEELISMETALLIDE KLORAAATIDE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

Rakendusala

Käesolev meetod kirjeldab kloraatide määramist hambapastades ja teistes kosmeetikatoodetes.

[[RTL 2002, 54, 791](#) – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Meetodi põhimõte

Kloraadid eraldatakse bromaatidest ja jodaatidest õhekihikromatograafia (ÕKK) abil ja identifitseeritakse jodiidi oksüdeerimise kaudu joodiks.

2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Standardlahus: kaaliumkloraadi, -bromaadi ja -jodaadi 2 g/l värskelt valmistatud vesilahused

2.2. Eluent: 280 g/l ammoniaagi lahus, atsetoon, butanool (mahulises vahekorras 60:130:30)

2.3. Kaaliumjodiidi vesilahus, 50 g/l

2.4. Tärkliselahus, 10– 50 g/l

2.5. Soolhape, 1 M

2.6. Tselluloosiga ÕKK-plaadid, kihi paksus 0,25 mm

3. Aparatuur

Tavaline ÕKK aparatuur

4. Analüüsi käik

- 4.1. Umbes 1 g proovi ekstraheerida veega, filtreerida ja lahjendada umbes 25 ml-ni.
- 4.2. Plaadile (2.6) kanda 2 µl lahust (4.1) ja 2 µl iga standardlahust (2.1).
- 4.3. Plaat panna tanki ja elueerida lahusega 2.2, kuni eluendi front on tõusnud umbes 2/3 plaadi kõrguseni.
- 4.4. Plaat võtta tankist välja ja lasta tal kuivada (see võib kesta kuni kaks tundi).
- 4.5. Plaati pritsida kaaliumjodiidi (2.3) lahusega ja lasta kuivada umbes viis minutit.
- 4.6. Plaati pritsida tärglisekahusega (2.4) ja lasta kuivada umbes viis minutit.
- 4.7. Plaati pritsida soolhappega (2.5).

5. Hindamine

Kui proovis on kloraate, ilmuvad pärast poole tunnist seismist sinised (või pruunid) laigud, mille R_f on ligikaudu 0,7–0,8.

Halaat	R _f
Jodaat	0–0,2
Bromaat	0,5–0,6
Kloraat	0,7–0,8

Bromaadid ja jodaadid reageerivad kohe. Mitte ära segada bromaatide ja kloraatide laike!

B. MÄÄRAMINE

1. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud kloraatide sisaldus proovis väljendada kloraatide massiprotsendina.

2. Meetodi põhimõte

Kloraadid redutseeritakse tsigipulbriga happelises keskkonnas. Moodustunud kloriidid määratakse potentsiomeetrilisel tiitrimisel hõbenitraadi lahusega. Argentomeetriline tiitrimine enne kloraatide taandamist annab kloriidi sisalduse proovis.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad

- 3.1. Äädikhape, 80% (m/m)
- 3.2. Pulbriline tsink
- 3.3. Hõbenitraat, 0,1 M standardlahus

4. Aparatuur

- 4.1. Tavaline labori sisseseade
- 4.2. Potentsiomeeter hõbeindikaatorelektroodiga

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Tsentrifuugiklaasi kaaluda täpsusega 1 mg ligikaudu 2 g proovi (m g). Lisada umbes 15 ml äädikhapet (3.1) ja segada ettevaatlikult. Oodata 30 minutit ja tsentrifuugida 15 minutit kiirusega 2000 pöört/min. Supernatant valada 50-ml mõõtekolbi. Tsentrifugimist korrata kaks korda, valades kumbki kord sademele 15 ml äädikhapet (3.1). Kõik supernatandid lisada samasse mõõtekolbi. Kolb täita äädikhappega (3.1) märgini.

5.2. Kloraatide redutseerimine

20 ml lahusele (5.1) lisada 0,6 g pulbrilist tsinki (3.2). Segu kuumutada jahutiga kolvis keemiseni ja keeta 30 minutit. Kolvi sisu jahutada ja filtreerida. Kolb loputada veega. Loputusvesi filtreerida ja ühendada esimese filtraadiga.

5.3. Kloriidide määramine

20 ml lahust (5.2) tiitrida hõbenitraadilahusega (3.3), kasutades potentsiomeetrit (4.2). Analoogselt tiitrida 20 ml lahust 5.1.

NB! Juhul kui toode sisaldab broomi või jodiidi derivaate, mis annavad pärast redutseerimist broomiide või jodiide, on tiitrimiskõveral mitu käänupunkti. Sel juhul leitakse kloriidi tiitrimiseks kulunud tiitrimislahuse (3.3) maht viimase ja eelviimase käänupunkti vahe alusel.

6. Arvutused

Kloraatide sisaldus proovis P (massiprotsentides) leida järgmise valemi järgi:

$P = 20,9 (V - V') M / m$, kus:

V –lahuse 5.2 tiitrimiseks kulunud hõbenitraadilahuse (3.3) maht, ml;

V' –20 ml lahuse 5.1 tiitrimiseks kulunud hõbenitraadilahuse maht, ml;

M –hõbenitraadilahuse molaarsus;

m –proovi mass, g.

7. Korratavus

3– 5%-lise kloraatide sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,07%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 30
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

NAATRIUMJODAADI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab naatriumjodaadi identifitseerimist ja määramist kosmeetikatoodete loputusvedelikes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Põhimõte

Naatriumjodaati eraldatakse teistest halaatidest õhekihikromatograafiliselt ja identifitseeritakse jodiidi oksüdeerumise kaudu joodiks.

2. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

2.1. Võrdluslahused: kaaliumkloriidi, -bromiidi ja -jodaadi värskest valmistatud vesilahused, 0,1 g/l.

2.2. Eluent: ammoniaagilahus, 280 g/l, atsetoon, butanool (mahulises vahekorras: 60:130:30)

2.3. Kaaliumjodiidi vesilahus, 50 g/l

2.4. Tärkliselahus, 10– 50 g/l

2.5. Soolhape, 1 M

3. Aparatuur

3.1. Tselluloosiga ÖKK-plaadid, kihi paksus 0,25 mm

3.2. Tavalised ÖKK vahendid

4. Analüüsi käik

- 4.1. Umbes 1 g proovi ekstraheerida veega, filtreerida ja lahjendada kuni 10 ml-ni.
- 4.2. Plaadi (3.1) stardijoonele kanda 2 µl lahust (4.1) ja 2 µl igast kolmest standardlahusest (2.1).
- 4.3. Plaat panna tanki ja elueerida lahusega 2.2 kuni eluendi front on tõusnud umbes 2/3 plaadi kõrguseni.
- 4.4. Plaat võtta tankist välja ja lasta kuivada toatemperatuuril (kuni kaks tundi).
- 4.5. Plaati pritsida kaaliumjodiidiga (2.3) ja lasta kuivada viis minutit.
- 4.6. Plaati pritsida tärklielahusega (2.3) ja lasta kuivada viis minutit.
- 4.7. Plaati pritsida soolhappega (2.5).

5. Hindamine

Kui proovis on jodaati, ilmuvad kohe sinised (võivad olla ka pruunid või muutuda seismisel pruuniks) laigud, mille R_f on 0–0,2.

Kohe reageerivad ka bromaadid, kuid nende laikude R_f on 0,5–0,6. Klooraatide R_f on 0,7–0,8 ja nende laigud ilmuvad umbes 30 minuti pärast.

B. MÄÄRAMINE

1. Näitaja ühik

Selle meetodi järgi määratud naatriumjodaadi sisaldus väljendatakse tema massiprotsendina.

2. Meetodi põhimõte

Naatriumjodaat lahustatakse vees ja määratakse kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (*HPLC*), kasutades järjestikku C18- ja aniooniitkolonni.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajadusel puhtusega *HPLC grade*.

- 3.1. Soolhape, 4 M
- 3.2. Naatriumsulfiiti vesilahus, 50 g/l
- 3.3. Naatriumjodaadi põhilahus: 50 mg jodaati 100 ml vees
- 3.4. Kaaliumdivesinikfosfaat
- 3.5. Dinaatriumvesinikfosfaat $-2H_2O$
- 3.6. *HPLC* liikuv faas: 3,88 g kaaliumdivesinikortofosfaati (3.4.) ja 1,19 g dinaatriumvesinikfosfaati (3.5) lahustada ühes liitris vees; lahuse pH peab olema 6,2
- 3.7. Universaalne indikaatorpaber pH 1–11.

4. Aparatuur

- 4.1. Tavaline labori sisseseade
- 4.2. Paberfilter, diameeter 110 mm, *Schleicher and Schull No 575* või samaväärne
- 4.3. *HPLC* aparatuur reguleeritava lainepikkusega UV-detektoriga
- 4.4. Kolonn: pikkus 120 mm; sisemine diameeter 4,6 mm; järjestikku ühendada 2 kolonni: esimene kolonn – *Nucleosil – 5 C18* või samaväärne; teine kolonn – *VydacTM–301-SB* või samaväärne.

5. Analüüsi käik

- 5.1. Proovi ettevalmistamine
- 5.1.1. Vedelad kosmeetikatooted (šampoonid)

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Ligikaudu 1,0 g proovi kaaluda täpsusega 1 mg 10-ml suletavasse mõõtekolbi. Kolb täita veega märgini. Vajadusel lahust filtreerida. Jodaadi sisaldus lahuses määrata *HPLC*-ga, nagu on kirjeldatud punktis 5.2.

5.1.2. Tahked kosmeetikatooted (seebid)

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Ligikaudu 1,0 g proovi kaaluda täpsusega 1 mg 100-ml suletavasse klaasist mõõtesilindrisse. Silinder täita veega 50 ml-ni ja loksutada energiliselt üks minut. Segu tsentrifugeerida ja filtreerida läbi paberfiltriga (4.1) või lasta segul seista vähemalt üks öö.

Tarretisesarnast lahust loksutada tugevasti ja filtreerida läbi paberfiltriga (4.1).

Jodaadi sisaldus filtraadis määrata *HPLC*-ga, nagu on kirjeldatud punktis 5.2.

5.2. Kromatograafia:
voolukiirus –1 ml/min;
detektori (4.2) lainepikkus –210 nm;
sissesüstitava maht –10 µl.

5.3. Kalibreerimisgraafik

5.3.1. Viide 50-ml mõõtekolbi pipeteerida 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 ja 20 ml naatriumjodaadi põhilahust (3.3). Täita kolvid veega märgini ja segada. Valmistatud lahused sisaldavad 1 milliliitris vastavalt 0,01; 0,02; 0,05; 0,10 ja 0,20 mg naatriumjodaati.

5.3.2. Süstida 10 µl iga standardlahust kromatograafi (4.2). Kromatogrammil määrata jodaadi piigi pindala ja teha kalibreerimisgraafik piigi pindalade ja neile vastavate naatriumjodaadi kontsentratsioonide järgi.

6. Arvutused

Naatriumjodaadi sisaldus proovis P (massiprotsendina) arvutatakse järgmise valemi järgi:

$P = V c / 10 m$, kus:

m –proovi kogus (5.1), g;

V –alpunkti (5.1) järgi saadud proovilahuse kogumaht, ml;

c –kalibreerimisgraafiku (5.3.2) järgi leitud naatriumjodaadi kontsentratsioon uuritud lahuses, mg.

7. Korratavus

0,1%-lise naatriumjodaadi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,002%.

8. Täiendav tõestamine

8.1. Meetodi põhimõte

Kosmeetikatoote hapustatud lahuses redutseerub jodaat (IO_3^-) sulfiti toimel jodiidiks (I^-) ja saadud lahust analüüsitakse *HPLC* abil. Kui jodaadi retensioonijale vastav piik kaob pärast sulfitiga töötlemist, siis on tõenäoliselt tegemist jodaadiga.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

8.2. Analüüsi käik

8.2.1. Pipeteerida koonilisse kolbi 5 ml punkti 5.1 järgi saadud proovilahust. Lahuse pH viia 3-ni või madalamaks universaalse indikaatorpaberi (3.7) järgi, kasutades hapustamiseks soolhapet (3.1).

8.2.2. Lisada kolm tilka naatriumsulfiti lahust (3.2) ja segada.

8.2.3. 10 µl ülalosaadud lahust süstida kromatograafi (4.2).

Võrrelda saadud kromatogrammi kromatogrammiga, mis saadi sama proovi kohta punktis 5.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 85/490/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 31
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

HÖBENITRAADI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES*

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Rakendusala

Käesolev meetod kirjeldab hõbenitraadi identifitseerimist hõbeda järgi vesilahustena esinevates kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Hõbe identifitseeritakse iseloomuliku valge hõbekloriidi sademe järgi, mis tekib hõbeda reageerimisel kloori ionidega.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Soolhappe lahus, 2 M

3.2. Ammoniaagilahus: lahjendada kontsentreeritud ammoniumhüdroksiidi lahus ($d_{20} = 0,88$ g/ml) veega vahekorras 1:1 ja segada

3.3. Lämmastikhappe lahus, 2 M

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Tsentrifuug

5. Analüüsi käik

5.1. Kaaluda tsentrifuugiklaasi umbes 1 g proovi ja lisada sademe moodustamiseks tilgakaupa 2 M soolhappe lahust, segada ja tsentrifuugida.

5.2. Valada supernatant ära ja pesta sade üks kord viie tilga külma veega. Visata pesuvesi ära.

5.3. Tsentrifuugiklaasi lisada sama palju vett, kui seal on sadet, kuumutada keemiseni ja segada sade korralikult veega läbi.

5.4. Kuum lahus tsentrifuugida ja valada supernatant ära.

5.5. Sadestamiseks lisada mõned tilgad ammoniaagilahust (3.2), segada ja tsentrifuugida.

5.6. Klaasplaadile tilgutada üks tilk supernatanti, millele lisada mõned tilgad 2 M lämmastikhapet (3.3).

5.7. Kui tekib valge sade, siis sisaldab lahus hõbedat.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolevat meetodit kasutatakse hõbenitraadi määramiseks hõbeda järgi kulmude ja ripsmete värvimiseks ettenähtud kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Hõbe määrata aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Lämmastikhappe lahus, 0,02 M

3.2. Hõbeda standardlahused:

3.2.1. Hõbeda põhistandardlahus: 1000 µg/ml 0,05 M lämmastikhappe lahuses («SpectrosoL» või samaväärne);

3.2.2. Hõbeda standardlahus: 100 µg/ml. Pipeteerida 10 ml hõbeda põhistandardlahust (3.2.1) 100-ml mõõtekolbi ja täita kolb 0,02 M lämmastikhappega (3.1) märgini, segada. Lahust kasutada ainult värskelt valmistatuna ja hoida tumedas klaaspudelis.

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter, milles on hõbeda katoodlamp

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda täpsusega 0,1 mg umbes 0,1 g homogeenset toodet (m grammi), mis viiakse kvantitatiivselt üle 1-l mõõtekolbi. Kolb täita 0,02 M lämmastikhappega (3.1) märgini, segada.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:

leek –õhk-atsetüleen;

lainepikkus –338,3 nm;

kasutada fooniparandust;

parima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimisgraafik

5.3.1. Pipeteerida viide 100-ml mõõtekolbi 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 ml hõbeda standardlahust (3.2.2). Kõik kolvid täita 0,02 M lämmastikhappe lahusega (3.1) märgini, segada. Lahused sisaldavad vastavalt 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 µg/ml hõbedat.

5.3.2. Mõõta 0,02 M lämmastikhappe (3.1) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1) absorptsioonidest. Mõõta iga standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik hõbeda kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta proovilahuse (5.1) absorptsioon. Kalibreerimisgraafiku järgi leida sellele vastav hõbeda kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Hõbenitraadi sisaldus proovilahuses P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = 1,5748 \times c / 10 \times m$, kus:

m –prooviks võetud katsekogus (5.1), g;

c –kalibreerimisgraafiku järgi leitud hõbeda sisaldus proovilahuses (5.1), µg/ml.

7. Korratavus

4%-lise hõbenitraadi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,05%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 32
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

SELEENDISULFIIDI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KÕOMAVASTASTES šampoonIDES*

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab seleendisulfiidi identifitseerimist kõõmavastastes šampoonides.

2. Meetodi põhimõte

Seleen identifitseeritakse iseloomuliku kollakasoranži värvuse järgi, mis tekib tema reageerimisel karbamiidi ja kaaliumjodiidiga.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. Kontsentreeritud lämmastikhape ($d_{20} = 1,42$ g/ml)
- 3.2. Karbamiid
- 3.3. Kaaliumjodiidi lahus, 100 g/l: lahustada 10 g kaaliumjodiidi 100 ml vees.

4. Aparatuur

- 4.1. Standardne labori sisseseade
- 4.2. 100-ml lihviga ümarkolb proovi lagundamiseks
- 4.3. Kuumutusseadmega oksüdatsiooniaparaat
- 4.4. Filterpaber (*Whatman No 42* või samaväärne) või membraanfilter 0,45 μm .

5. Analüüsi käik

- 5.1. Valada umbes 1 g šampooni oksüdatsiooniaparaati (4.3), lisada 2,5 ml kontsentreeritud lämmastikhapet (3.1) ja lagundada proov oksüdatsiooniaparaadis (4.3) 150 °C juures 30 minutit.
- 5.2. Lagundatud proov lahjendada veega 25 ml-ni ja filtreerida läbi paber- või membraanfiltri (4.4).
- 5.3. Lisada 2,5 ml filtraadile 5 ml vett, 2,5 g karbamiidi (3.2) ja kuumutada keemiseni. Jahutada ja lisada 1 ml kaaliumjodiidi lahust (3.3).
- 5.4. Kui proovis on seleeni, värvub lahus kollasest kuni oranžini. Värvus tumeneb seismisel kiiresti.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod sobib seleendisulfiidi määramiseks seleeni järgi kõõmavastastes šampoonides, mis sisaldavad kuni 4,5% seleendisulfiidi.

2. Meetodi põhimõte

Proov lagundatakse lämmastikhaptega ja saadud lahusest määratakse seleeni aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. Kontsentreeritud lämmastikhape ($d_{20} = 1,42$ g/ml)
- 3.2. 5% lämmastikhappe lahus: keeduklaasis lisada 500 ml veele 50 ml kontsentreeritud lämmastikhapet (3.1) klaasi sisu pidevalt segades. Saadud lahus viia üle 1-l mõõtekolbi, kolb täita veega märgini.
- 3.3. Seleeni põhistandardlahus: 1000 $\mu\text{g/ml}$ 0,5 M lämmastikhappe lahuses («*SpectrosoL*» või samaväärne)

4. Aparatuur

- 4.1. Standardne labori sisseseade
- 4.2. 100-ml lihviga ümarkolb proovi lagundamiseks
- 4.3. Kuumutusseadmega oksüdatsiooniaparaat
- 4.4. Filterpaber (*Whatman No 42* või samaväärne) või membraanfilter, 0,45 μm
- 4.5. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter, milles on seleeni katoodlamp.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine
5.1.1. Kaaluda täpsusega 0,1 mg ligikaudu 0,2 g (m grammi) homogeenset šampooni ümarkolbi (4.2).
5.1.2. Lisada 5 ml kontsentreeritud lämmastikhapet (3.1) ja lagundada proov 150 °C juures üks tund oksüdatsiooniparaadis (4.3).
5.1.3. Lahus jahutada ja lahjendada veega 100 ml-ni, filtreerida läbi paber- või membraanfiltri (4.4). Filtraati kasutada järgnevaks määramiseks.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:
leek –õhk-atsetüleen;
lainepikkus –196,0 nm;
kasutada fooniparandust;
parima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimisgraafik
5.3.1. Pipeteerida viide 100-ml mõõtekolbi 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 ml seleeni standardlahust (3.3). Kõik kolvid täita 5% (v/v) lämmastikhappe lahusega (3.2) märgini, segada. Need lahused sisaldavad vastavalt 10,0; 20,0; 30,0; 40,0 ja 50,0 µg/ml seleeni.
5.3.2. Mõõta 5% lämmastikhappe (3.2) absorptsioon. Mõõta 0,02 M lämmastikhappe (3.1) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1) absorptsioonidest. Mõõta iga standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik seleeni kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta katselahuse (5.1.3.) neelduvus. Kalibreerimisgraafiku järgi leida sellele vastav seleeni kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Seleendisulfiidi sisaldus proovilahuses P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = 1,812 \times c / 10 \times m$, kus:

m –prooviks võetud katsekogus (5.1.1), g;

c –kalibreerimisgraafiku järgi leitud seleeni sisaldus proovilahuses (5.1.3), µg/ml.

7. Korratavus

1%-lise seleendisulfiidi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,05% (m/m).

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 33
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

LAHUSTUVA BAARIUMI JA STRONTSIUMI MÄÄRAMINE PIGMENTIDES*

A. LAHUSTUVA BAARIUMI MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab vaba baariumi ekstraheerimist ja määramist pigmentides, kuhu seda on lisatud soolade või lake-na.

2. Meetodi põhimõte

Pigment ekstraheeritakse 0,07 M soolhappega meetodis kirjeldatud tingimustel ja ekstraktis sisalduv baarium määratakse kvantitatiivselt aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Absoluutne etanool

3.2. 0,07 M soolhappe lahus

3.3. 0,5 M soolhappe lahus

3.4. Kaaliumkloriidi lahus, 80 g/l: lahustada 16 g kaaliumkloriidi 200 ml 0,07 M soolhappes (3.2)

3.5. Baariumi standardlahused:

3.5.1. Baariumi põhistandardlahus, 1000 µg/ml 0,5 M lämmastikhappe lahuses («SpectrosoL» või samaväärne)

3.5.2. Baariumi standardlahus, 200 µg/ml: pipeteerida 20,0 ml põhistandardi lahust (3.5.1) 100-ml mõõtekolbi. Täita kolb märgini 0,07 M soolhappe lahusega (3.2.2) ja segada.

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. pH-meeter, täpsusega – 0,02 ühikut

4.3. Loksuti

4.4. Membraanfilter, 0,45 µm

4.5. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter, milles on baariumi katoodlamp

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

5.1.1. Kaaluda täpsusega 1 mg ligikaudu 0,5 g (m grammi) pigmenti 200-ml koonilisse kolbi.

5.1.2. Pipeteerida 1,0 ml etanooli (3.1) ja pöörata kolbi nii, et kogu pigment märguks. Lisada büretist täpne kogus 0,07 M soolhapet (täpselt 50 ml hapet 1 grammi pigmendi kohta). Kogu lahuse maht (koos etanooliga) on V ml. Loksutada kolbi viis sekundit, et kogu sisu oleks hästi segunenud.

5.1.3. Mõõta suspensiooni pH ja kui see on kõrgem kui 1,5, lisada tilgakaupa 0,5 M soolhapet, kuni pH on 1,4–1,5.

5.1.4. Sulgeda kolb ja panna ta kohe 60 minutiks loksutile (4.3). Loksuti peab töötama nii kiires tempos, et tekiks vaht. Kolvi sisu filtreerida läbi membraanfiltriga (4.4). Lahust ei tohi enne filtreerimist tsentrifuugida. Pipeteerida 5,0 ml filtraati 50-ml mõõtekolbi ja täita kolb märgini 0,07 M soolhappega (3.2), segada. Seda lahust kasutatakse ka strontsiumi määramiseks.

5.1.5. Pipeteerida 100-ml mõõtekolbi 5,0 ml kaaliumkloriidi lahust (3.4) ja selline kogus (W_a ml) lahjendatud filtraati (5.1.4), et pärast mõõtekolvi täitmist oleks baariumi kontsentratsioon 3–10 µg/ml (eelkatseks peaks piisama 10 ml). Täita kolb märgini 0,07 M soolhappega (3.2), segada.

5.1.6. Baariumi kontsentratsioon lahuses (5.1.5) tuleb määrata aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt samal päeval.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:

leek –lämmastikoksiid/atsetüleen;

lainepikkus –553,3 nm;

kasutada fooniparandust;

parima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimisgraafik

5.3.1. Pipeteerida viide 100-ml mõõtekolbi 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 ml baariumi standardlahust (3.3). Igasse kolbi pipeteerida 5,0 ml kaaliumkloriidi lahust (3.4). Kõik kolvid täita 0,07 M soolhappe lahusega (3.2) märgini, segada. Need lahused sisaldavad vastavalt 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 ja 10,0 µg/ml baariumi.

Analoogselt valmistada pimelahus (reaktiivide kontroll-lahus), kuhu baariumi standardlahust ei lisata.

5.3.2. Mõõta pimelahuse (5.3) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1) absorptsioonidest. Mõõta iga standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik baariumi kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta katselahuse (5.1.5) absorptsioon. Kalibreerimisgraafikult leida sellele vastav baariumi kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Lahustuva baariumi sisaldus P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = c \times V / 10 W_{Ba} \times m$, kus:

m –prooviks võetud katsekogus (5.1.1), g;

c –kalibreerimisgraafiku järgi leitud baariumi sisaldus proovilahuses (5.1.3), µg/ml;

V –lahuse 5.1.2 kogumaht, ml;

W_{Ba} –punktis 5.1.5 pipeteeritud lahuse maht, ml.

7. Korratavus

2%-lise lahustuva baariumi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,2%.

8. Märkused

8.1. Teatud tingimustel võib kaltsiumi sisaldus mõjutada baariumi absorptsiooni, näidates seda tegelikust suuremana. Kaltsiumi mõju saab kõrvaldada, lisades magneesiumi 5 g/l (vt «*Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry*». Jerrow, M et al. *Analytical Proceedings*, 1991,28,40).

8.2. Alternatiivse meetodina võib kasutada aatomiemissioonspektromeetria.

B. LAHUSTUVA STRONTSIUMI MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab vaba strontsiumi ekstraheerimist ja määramist pigmentides, kuhu seda on lisatud soolade või lake'na.

2. Meetodi põhimõte

Pigment ekstraheeritakse 0,07 M soolhappega meetodis kirjeldatud tingimustel ja ekstraheerunud strontsium määratakse kvantitatiivselt aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Absoluutne alkohol

3.2. 0,07 M soolhappe lahus

3.3. Kaaliumkloriidi lahus, 80 g/l: lahustada 16 g kaaliumkloriidi 200 ml 0,07 M soolhappes (3.2)

3.4. Strontsiumi standardlahused:

3.4.1. Strontsiumi põhistandardlahus, 1000 µg/ml 0,5 M lämmastikhappes («*SpectrosoL*» või samaväärne).

3.4.2. Strontsiumi standardlahus, 100 µg/ml: pipeteerida 10,0 ml põhistandardlahust (3.4.1) 100-ml mõõtekolbi. Täita kolb 0,07 M soolhappega (3.2) märgini, segada.

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Membraanfilter, 0,45 µm

4.3. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter, milles on strontsiumi katoodlamp.

5. Analüüsi käik

5.1. Kasutada vaba strontsiumi määramiseks baariumi määramiseks saadud lahust (5.1.4).

5.1.1. Pipeteerida 100-ml mõõtekolbi 5,0 ml kaaliumkloriidi lahust (3.3) ja selline kogus lahjendatud filtraati (W_{st}), et pärast mõõtekolvi täitmist oleks strontsiumi kontsentratsioon 2– 5 µg/ml (eelkatseks peaks piisama 25 ml). Täita kolb 0,07 M soolhappega (3.2) märgini, segada.

5.1.2. Strontsiumi kontsentratsioon lahuses (5.1.1) määrata aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt samal päeval.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:

leek –lämmastikoksiid/atsetüleen;

lainepikkus –460,7 nm;

fooniparandust ei kasutata;

parima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimisgraafik

5.3.1. Pipeteerida viide 100-ml mõõtekolbi 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 ml strontsiumi standardlahust (3.4.2). Igasse kolbi pipeteerida 5,0 ml kaaliumkloriidi lahust (3.3). Kõik kolvid täita 0,07 M soolhappe lahusega (3.2) märgini, segada. Need lahused sisaldavad vastavalt 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 ja 5,0 µg/ml strontsiumi.

Analoogselt valmistada pimelahus (reaktiivide kontroll-lahus), kuhu strontsiumi standardlahust ei lisata.

5.3.2. Mõõta pimelahuse (5.3.1) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1)

absorptsioonidest. Mõõta iga standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik strontsiumi kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta katselahuse (5.1.5) neelduvus. Kalibreerimisgraafikult leida sellele vastav strontsiumi kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Lahustuva strontsiumi sisaldus P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = c \times V / 10 W_{St} \times m$, kus:

m – prooviks võetud katsekogus (A 5.1.1), g;

c – kalibreerimisgraafikult leitud baariumi sisaldus proovilahuses (5.1.1), µg/ml;

V – lahuse (A 5.1.2) kogumaht, ml;

W_{St} – punktis (5.1.1) pipeteeritud lahuse maht, ml.

7. Korratavus

0,6%-lise lahustuva strontsiumi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,09%.

8. Märkus

Alternatiivse meetodina võib kasutada aatomiemissioonspektromeetria.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 34
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

BENSÜÜLALKOHOLI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES*

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab bensüülalkoholi identifitseerimist kosmeetikatoodes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Bensüülalkohol identifitseeritakse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil silikageelplaadil.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Bensüülalkohol

3.2. Kloroform

3.3. Absoluutne etanool

3.4. n-pentaan

3.5. Elueerimislahus: dietüüleeter

3.6. Bensüülalkoholi standardlahus: kaaluda 0,1 g bensüülalkoholi (3.1) täpsusega 0,1 mg 100-ml mõõtekolbi, täita kolb etanooliga (3.3) määrgini ja segada.

3.7. ÕKK-plaadid, klaasist, 100–200 mm, kaetud 0,25 mm paksuse silikageel 60 F₂₅₄kihiga.

3.8. Ilmuti: 12-molübdeenfosforhape, 100 g/l etanoolis.

4. Aparatuur

- 4.1. Tavalised ÕKK vahendid
- 4.2. Kromatograafiatank, kaksiksüvendiga kamber üldmõõtudega 80 mm –230 mm –240 mm
- 4.3. Kromatograafiapaber: *Whatman* või samaväärne
- 4.4. UV-lamp, lainepikkus 254 nm

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 1,0 g analüüsitavat toodet 10-ml mõõtekolbi. Lisada 3 ml kloroformi (3.2) ja loksutada tugevasti, kuni toode on disperseeritud. Täita kolb etanooliga (3.3.3) märgini ja loksutada tugevasti, etsaadala läbipaistev või peaaegu läbipaistev lahus.

5.2. Õhekihikromatograafia

5.2.1. Küllastada kromatograafiatank (4.2) n-pentaaniga (3.4) järgmiselt: kambri tagasein katta kromatograafiapaberiga (4.3) ja veenduda, et paberialumine äär on süvendis. Valada 25 ml n-pentaani mööda paberit (3.4) tagumisse süvendisse, sulgeda kamber kaanega ja jätta 15 minutiks seisma.

5.2.2. Kanda 10 µl proovilahust (5.1) ja 10 µl bensüülalkoholi standardlahust (3.6) plaadi (3.7) stardijoonele. Kuivatada.

5.2.3. Pipeteerida 10 ml dietüületrit (3.5) tanki eesmisesse süvendisse ja vahetult pärast seda asetada plaat (5.2.2) samasse süvendisse. Sulgeda tank kaanega ja elueerida, kuni eetri front on tõusnud 150 mm-ni. Võtta plaat tankist välja ja kuivatada toatemperatuuril.

5.2.4. Vaadelda plaati (5.2.3) UV-valguses ja tõmmata pliitsiga violetsetele laikudele ring ümber. Pritsida plaati ilmutiga (3.8) ja kuumutada plaati 120 °C juures umbes 15 minutit. Bensüülalkohol ilmub tumesinise laiguna.

5.2.5. Leida bensüülalkoholi standardlahuse Rf. Samasuguse Rf-ga tumesiniste laikude olemasolu viitab bensüülalkoholi olemasolule analüüsitud lahuses.

Avastamispiir: 0,1 µg bensüülalkoholi.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab bensüülalkoholi määramist kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Definitsioon

Käesoleva meetodi järgi määratud bensüülalkoholi sisaldus tootes väljendatakse massiprotsendina.

3. Meetodi põhimõte

Proov ekstraheeritakse metanooliga ja bensüülalkoholi sisaldus ekstraktis määratakse kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil.

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajadusel *HPLC grade*.

- 4.1. Metanool
- 4.2. 4-etoksüfenool
- 4.3. Bensüülalkohol
- 4.4. Liikuv faas: metanool (4.1), vesi (mahulises vahekorras 45:55)
- 4.5. Bensüülalkoholi põhilahus: kaaluda täpne kogus (ligikaudu 0,1 g) bensüülalkoholi (4.3) 100-ml mõõtekolbi. Täita kolb metanooliga (4.1) märgini ja segada.
- 4.6. Sisestandardi põhilahus: kaaluda täpne kogus (ligikaudu 0,1 g) 4-etoksüfenooli (4.2) 100-ml mõõtekolbi. Täita kolb metanooliga (4.1) märgini ja segada.
- 4.7. Standardlahused: pipeteerida 25-ml mõõtekolbidesse bensüülalkoholi põhilahust (4.5) ja sisestandardi põhilahust (4.6), nagu on antud alljärgnevas tabelis. Täita kolvid metanooliga (4.1) märgini ja segada.

Standardlahus	Bensüülalkoholi kontsentratsioon	4-etoksüfenooli kontsentratsioon
	Kogus, ml (4.5)	Kogus, ml (4.6)
	µg/ml*	µg/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

* Need väärtused on antud näiteks ja toodud kontsentratsioonid vastavad standardlahustele, mis sisaldasid täpselt 1 g/l bensüülalkoholi või 1 g/l 4-etoksüfenooli.

5. Aparatuur

5.1. Standardne labori sisseade

5.2. Kõrgefektiivne vedelikukromatograaf UV-detektoriga ja 10-µl sissesüstimissilmusega

5.3. Analüütiline kolonn: 250 mm –4,6 mm, täidis *Spherisorb ODS*, 5µm või midagi samaväärset

5.4. Veevann

5.5. Ultrahelivann

5.6. Tsentrifuug

5.7. Tsentrifuugiklaasid, 15 ml

6. Analüüsi käik

6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Kaaluda täpsusega 0,1 mg ligikaudu 0,1 g proovi (m grammi) tsentrifuugiklaasi (5.7) ja lisada 5 ml metanooli (4.1).

6.1.2. Kuumutada kümme minutit veevannil (5.4) 50 °C juures. Panna tsentrifuugiklaas (5.7) ultrahelivanni (5.5) ja disperseerida proov täielikult.

6.1.3. Jahutada, tsentrifuugida kiirusega 3500 pöört minutis viis minutit.

6.1.4. Viia supernatant 25-ml mõõtekolbi.

6.1.5. Korrata ekstraheerimist 5 ml metanooliga (4.1) ja ühendada ekstraktid 25-ml mõõtekolvis (6.1.4).

6.1.6. Pipeteerida 2,0 ml sisestandardi põhilahust (4.6) 25-ml mõõtekolbi (6.1.4). Täita kolb metanooliga (4.1) märgini ja segada. Seda lahust kasutada punktis 6.4 kirjeldatud määramiseks.

6.2. Kromatograafia

6.2.1. Tavalisel viisil valmistada *HPLC* -aparatuur (5.2) tööks ette. Liikuva faasi voolukiirus: 2,0 ml/min.

6.2.2. UV-detektori lainepikkus: 210 nm.

6.3. Kalibreerimine

6.3.1. Süstida 10 µl igat bensüülalkoholi standardlahust (4.7) kromatograafi ja mõõta bensüülalkoholi ja 4-etoksüfenooli piikide pindalad.

6.3.2. Iga bensüülalkoholi standardlahuse (4.7) jaoks leida bensüülalkoholi piigi ja 4-etoksüfenooli piigi pindalade suhe. Joonistada kalibreerimisgraafik, kandes ordinaatteljele leitud piikide pindalade suhted ja abstsissiteljele nende vastavad bensüülalkoholi kontsentratsioonid (µg/ml).

6.4. Määramine

6.4.1. Süstida 10 µl proovilahust (6.1.6) kromatograafi ja mõõta bensüülalkoholi ja 4-etoksüfenooli piikide pindalad. Leida bensüülalkoholi ja 4-etoksüfenooli piikide pindalade suhe. Korrata määramist, kuni saadakse püsivad väärtused.

6.4.2. Kalibreerimisgraafikult (6.3.2) leida bensüülalkoholi ja 4-etoksüfenooli piikide pindalade suhtele vastav bensüülalkoholi kontsentratsioon.

7. Arvutused

Bensüülalkoholi sisaldus proovis P (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P = c / 400 \times m$, kus:

m –analüüsiks võetud proovi mass (6.1.1), g;

c –kalibreerimisgraafikult leitud bensüülalkoholi kontsentratsioon proovilahuses (6.1.6), µg/ml.

8. Korratavus

1%-lise bensüülalkoholi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,10%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 35
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

TSIRKONIUMI IDENTIFITSEERIMINE JA TSIRKONIUMI, ALUMIINIUMI JA KLOORI MÄÄRAMINE MITTEAEROSOLSETES ANTIPERSPIRANTIDES*

Meetod koosneb viiest etapist:

- A. Tsirkoniumi identifitseerimine
- B. Tsirkoniumi määramine
- C. Alumiiniumi määramine
- D. Kloori määramine
- E. Alumiiniumiaatomite ja tsirkoniumiaatomite suhte ning alumiiniumiaatomite ja tsirkoniumiaatomite summa ja klooriaatomite suhte leidmine.

A. TSIRKONIUMI IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab tsirkoniumi identifitseerimist mitteaerosolsetes higistamisvastastes kosmeetikatoodetes. See meetod ei sobi alumiiniumtsirkoniumkloriidhüdrosiidikompleksi $[Al_xZr(OH)_yCl_z - nH_2O]$ identifitseerimiseks.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Tsirkonium identifitseeritakse iseloomuliku punakasvioletse sademe järgi, mis tekib reageerimisel S-alisariinpunasega tugevalt happelises keskkonnas.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

- 3.1. Kontsentreeritud soolhape, $d_{20} = 1,18$ g/l
- 3.2. S-alisariinpunase (CI 58005) lahus: naatriumalisariinsulfonaadi vesilahus, 20 g/l.

4. Aparatuur

Standardne labori sisseseade

5. Analüüsi käik

- 5.1. Kaaluda umbes 1 g proovi katseklaasi ja lisada 2 ml vett. Katseklaas sulgeda ja loksutada.
- 5.2. Lisada kolm tilka S-alisariinpunase lahust (3.2) ja pärast seda 2 ml kontsentreeritud soolhapet (3.1). Katseklaas sulgeda ja loksutada.
- 5.3. Katseklaas jätta umbes kaheks minutiks seisma.
- 5.4. Tsirkoniumi sisaldust proovis tõestavad punakasvioletseks värvunud supernatant ja sade.

B. TSIRKONIUMI MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod võimaldab määrata tsirkoniumi alumiiniumtsirkoniumkloriidhüdrosiidkompleksis, kui tsirkoniumi kontsentratsioon mitteaerosolsetes antiperspirandis ei ületa 7,5%.

2. Meetodi põhimõte

Tsirkonium ekstraheeritakse tootest happelises keskkonnas ja määratakse aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Kontsentreeritud soolhape, $d_{20} = 1,18$ g/l

3.2. 10% (v/v) soolhappe lahus: keeduklaasis olevale 500 ml veele lisada pidevalt segades 100 ml kontsentreeritud soolhapet (3.1). Viia lahus 1-l mõõtekolbi ja täita kolb veega märgini.

3.3. Tsirkooniumi põhistandardlahus: 1000 µl/ml 0,5 M lämmastikhappes («SpectrosoL» või midagi samaväärset).

3.4. Alumiiniumkloriidi [$AlCl_3 \cdot 6H_2O$] lahus: lahustada 22,6 g alumiiniumkloriidheksahüdraati 250 ml 10% (v/v) soolhappes (3.2).

3.5. Ammooniumkloriidi lahus: lahustada 5,0 g ammooniumkloriid 250 ml 10% soolhappes (3.2).

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Kuumutiga magnetsegaja

4.3. Filterpaber (*Whatman No 41* või samaväärne)

4.4. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter tsirkooniumkatoodelambiga.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

5.1.1. Kaaluda täpusega 0,1 mg ligikaudu 1,0 g homogeenset proovi (m grammi) 150-ml keeduklaasi. Lisada 40 ml vett ja 10 ml kontsentreeritud soolhapet (3.1).

5.1.2. Asetada keeduklaas magnetsegajale (4.2), kuumutada segades kuni keemiseni. Et vältida vee kiiret aurustumist, katta keeduklaas uuriklaasiga. Keeta viis minutit, jahutada keeduklaas toatemperatuurini.

5.1.3. Keeduklaasi sisu filtreerida läbi paberfiltrit (4.3) 100-ml mõõtekolbi. Loputada keeduklaasi kaks korda 10 ml veega, loputusveed filtreerida mõõtekolbi. Täita kolb veega märgini ja segada. Seda lahust kasutatakse ka alumiiniumi määramiseks.

5.1.4. Pipeteerida 50-ml mõõtekolbi 5,00 ml alumiiniumkloriidi lahust (3.4) ja 5,00 ml ammooniumkloriidi lahust (3.5). Täita kolb 10% soolhappe lahusega (3.2) märgini ja segada.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:

leek –lämmastikoksiid/atsetüleen;

lainepikkus –360,1 nm;

fooniparandust ei kasutata;

parima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimine

5.3.1. Pipeteerida viide 50-ml mõõtekolbi 5,00; 10,00; 15,00; 20,00 ja 25,00 ml tsirkooniumi standardlahust (3.3). Igasse kolbi pipeteerida 5,0 ml alumiiniumkloriidi lahust (3.4) ja 5,00 ml ammooniumkloriidi lahust (3.5). Kõik kolvid täita 10% soolhappe lahusega (3.2) märgini, segada. Need lahused sisaldavad vastavalt 100; 200; 300; 400 ja 500 µg/ml tsirkooniumi.

Analoogselt valmistada pimelahus (reaktiivide kontroll-lahus), kuhu tsirkooniumi standardlahust ei lisata.

5.3.2. Mõõta pimelahuse (5.3.1) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1) absorptsioonidest. Mõõta iga tsirkooniumi standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik tsirkooniumi kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta katselahuse (5.1.4) absorptsioon. Kalibreerimisgraafikult leida sellele vastav tsirkooniumi kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Tsirkooniumi sisaldus proovis P_{Zr} (massiprotsendina) arvutatakse järgmise valemi järgi:

$P_{Zr} = c / 40 \times m$, kus:

m –prooviks võetud katsekogus (5.1.1), g;

c –kalibreerimisgraafikult leitud tsirkooniumi sisaldus proovilahuses (5.1.3), µg/ml.

7. Korratavus

3%-lise tsirkooniumi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,1%.

8. Märkus

Alternatiivse meetodina võib kasutada aatomiemissioonspektromeetria.

C. ALUMIINIUMI MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod võimaldab määrata alumiiniumi alumiiniumtsirkooniumkloriidhüdrosiidkompleksis, juhul kui alumiiniumi kontsentratsioon mitteaerosoolses antiperspirandis ei ületa 12%.

2. Meetodi põhimõte

Alumiinium ekstraheeritakse tootest happelises keskkonnas ja määratakse aatomiabsorptsioonspektromeetriliselt.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Kontsentreeritud soolhape, $d_{20} = 1,18$ g/l

3.2. 1% (v/v) soolhappe lahus: keeduklaasis olevale 500 ml veele lisada pidevalt segades 10 ml kontsentreeritud soolhapet (3.1). Viia lahus 1-l mõõtekolbi ja täita kolb veega määrgini.

3.3. Alumiiniumi põhistandardlahus: 1000 µl/ml 0,5 M lämmastikhappes («SpectrosoL» või midagi samaväärset).

3.4. Kaaliumkloriidi lahus: lahustada 10,0 g kaaliumkloriidi 250 ml 1% (v/v) soolhappes (3.2).

4. APARATUUR

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Aatomiabsorptsioonspektrofotomeeter alumiiniumi katoodlambiga.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Alumiiniumi sisalduse määramiseks kasutada tsirkooniumi määramiseks valmistatud lahust (B 5.1.3).

5.1.1. Pipeteerida 100-ml mõõtekolbi 5,00 ml proovilahust (B 5.1.3) ja 10 ml kaaliumkloriidi lahust (3.4). Täita kolb 1% soolhappes (3.2) määrgini ja segada.

5.2. Aatomiabsorptsioonspektromeetria tingimused:

leek –lämmastikoksiid/atsetüleen;

lainepikkus –309,3 nm;

fooniparandust ei kasutata;

prima tundlikkuse saavutamiseks on vaja optimeerida leegi kõrgus ja gaaside suhted.

5.3. Kalibreerimine

5.3.1. Pipeteerida viide 50-ml mõõtekolbi 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 ja 5,00 ml alumiiniumi standardlahust (3.3).

Igasse kolbi pipeteerida 10,0 ml kaaliumkloriidi lahust (3.4). Kõik kolvid täita 10% soolhappes (3.2) määrgini, segada. Need lahused sisaldavad vastavalt 10; 20; 30; 40 ja 50 µg/ml alumiiniumi.

Analoogselt valmistada pimelahus (reaktiivide kontroll-lahus), kuhu alumiiniumi standardlahust ei lisata.

5.3.2. Mõõta pimelahuse (5.3.1) absorptsioon. Saadud väärtus lahutada standardlahuste (5.3.1)

absorptsioonidest. Mõõta iga alumiiniumi standardlahuse (5.3.1) absorptsioon ja joonistada kalibreerimisgraafik alumiiniumi kontsentratsioonide ja neile vastavate absorptsioonide alusel.

5.4. Määramine

Mõõta katselahuse (5.1.4) absorptsioon. Kalibreerimisgraafikult leida sellele vastav alumiiniumi kontsentratsioon proovilahuses.

6. Arvutused

Alumiiniumi sisaldus proovis P_{Al} (massiprotsendina) arvutada järgmise valemi järgi:

$P_{Al} = c / 5 \times m$, kus:

m –prooviks võetud katsekogus (5.1.1), g;
c –kalibreerimisgraafikult leitud alumiiniumi sisaldus proovilahuses (5.1.3), µg/ml.

7. Korratavus

3,5%-lise alumiiniumi sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,10%

8. Märkus

Alternatiivse meetodina võib kasutada aatomiemissioonspektromeetria.

D. KLOORI MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod sobib alumiiniumtsirkooniumkloriidhüdrosiidkompleksis kloriidioonina esineva kloori määramiseks.

2. Meetodi põhimõte

Kloriidioon määratakse potentsiomeetrilise tiitrimise teel hõbenitraadi lahusega.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. Kontsentreeritud lämmastikhape, $d_{20} = 1,42$ g/l

3.2. 5% lämmastikhappe lahus: valada keeduklaasi 250 ml vett ja lisada pidevalt segades 25 ml kontsentreeritud lämmastikhapet (3.1). Viia see lahus 500-ml mõõtekolbi ja täita kolb veega märgini

3.3. Atsetoon

3.4. 0,1 M hõbenitraadi standardlahus («AnalaR» või midagi samaväärset)

4. Aparatuur

4.1. Standardne labori sisseseade

4.2. Kuumutiga magnetsegisti

4.3. Hõbeelettrood

4.4. Kalomelvärdluselettrood

4.5. pH-meeter (millivoltmeeter) potentsiomeetriliseks tiitrimiseks

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

5.1.1. Kaaluda keeduklaasi täpsusega 0,1 mg ligikaudu 1,0 g homogeenset proovi (m grammi). Lisada 80 ml vett ja 20 ml 5% lämmastikhappe lahust (3.2).

5.1.2. Asetada keeduklaas magnetsegajale (4.2) ja kuumutada segades keemiseni. Aurustumise vältimiseks katta keeduklaas uuriklaasiga. Keeta viis minutit, jahutada keeduklaas toatemperatuurini.

5.1.3. Lisada 10 ml atsetooni (3.3), panna lahusesse elektroodid (4.3 ja 4.4) ja alustada segamist. Tiitrida potentsiomeetriliselt 0,1 M hõbenitraadi lahusega (3.4) ja joonistada tiitrimiskõver tiitrimise lõpp-punkti leidmiseks (V ml).

6. Arvutused

Kloori sisaldus proovis P_{Cl} (massiprotsendina) leida järgmise valemi järgi:

$P_{Cl} = 0,3545 \times V / m$, kus:

m –analüüsiks võetud katsekogus (5.1.1), g;

V –tiitrimiseks (5.1.3) kulunud hõbenitraadi lahuse maht, ml.

7. Korratavus

4%-lise kloori sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,10%

E. ALUMIINIUMI- JA TSIRKOONIUMIAATOMITE SUHTE NING ALUMIINIUMI- JA TSIRKOONIUMIAATOMITE SUMMA JA KLOORIAATOMITE SUHTE LEIDMINE

1. Alumiiniumi- ja tsirkooniumiaatomite suhte leidmine

Nimetatud suhe leida järgmise valemi järgi:

$Al : Zr = P_{Al} \times 91,22 / P_{Zr} \times 26,98.$

2. Alumiiniumi- ja tsirkooniumiaatomite summa ja klooriaatomite suhte leidmine

Nimetatud suhe leida järgmise valemi järgi:

$(Al + Zr) : Cl = (P_{Al} \cdot 26,98 + P_{Zr} \cdot 91,22) / P_{Cl} \cdot 35,45.$

* Käesolevas lisis on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 36
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

HEKSAMIDIINI, DIBROOMHEKSAMIDIINI, DIBROOMPROPAMIDIINI JA KLOORHEKSIDIINI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

1. KASUTUSALA

Käesolev meetod kirjeldab järgmiste ühendite kvalitatiivset ja kvantitatiivset määramist kosmeetikatoodetes:

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

- heksamidiin ja tema soolad, kaasa arvatud isotonaat ja 4-hüdroksübensoaat;
- dibroomheksamidiin ja tema soolad, kaasa arvatud isotonaat;
- dibroompropamidiin ja tema soolad, kaasa arvatud isotonaat;
- kloorheksidiindiatsetaat, diglükonaat ja dihüdrikloriid.

2. NÄITAJA ÜHIK

Käesoleva meetodiga määratud heksamidiini, dibroomheksamidiini, dibroompropamidiini ja kloorheksidiini sisaldus tootes väljendatakse massiprotsendina.

3. MEETODI PÕHIMÕTE

Rakendusalas loetletud ained lahutatakse vedelikkromatograafiliselt, kasutades ionipaar-pöördfaasi kolonni ja UV-detektorit.

Heksamidiin, dibroomheksamidiin, dibroompropamidiin ja kloorheksidiin identifitseeritakse nende retensiooniaegade järgi.

4. REAKTIIVID

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajadusel vastama *HPLC grade*le.

4.1. Metanool

4.2. 1-heptaansulfoonhappe naatriumisool, monohüdraat

4.3. Kontsentreeritud äädikhape, $d_{20} = 1,05$ g/ml

4.4. Naatriumkloriid

4.5. Liikuvad faasid:

4.5.1. Lahusti I: 0,005 M 1-heptaansulfoonhappe naatriumisoola (4.2) lahus metanoolis (4.1), pH reguleerida 3,5-ni kontsentreeritud äädikhappega (4.3).

4.5.2. Lahusti II: 0,005 M 1-heptaansulfoonhappe naatriumisoola (4.2) vesilahus, pH reguleerida 3,5-ni kontsentreeritud äädikhappega (4.3).

Märkus. Kui on vaja korrigeerida piigi kuju, siis võib liikuva faasi koostist muuta järmsel:

µlahusti I: lahustada 5,84 g naatriumkloriidi (4.4) ja 1,1013 g 1-heptaansulfoonhappe naatriumisoola (4.2) 100 ml vees. Lisada 900 ml metanooli (4.1). pH reguleerida 3,5-ni kontsentreeritud äädikhappega (4.3);

μlahusti II: lahustada 5,84 g naatriumkloriidi (4.4) ja 1,1013 g 1-heptaansulfoonhappe naatriumisoola (4.2) 1 l vees, pH reguleerida 3,5-ni kontsentreeritud äädikhappega (4.3).

4.6. Heksamidiindiisotonaat [C₂₀H₂₆N₄O₂x 2C₂H₆O₄S]

4.7. Dibroomheksamidiindiisotonaat [C₂₀H₂₄Br₂N₄O₂x 2C₂H₆O₄S]

4.8. Dibroompropamidiindiisotonaat [C₁₇H₁₈Br₂N₄O₂x 2C₂H₆O₄S]

4.9. Kloorheksidiindiatsetaat [C₂₂H₃₀Cl₂N₁₀x 2C₂H₄O₂]

4.10. Standardlahused: igast neljast säilitusainest (4.6– 4.9) valmistada lahustiga I (4.5.1) lahus kontsentratsiooniga 0,5 g/l,

4.11. 3,4,4'-triklorokarbaniliid (triklokarbaan)

4.12. 4,4'-dikloro-3-(trifluorometüül)karbaniliid (halokarbaan).

5. APARATUUR

5.1. Standardne labori sisseade

5.2. Kõrgefektiivne vedelikkromatograaf UV-detektoriga

5.3. Analüütiline kolonn: roostevabast terasest, pikkus 30 cm, sisediaameeter 4 mm, täidis *μ-Bondapak C₁₈*, 10 μm või midagi samaväärset.

5.4. Ultrahelivann.

6. IDENTIFITSEERIMINE

6.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda ligikaudu 0,5 g proovi 10-ml mõõtekolbi, täita kolb lahustiga I (4.5.1) märgini. Asetada kolb kümneks minutiks ultrahelivanni (5.4). Lahus filtreerida või tsentrifuugida. Saadud supernatanti või filtraati kasutatakse kromatografeerimiseks.

6.2. Kromatograafia

6.2.1. Liikuva faasi gradiendi programm

Aeg, min	Lahusti I % v/v (4.5.1)	Lahusti II % v/v (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Liikuva faasi (6.2.1) voolukiirus on 1,5 ml/min ja kolonni temperatuur 35 °C.

6.2.3. Detektori lainepikkus: 264 nm.

6.2.4. Süstida 10 μl iga standardlahust (4.10) ja kirjutada üles nende kromatogrammid.

6.2.5. Süstida 10 μl proovilahust (6.1) ja kirjutada üles kromatogramm.

6.3. Identifitseerida piikide retensiooniaegade (6.2.4 ja 6.2.5) võrdluse alusel, kas proovilahus sisaldab heksamidiini, dibroomheksamidiini, dibroompropamidiini või kloorheksidiini.

7. MÄÄRAMINE

7.1. Määramine

Kasutada ühte säilitusainetest (4.6– 4.9), mida lahuses ei leidu, sisestandardina. Kui see pole võimalik, siis võib kasutada sisestandardina triklokarbaani (4.11) või halokarbaani (4.12).

7.1.1. Võtta iga punktis (6.3) kindlakstehtud säilitusaine põhistandardlahus 0,5 g/l lahustis I (4.5.1).

7.1.2. Võtta sisestandardiks valitud säilitusaine põhistandardlahus: 0,5 g/l lahustis I (4.5.1).

7.1.3. Iga identifitseeritud säilitusaine jaoks teha neli standardlahust. Selleks pipeteerida 10-ml mõõtekolbidesse identifitseeritud säilitusaine põhistandardlahust (7.1.1) ja sisestandardi põhilahust (7.1.2) vastavalt alljärgnevas tabelis toodud hulkades. Täita iga kolb lahustiga I (4.5.1) märgini ja segada.

Standardlahus	Sisestandardi põhilahus ml (7.1.2)	Identifitseeritud säilitusaine põhistandardlahus ml (7.1.1)	µl/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

* Siin toodud väärtused on antud näitena ja vastavad standardlahusele, mis sisaldab täpselt 0,5 g/l identifitseeritud säilitusainet.

7.2. Proovi ettevalmistamine

7.2.1. Kaaluda täpsusega 0,1 mg ligikaudu 0,5 g proovi (m grammi) 10-ml mõõtekolbi, lisada 1,0 ml sisestandardi (7.1.2) ja 6 ml lahustit I (4.5.1) ja segada.

7.2.2. Asetada kolb kümneks minutiks ultrahelivanni (5.4). Jahutada. Täita kolb märgini lahustiga I ja segada. Lahus filtreerida läbi kurdfiltrit või tsentrifuugida. Saadud supernatanti või filtraati kasutada kromatograferimisel.

7.3. Kromatograafia

7.3.1. Reguleerida liikuva faasi gradient, voolukiirus, kolonni temperatuur ja detektori lainepikkus vastavalt punktides 6.2.1– 6.2.3 antud tingimustele.

7.3.2. Süstida 10 µl proovilahust (7.2.2) ja mõõta piigi pindala. Korrata määramisi, kuni saadakse kokkulangevad tulemused. Leida identifitseeritud säilitusaine piigi pindala ja sisestandardi piigi pindalade suhe.

7.4. Kalibreerimine

7.4.1. Süstida 10 µl iga standardlahust (7.1.3) ja mõõta piikide pindalad.

7.4.2. Iga standardlahuse jaoks leida heksamidiini, dibroomheksamidiini, dibroompropamidiini või kloorheksidiini piigi pindala suhe sisestandardi piigi pindalasse. Joonistada kalibreerimisgraafik, kandes ordinaatteljele leitud suhted ja abstsissiteljele neile vastava säilitusaine sisalduse standardlahuses (µg/ml).

7.4.3. Kalibreerimisgraafiku (7.4.2) järgi leida identifitseeritud säilitusaine sisaldus punktis 7.3.2 saadud piikide pindade suhte alusel.

8. ARVUTUSED

8.1. Heksamidiini, dibroomheksamidiini, dibroompropamidiini või kloorheksidiini sisaldus proovis P (massiprotsedina) leida järgmise valemi järgi:

$P = c / 1000 \times p \times MW_1 / MW_2$, kus:

p –katsekoguse mass (7.2.1), g;

c –kalibreerimisgraafiku järgi leitud säilitusaine kontsentratsioon proovis, µg/ml;

MW_1 –leitud säilitusaine põhivormi molekulaarmass;

MW_2 –vastava soola molekulaarmass (vt punkti 10).

9. KORRATAVUS

0,1%-lise heksamidiini, dibroomheksamidiini, dibroompropamidiini või kloorheksidiini sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,005.

10. MOLEKULAARMASSID

Heksamidiin	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Heksamidiini diisetonaat	$C_{20}H_{26}N_4O_2-2C_2H_6O_4S$	606,72
Heksamidiini di-p-hüdroksübensoaat	$C_{20}H_{26}N_4O_2-2C_7H_6O_3$	630,71
Dibroomheksamidiin	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Dibroomheksamidiindiisetonaat	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2-2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibroompropamidiin	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Dibroompropamidiindiisetonaat	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2-2C_2H_6O_4S$	722,43
Kloorheksidiin	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Kloorheksidiindiatsetaat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}-2C_2H_4O_2$	625,56
Kloorheksidiindiglükonaat	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}-2C_6H_{12}O_7$	897,76
Kloorheksidiindihüdrokloriid	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}-2HCl$	578,37

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 93/73/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 37
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

BENSOEHAPPE, 4-HÜDROKSÜBENSOEHAPPE, SORBIINHAPPE, SALITSÜÜLHAPPE JA PROPIOONHAPPE IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES*

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

1. Kasutusala

Käesolev meetod sobib bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbiinhappe, salitsüülhappe ja propioonhappe identifitseerimiseks ja määramiseks kosmeetikatoodes. Eraldi on toodud nende säilitusainete identifitseerimis-, propioonhappe määramis- ja 4-hüdroksübensoehappe, sorbiinhappe, salitsüülhappe ja bensoehappe määramismeetodid.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbiinhappe, salitsüülhappe ja propioonhappe sisaldus tootes väljendatakse vabade hapete massiprotsendina.

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Meetodi põhimõte

Pärast säilitusainete happelist või aluselist ekstraheerimist analüüsitakse ekstrakt õhekihikromatograafia (ÖKK) abil, kasutades *on-date* derivatsiooni. Olenevalt saadud tulemustest viia järgnev kvantitatiivne määramine läbi kas kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) või gaasikromatograafia (GC) abil.

2. Reaktiivid

2.1. Üldnõuded

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad. Kasutatav vesi peab olema bidestilleeritud või samaväärne.

2.2. Atsetoon

2.3. Dietüüleeter

2.4. Atsetonitriil

2.5. Tolueen

2.6. n-heksaan

2.7. Vedel parafiin

2.8. 4 M soolhape

2.9. Kaaliumhüdroksiidi 4 M vesilahus

2.10. Kaltsiumkloriid, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

2.11. Liitiumkarbonaat, Li_2CO_3

2.12. 2-bromo-2'-atsetonaftoon

2.13. 4-hüdroksübensoehape

2.14. Salitsüülhape

2.15. Bensoehape

2.16. Sorbiinhape

2.17. Propioonhape

2.18. Standardlahused: 1 g/l: valmistada viie säilitusaine (2.1–2.17) standardlahused, lahustades vajaliku koguse standardainet dietüületris.

2.19. Derivatiseerimisreaktiiv: 50 mg 2-bromo-2'-atsetonaftooni (2.12) lahustada 10 ml atsetonitriilis (2.4). See lahus säilib nädal aega külmkapis.

2.20. Katalüsaatori lahus: 3 g/l: lahustada 300 mg liitiumkarbonaati (2.11) 100 ml vees. Kasutada värskestvalmistatud lahust.

2.21. Eluent: toluen (2.5), atsetoon (2.2) (mahulises vahekorras 20:0,5).

2.22. Vedel parafiin (2.7), n-heksaan (2.6) (mahulises vahekorras 1:2).

3. Aparatuur

Standardne labori sisseseade

3.1. Veevann, 60 °C

3.2. Kromatograafiatank

3.3. UV-lamp lainepikkusega 254 ja 366 nm

3.4. ÖKK-plaadid, *Kieselgel 60* fluorestsentsindikaatorita, 20–20 cm, kihi paksus 0,25 mm, kontsentreerimistsooniga 2,5 x 20 cm (*Merck 11845* või samaväärne)

3.5. Mikrosüstal, 10 µl

3.6. Mikrosüstal, 25 µl

3.7. Kuivatusahi, 105 °C

3.8. Keeratavate korkidega 50-ml klaasist katseklaasid

3.9. Filterpaber, diameeter 90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband No 5892* või samaväärne

3.10. Universaalne indikaatorpaber, pH 1–11

3.11. 5-ml klaaspudelid

3.12. Rotatsioonauruti

3.13. Pliit

4. Analüüsi käik

4.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda umbes 1 g proovi 50-ml katseklaasi (3.8). Lisada neli tilka 4 M soolhapet (2.8) ja 40 ml atsetooni (2.2). Tugevalt aluseliste toodete nagu tualettseep korral lisada 20 tilka 4 M soolhapet (2.8). Kontrollida indikaatorpaberiga (3.10), et pH oleks ligikaudu 2. Sulgeda katseklaas ja loksutada tugevasti üks minut.

Säilitusaine atsetooni ekstraheerumise kergendamiseks võib vajaduse korral katseklaasi sisu proovi sulatamiseks kergelt soojendada umbes 60 °C juures.

Jahutada lahus toatemperatuurini ja filtreerida läbi paberfiltri (3.9) koonilisse kolbi.

Valada 20 ml filtraati 200-ml koonilisse kolbi, lisada 20 ml vett ja segada. 4 M kaaliumhüdroksiidiga (2.9) viia segu pH ligikaudu 10-ni indikaatorpaberi (3.10) järgi.

Lisada 1 g kaltsiumkloriidi (2.10) ja loksutada tugevasti. Filtreerida läbi paberfiltri (3.9) 250-ml jaotuslehtrisse, milles on 75 ml dietüületrit ja loksutada tugevasti üks minut. Lasta vedelikel kihistuda ja eraldada vee kiht 250-ml koonilisse kolbi, eetrikiht visata ära. 4 M soolhappega (2.8) viia vesilahuse pH ligikaudu 2-ni indikaatorpaberi (3.10) järgi. Lisada 10 ml dietüületrit (2.3), sulgeda kolb ja loksutada tugevasti üks minut, lasta vedelikel kihistuda ja viia eetrikiht rotaatoraurutisse (3.12). Veeikiht visata minema.

Aurutada eetrikiht peaaegu kuivaks ja lahustada jääk 1 ml dietüületris (2.3). Kanda lahus üle klaaspudelisse (3.11).

4.2. Õhekihikromatograafia

Iga kromatografeeritava standardi ja proovi kohta võtta ligikaudu 3 µl liitiumkarbonaadi lahust (2.20) ja kanda see mikrosüstlaga (3.5) võrdsete vahedega ÖKK-plaadi kontsentratsioonitsooni stardijoonele. Kuivatada külma õhu joaga.

Panna ÕKK-plaat 40 °C-ni soojendatud pliidile (3.13), et hoida laigud nii väikesed kui võimalik. Mikrosüstlaga (3.5.) kanda 10 µl iga standardilahust (2.18.) ja proovilahust (4.1) plaadi stardijoonele, täpselt samale kohale, kuhu oli kantud liitiumkarbonaadi lahus.

Lõpuks kanda täpselt samale kohale, kuhu on eelnevalt kantud standardi- või proovilahused ja liitiumkarbonaadi lahus, 15 µl derivatiseerimisreaktiivi (2.19).

Kuumutada ÕKK-plaati ahjus (3.7) 80 °C juures 45 minutit. Jahutada ja elueerida plaat kromatograafiatankis (3.2), mida on eelnevalt eluendi (2.21) aurudega 15 minutit küllastatud (filterpaberi vooderduseta). Lasta eluendi frondil tõusta 15 cm kõrgusele (selleks kulub umbes 80 minutit).

Jahutada plaat külma õhu vooluga ja vaadelda laike UV-valguses (3.3). Selleks et tugevdada nõrkade laikude fluorestseerumist, võib plaadid kasta vedelasse parafiini-heksaani segusse (2.2).

5. Identifitseerimine

Leida iga laigu R_f. Võrrelda standardlahuste ja proovilahuse laikude käitumist UV-valguses ja nende R_f väärtusi. Teha esialgne järeldus tootes oleva säilitusaine kohta. Edasi määrata säilitusaine sisaldus kas vedelikkromatograafiliselt, nagu on kirjeldatud B või C osas toodud gaasikromatograafilise meetodi abil (propioonhappe korral).

Lõplik otsus säilitusaine ja tema sisalduse kohta tootes tehakse nii ÕKK kui HPLC (või GC) saadud tulemuste põhjal.

B. BENSOEHAPPE, 4-HÜDROKSÜBENSOEHAPPE, SORBIINHAPPE JA SALITSÜÜLHAPPE MÄÄRAMINE

1. Meetodi põhimõte

Pärast hapustamist ekstraheerida proovi etanooli ja vee seguga. Säilitusaine sisaldus filtraadis määrata kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil.

2. Reaktiivid

2.1. Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vastama vajadusel HPLC grade'le. Vesi peab olema bidestillieeritud või vähemalt samaväärne.

2.2. 96% etanool

2.3. 4-hüdroksübensoehape

2.4. Salitsüülhape

2.5. Bensoehape

2.6. Sorbiinhape

2.7. Naatriumatsetaat, CH₃COONa x 3H₂O

2.8. Äädikhape, d₄²⁰ = 1,05 g/ml

2.9. Atsetonitriil

2.10. 0,2 M väävelhappe vesilahus

2.11. 0,2 M kaaliumhüdroksiidi vesilahus

2.12. 2-metoksübensoehape

2.13. Etanooli segu veega: 9 osa etanooli (2.2) segada 1 osa veega (2.1)

2.14. Sisestandardi lahus:

Valmistada täpselt kaalutud 2-metoksübensoehappest (2.12) lahus, mis sisaldab umbes 2 g/l 2-metoksübensoehapet (2.12) etanooli-vee segus (2.13).

2.15. HPLC liikuv faas

2.15.1. Atsetaatpuhver: 1 l veele lisada 6,35 g naatriumatsetaati (2.7) ja 20,0 ml äädikhapet (2.8), segada.

2.15.2. Valmistada liikuv faas, segades 9 osa atsetaathapet (2.15.1) ja 1 osa atsetonitriili (2.9).

2.16. Säilitusaine põhilahus

Kaaluda täpsusega 0,1 mg ligikaudu 50 mg 4-hüdroksübensoehapet (2.3), 200 mg salitsüülhapet (2.4), 200 mg bensoehapet (2.5) ja 50 mg sorbiinhapet (2.6) 50-ml mõõtekolbi ja täita kolb etanooli-vee seguga (2.13) määrgini. Hoida lahust külmkapis. Lahust võib kasutada ühe nädala.

2.17. Säilitusainete standardlahused

Pipeteerida viide 20-ml mõõtekolbi 8; 4; 2; 1 ja 0,5 ml põhilahust (2.16). Igasse kolbi pipeteerida 10 ml sisestandardi lahust (2.14) ja 0,5 ml 2 M väävelhappe lahust (2.10). Täita kolvid etanooli-vee seguga (2.13) määrgini. Töös kasutada värskestvalmistatud lahust.

3. Aparatuur

Standardne labori sisseseade

3.1. Veevann, 60 °C

3.2. HPLC-kromatograaf UV-detektoriga ja 10-µl sissesüstimisilmsusega

3.3. Analüütiline kolonn:

Roostevaba teras, pikkus –12,5– 25 cm, sisediameeter –4,6 mm, täidis –*Nucleosil 5 C18* või midagi samaväärset

3.4. Filterpaber, diameeter –90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband No 5892* või samaväärsed

3.5. Keeratavate korkidega 50-ml katseklaasid

3.6. 5-ml klaaspudelid

3.7. Karborundist keedukivikesed, suurusega 2– 4 mm või samaväärsed

4. Analüüsi käik

4.1. Proovi ettevalmistamine

4.1.1. Proovi ettevalmistamine sisestandardi lisamiseta

Kaaluda 1 g proovi 50-ml keeratava korgiga katseklaasi (3.5). Pipeteerida katseklaasi 1 ml 2 M väävelhapet (2.10) ja 40 ml etanooli-vee segu (2.13). Lisada ligikaudu 1 g keedukivikesi (3.7). Sulgeda katseklaasid ja loksutada tugevasti vähemalt üks minut, kuni moodustub homogeenne suspensioon. Säilitusainete etanooliga ekstraheerimise hõlbustamiseks asetada katseklaas täpselt viieks minutiks 60 °C veevanni (3.1).

Jahutada katseklaas kohe külma veega ja hoida katseklaasi üks tund 5 °C juures.

Filtreerida katseklaasi sisu läbi paberfiltri (3.4). Pipeteerida umbes 2 ml filtraati klaaspudelis (3.6). Hoida filtraati 5 °C juures ja kasutada seda HPLC-kromatograafias 24 tunni jooksul.

4.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardi lisamisega

Kaaluda 50-ml keeratava korgiga katseklaasi (3.5) 1– 0,1 g proovi (a grammi) täpsusega 1 mg. Pipeteerida sinna 1 ml 2 M väävelhapet (2.10) ja 30 ml etanooli-vee segu (2.13). Lisada umbes 1 g keedukivikesi (3.7) ja pipeteerida 10 ml sisestandardit (2.14). Sulgeda katseklaasid ja loksutada tugevasti vähemalt üks minut, kuni moodustub homogeenne suspensioon. Säilitusainete etanooliga ekstraheerimise hõlbustamiseks asetada katseklaas täpselt viieks minutiks 60 °C veevanni (3.1).

Jahutada katseklaas kohe külma veega ja hoida katseklaasi üks tund 5 °C juures.

Filtreerida katseklaasi sisu läbi paberfiltri (3.4). Pipeteerida umbes 2 ml filtraati klaaspudelis (3.6). Hoida filtraati 5 °C juures ja kasutada seda HPLC-kromatograafias 24 tunni jooksul.

4.2. Kõrgefektivne vedelikkromatograafia

Liikuv faas: atsetonitriil-atsetaathapet (2.15)

Liikuva faasi voolukiirus: 2,0– 0,5 ml/min ja detektori lainepikkus 240 nm.

4.2.1. Kalibreerimine

Süstida 10 µl iga standardlahust (2.17) kromatograafi (3.2). Iga lahuse kohta leida kromatogrammi järgi uuritava säilitusaine piigi ja sisestandardi piigi kõrguste suhe. Joonistada kalibreerimisgraafik leitud suhte ja sellele vastava standardlahuse kontsentratsiooni alusel. Veenduda, ettsaadusõltuvus on lineaarne.

4.2.2. Määramine

Süstida 10 µl punkti 4.1.1 järgi saadud lahust kromatograafi (3.2). Süstida 10 µl säilitusaine standardlahust (2.17). Võrrelda saadud kromatogramme. Juhul kui prooviekstrakti kromatogrammil ei ole piike, mille retensiooniaeg oleks ligilähedane soovitud sisestandardi 2-metoksübensoehappe retensioonijaga, siis süstida kromatograafi 10 µl proovilahust, millele on lisatud sisestandard (4.1.2).

Kui kromatogrammi järgi on näha, et lahuses (4.1.1) esineb segavaid aineid, mille retensiooniaeg on ligilähedane 2-metoksübensoehappe retensioonijale, valida mõni muu sisestandard. (Kui eelnevate analüüside käigus on selgunud, et mõni säilitusainetest tootes puudub, siis võib sisestandardina kasutada seda ainet.)

Veenduda, et standardlahuse ja proovilahuse kromatogrammid vastavad järgmistele nõuetele:

– piikide eraldatus ei tohi olla väiksem kui 0,90 (vt joon 1). Kui piikide eraldatus on väiksem nõutust, tuleb kasutada efektiivsemat kolonni või tuleb muuta liikuva faasi koostist, kuni nõutud lahutusvõime on saavutatud.

(v.t. RTL 2000, 22, 302)

Joonis 1. Piikide eraldamine

– kõikide piikide asümmeetriafaktor A_s peab olema 0,9 ja 1,5 vahel (vt joon 2). Asümmeetriafaktori määramisel peaks isekirjuti lindi liikumiskiirus olema vähemalt 2 cm/min;
– nulljoon peab olema püsiv.

(v.t. RTL 2000, 22, 302)

Joonis 2. Piigi asümmeetriafaktor

5. Arvutused

Analüüsitava säilitusaine piigi ja sisestandardi 2-metoksübensoehappe piikide kõrguste suhte järgi leitakse kalibreerimisgraafikult happelise säilitusaine sisaldus proovis. Bensoehappe, 4-hüdroksübensoehappe, sorbiinhappe ja salitsüülhappe sisaldus tootes P, väljendatuna massiprotsendina, leida järgmise valemi järgi:

$P = 100 \times 20 \times b / 10^6 \times a = b / 500 \times a$, kus:

a – katsekoguse (4.1.2) mass, g;

b – kalibreerimisgraafiku järgi leitud säilitusaine sisaldus proovis (4.1.2), µg/ml.

6. Korratavus

0,40%-lise 4-hüdroksübensoehappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,035%.

0,50%-lise bensoehappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,050%.

0,50%-lise salitsüülhappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,045%.

0,60%-lise hüdroksübensoehappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,035%.

7. Märkused

7.1. Meetodi katsetused kõrvalmõjudele on näidanud, et ekstraheerimiseks võetava proovi koguse ja väävelhappe omavaheline vahekord on väga oluline ja seepärast tuleb kindlasti kinni pidada meetodis antud selle suhte väärtustest.

7.2. Soovitav on kasutada sobivat eelkolonni.

C. PROPIOONHAPPE MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod sobib propioonhappe määramiseks kosmeetikatoodes, juhul kui propioonhappe kontsentratsioon tootes ei ületa 2%.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud propioonhappe sisaldus väljendatakse tema massiprotsendina tootes.

3. Meetodi põhimõte

Tootest ekstraheeritud propioonhape määratakse gaasikromatograafiliselt, kasutades sisestandardina 2-metüülpropioonhapet.

4. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad; vesi peab olema destilleeritud või samaväärne.

4.1. 96% (v/v) etanool

4.2. Propioonhape

4.3. 2-metüülpropioonhape

4.4. Ortofosforhape, 100 g/l

4.5. Propioonhappe lahus:

Kaaluda täpsusega 1 mg umbes 1 g (p grammi) propioonhapet 50-ml mõõtekolbi ja täita kolb etanooliga (4.1) märgini.

4.6. Sisestandardi lahus:

Kaaluda täpsusega 1 mg umbes 1 g (e grammi) 2-metüülpropioonhapet 50-ml mõõtekolbi ja täita kolb etanooliga (4.1) märgini.

5. Aparatuur

5.1. Standardne labori sisseseade

5.2. Gaasikromatograaf leekionisatsioonidetektoriga

5.3. Keeratavate korkidega katseklaasid (20– 150 mm)

5.4. Veevann

5.5. 10-ml membraanfiltriga (poori läbimõõt 0,45 µm) klaassüstal.

6. Analüüsi käik

6.1. Proovi ettevalmistamine

6.1.1. Proovi ettevalmistamine sisestandardit kasutamata

Kaaluda katseklaasi (5.3) umbes 1 g proovi. Lisada 0,5 ml fosforhapet (4.4) ja 9,5 ml etanooli (4.1).

Sulgeda katseklaas ja loksutada tugevasti. Vajadusel kuumutada katseklaasi veevannil (5.4) 60 °C juures viis minutit, et lipiidfaasi täielikult lahustada. Jahutada kiiresti jooksva vee all. Filtreerida analüüsiks vajalik kogus läbi membraanfiltriga (5.5) ja kromatografeerida samal päeval.

6.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardi lisamisega

Kaaluda katseklaasi (5.3) 1– 0,1 g proovi (a grammi) täpsusega 1 mg. Lisada 0,5 ml fosforhapet (4.4), 0,50 ml sisestandardi (4.6) ja 9 ml etanooli (4.1).

Sulgeda katseklaas ja loksutada tugevasti. Vajadusel kuumutada katseklaasi veevannil (5.4) 60 °C juures viis minutit, et lipiidfaasi täielikult lahustada. Jahutada kiiresti jooksva vee all. Filtreerida analüüsiks vajalik kogus läbi membraanfiltriga (5.5) ja kromatografeerida samal päeval.

6.1.3. Gaasikromatograafia tingimused

Soovitavad tingimused:

Kolonn: roostevaba teras, pikkus –2 m, diameeter –0,3 mm, täidis –10% *SPTM1000* (või samaväärne) + 1% *H₃PO₄Chromosorb WAW*µl, 100– 120 mesh'i.

Temperatuurid:

aurusti –200 °C;

termostaat –120 °C;

detektor –200 °C,

kandegaasi voolukiirus –25 ml/min.

6.3. Kromatograafia

6.3.1. Kalibreerimine

Pipeteerida viide 20-ml mõõtekolbi 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 ja 4,00 ml propioonhappe lahust (4.5). Igasse mõõtekolbi pipeteerida 1,00 ml sisestandardi lahust (4.6), täita kolvid etanooliga (4.1) märgini ja segada.

Sellisel valmistatud lahused sisaldavad sisestandardina e mg/ml 2-metüülpropioonhapet (juhul kui e = 1000, siis 1 mg/ml) ja p/4, p/2, p, 2p, 4p mg/ml propioonhapet (juhul kui p = 1000, siis on kontsentratsioonid vastavalt 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 ja 4,00 mg/ml).

Süstida 1 µl iga standardlahust kromatograafi. Joonistada kalibreerimisgraafik, kandes x-teljele propioonhappe ja 2-metüülpropioonhappe masside suhte standardlahuses ja y-teljele nende vastavate piikide pindalade suhte.

Määramist korrata vähemalt kolm korda ja leida keskmine piikide pindalade suhe.

6.3.2. Määramine

Süstida 1 µl prooviekstrakti (6.1.1) kromatograafi (3.2) ja korrata sama standardlahusega (6.3.1). Võrrelda saadud kromatogramme. Juhul kui prooviekstrakti kromatogrammil on piik, mille retensiooniaeg on ligilähedane 2-metüülpropioonhappe omale, tuleb valida uus sisestandard. Juhul kui ei ole leitud segavaid tegureid, süstida 1 µl sisestandardiga proovilahust (6.1.2) ja mõõta propioonhappe ja sisestandardi piikide pindalad.

Määramist korrata vähemalt kolm korda ja leida keskmine piikide pindalade suhe.

7. Arvutused

7.1. Kalibreerimisgraafiku (6.3.1) järgi leida masside suhe (K), mis vastab punktis (6.3.2) leitud piikide pindala suhtele.

7.2. Leitud masside suhte alusel arvutada propioonhappe sisaldus proovis P (massiprotsendina) järgmise valemi järgi:

$P = K \times (0,5 \times 100 \times e / 50 \times a) = K \times e / a$, kus:

K –punktis 7.1 leitud suhe;

e –sisestandardi mass (4.6), g;

a –katsekoguse mass (6.1.2), g.

Tulemus väljendada ühe kümnendiku täpsusega.

8. Korratavus

2%-lise propioonhappe sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,12%.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 95/32/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

Lisa 38
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a
määruse nr 91 juurde

HÜDROKINOONI, HÜDROKINOONMONOMETÜÜLEETRI, HÜDROKINOONMONOETÜÜLEETRI JA HÜDROKINOONMONOBENSÜÜLEETRI IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE*

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Rakendusala

Käesolev meetod kirjeldab hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüüleetri, hüdrokinoonmonoetüüleetri ja hüdrokinoonmonobensüüleetri identifitseerimist ja määramist nahka pleegitavates kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Hüdrokinoon ja tema eetrid identifitseeritakse õhekihikromatograafia (ÕKK) abil.

3. Reaktiivid

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad.

3.1. 96% (v/v) etanool

- 3.2. Kloroform
- 3.3. Dietüüleeter
- 3.4. Eluent: kloroform, dietüüleeter (mahulises vahekorras 66:33)
- 3.5. Ammoniaagi lahus, 25% (m/m), $d_{4}^{20} = 0,91$ g/ml
- 3.6. Askorbiinhape
- 3.7. Hüdrokinoon
- 3.8. Hüdrokinoonmonometüüleeter
- 3.9. Hüdrokinoonmonoetüüleeter
- 3.10. Hüdrokinoonmonobensüüleeter

3.11. Standardlahused:

Standardlahuseid kasutada ühe ööpäeva jooksul pärast valmistamist.

- 3.11.1. Kaaluda 0,05 g hüdrokiniini (3.7) 10-ml gradueeritud katseklaasi. Lisada 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisada ammoniaagilahust (3.5), kuni pH on 10 ja täita katseklaas etanooliga 10 ml-ni (3.1).
- 3.11.2. Kaaluda 0,05 g hüdrokinoonmonometüületrit (3.8) 10-ml gradueeritud katseklaasi. Lisada 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisada ammoniaagilahust (3.5), kuni pH on 10 ja täita katseklaas etanooliga 10 ml-ni (3.1).
- 3.11.3. Kaaluda 0,05 g hüdrokinoonmonoetüületrit (3.9) 10-ml gradueeritud katseklaasi. Lisada 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisada ammoniaagilahust (3.5), kuni pH on 10 ja täita katseklaas etanooliga 10 ml-ni (3.1).
- 3.11.4. Kaaluda 0,05 g hüdrokinoonmonobensüületrit (3.10) 10-ml gradueeritud katseklaasi. Lisada 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Lisada ammoniaagilahust (3.5), kuni pH on 10 ja täita katseklaas etanooliga 10 ml-ni (3.1).

- 3.12. Hõbenitraat
- 3.13. 12-molübdofosforhape
- 3.14. Kaaliumraud(III)tsüaniidheksahüdraat
- 3.15. Raudkloriidheksahüdraat

3.16. Ilmuti:

3.16.1. Hõbenitraadi (3.12) vesilahusele (50 g/l) lisada ammoniaagilahust (3.5), kuni moodustunud sade on lahustunud.

NB! Lahus muutub seismisel plahvatusohtlikuks ja see tuleb kohe pärast kasutamist minema visata.

3.16.2. 12-molübdofosforhappe (3.13) lahus etanoolis (3.1), 100g/l.

3.16.3. Valmistada kaaliumraudtsüaniidi (3.14) vesilahus (10 g/l) ja raudkloriidi (3.15) vesilahus (20 g/l). Enne kasutamist segada need lahused vahekorras 1:1.

4. Aparatuur

Standardne labori sisseseade.

- 4.1. Tavalised ÕKK vahendid
- 4.2. ÕKK plaadid: silikageel GHR/UV₂₅₄; 20–20 cm (*Machery, Nagel* või midagi samaväärset), kihi paksus 0,25 mm
- 4.3. Ultrahelivann
- 4.4. Tsentrifuug
- 4.5. UV-lamp, 254 nm

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 3,0 g proovi 10-ml gradueeritud katseklaasi. Lisada 0,250 g askorbiinhapet (3.6) ja 5 ml etanooli (3.1). Ammoniaagiga (3.5) viia lahuse pH 10-ni. Täita katseklaas 10 ml-ni etanooliga (3.1). Sulgeda katseklaas korgiga ja homogeniseerida ultrahelivannis kümme minutit. Filtreerida läbi paberfiltri või tsentrifuugida kiirusega 3000 pööret/min.

5.2. ÕKK

5.2.1. Küllastada kromatograafiatank eluendi (3.4) aurudega.

5.2.2. Kanda plaadile 2 µl standardlahust (3.11) ja 2 µl proovilahust (5.1). Elueerida pimedas ja toatemperatuuril, kuni eluendi front on tõusnud 15 cm kõrgusele stardijoonest.

5.2.3. Kuivatada plaat toatemperatuuril.

5.3. Määramine

5.3.1. Uurida plaati UV-valguses 254 nm lainepikkuse juures ja märkida pliiatsiga laikude asukohad.

5.3.2. Pritsida plaati:

- hõbenitraadi reaktiiviga (3,6,1), või
- 12-molübdofosforhappe reaktiiviga (3.16.2), kuumutades 120 °C juures, või
- kaaliumraudtsüaniidi ja raudkloriidi lahusega (3.16.3).

6. Identifitseerimine

Leida iga laigu Rf.

Võrrelda proovilahuse ja standardlahuse laike, võttes arvesse Rf väärtusi, laikude värvust UV-valguses ja pärast pritsimist ilmutiga.

Pärast vedelikkromatograafiat (vaata B osa) võrreldakse proovilahuse ja standardlahuste piikide retensiooniaegu.

Lõplik otsus hüdrokiinoni ja/või tema eetrite esinemise kohta tootes tehakse, võttes arvesse nii ÕKK kui ka *HPLC* -kromatograafia tulemusi.

7. Märkused

Ülalkirjeldatud tingimuste korral saadakse järgmised Rf väärtused:

hüdrokiinon	0,32;
hüdrokiinonmonometüüleeter	0,53;
hüdrokiinonmonoetüüleeter	0,55;
hüdrokiinonmonobensüüleeter	0,58.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab hüdrokiinoni, hüdrokiinonmonometüüleetri, hüdrokiinonmonoetüüleetri ja hüdrokiinonmonobensüüleetri määramist nahka pleegitavates kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Meetodi põhimõte

Proov ekstraheeritakse vee-metanooli seguga, kuumutades seda kergelt, et lipiidid paremini sulaksid. Uuritavad ained määrata vedelikkromatograafia, millel on pöördfaasi kolonn ja UV-detektor.

3. Reaktiivid

3.1. Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad või vajadusel *HPLC grade*. Vesi peab olema destilleeritud või vähemalt samaväärne.

3.2. Metanool

3.3. Hüdrokiinon

3.4. Hüdrokiinonmonometüüleeter

3.5. Hüdrokiinonmonoetüüleeter

3.6. Hüdrokinoonmonobensüüleeter (monobensoon)

3.7. Tetrahüdrofuraan, *HPLC grade*

3.8. Vee ja metanooli (3.2) segu (mahulises vahekorras 1:1)

3.9. Liikuv faas: tetrahüdrofuraan, vesi (mahulises vahekorras 45:55)

3.10. Standardlahus:

Kaaluda 50-ml mõõtekolbi 60 mg hüdrokinooni (3.3), 80 mg hüdrokinoonmonometüületrit (3.4), 100 mg hüdrokinoonmonoetüületrit (3.5) ja 120 mg hüdrokinoonmonobensüületrit (3.6). Lahustada ja täita kolb metanooliga (3.2) märgini. Valmistada standardlahus, lahjendades 10,00 ml seda põhilahust 50 ml-ni vee-metanooli seguga. (3.8). Kasutada värskestvalmistatud lahust.

4. Aparatuur

Standardne labori sisseseade

4.1. Veevann

4.2. *HPLC*-aparatuur UV-detektoriga ja 10- μ l sissesüstimissilmusega

4.3. Analüütiline kolonn: roostevaba teras, pikkus –259 mm, sisediameeter –4,6 mm, täidis –*Zorbax* fenüül (keemiliselt seotud fenetüülsilaan *Zorbax SIL*– il) trimetüülkloorisilaaniga, 6 μ m või midagi samaväärset. 60-mg Eelkolonnis võib kasutada sama täidist kui analüütilises kolonnis.

4.4. Filterpaber, diameeter 90 mm, *Schleicher and Schull, Weissband No 5892* või samaväärne.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda 50-ml mõõtekolbi 1–0,1 g proovi täpsusega 1 mg. Dispergeerida proov 25 ml vee-metanooli segus (3.8). Sulgeda kolb ja loksutada tugevasti vähemalt üks minut, kuni on saadud homogeenne suspensioon. Et suurendada ekstraktsiooni, asetada kolb 60 °C veevanni. Jahutada kolb ja täita vee-metanooli seguga (3.8) märgini. Filtreerida läbi paberfiltri (4.4). Filtraat kromatografeerida (*HPLC*) 24 tunni jooksul.

5.2. *HPLC*

5.2.1. Liikuva faasi voolukiirus: 1,0 ml/min ja detektori lainepikkus: 295 nm.

5.2.2. Süstida 10 μ l proovilahust (5.1) ja mõõta kromatogrammil piikide pindalad. Kalibreerida, nagu on kirjeldatud punktis 5.2.3. Võrrelda proovilahuse ja standardlahuste kromatogramme. Analüüsitava aine kontsentratsiooni leidmiseks proovilahuses kasutada piikide pindalaid ja punktis 5.2.3 leitud ülekandegurit (K).

5.2.3. Kalibreerimine

Süstida 10 μ l standardlahust (3.10). Korrata määramist, kuni kromatogrammil saadakse püsiva pindalaga piigid.

Leida ülekandegur:

$K_i = p_i / c_i$, kus:

p_i – hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüüleetri, hüdrokinoonmonoetüüleetri või hüdrokinoonmonobensüüleetri piigi pindala;

c_i – hüdrokinooni, hüdrokinoonmonometüüleetri, hüdrokinoonmonoetüüleetri või hüdrokinoonmonobensüüleetri standardlahuse (3.10) kontsentratsioon (g/50 ml).

Veenduda, et standardlahuse ja proovilahuse kromatogrammid vastavad järgmistele nõuetele:

– piikide eraldatus ei tohi olla väiksem kui 0,90 (joon 1). Kui lahutusvõime on nõutust väiksem, siis tuleb kasutada efektiivsemat kolonni või tuleb muuta liikuva faasi koostist;

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 1. Piikide eraldamine

– kõikide piikide asümmeetriafaktor A peab olema 0,9 ja 1,5 vahel (joon 2). Asümmeetriafaktori määramisel peab isekirjuti lindi liikumise kiirus olema vähemalt 2 cm/min;

– nulljoon peab olema püsiv.

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 2. Piigi asümmeetriafaktor

6. Arvutused

Analüüsitava aine sisaldus proovis P (massiprotsentidena) leida järgmise valemi järgi:

$P = b_i \times 100 / R_f \times a$, kus:

a – proovi mass, g;

b_i – analüüsitava aine piigi pindala.

7. Korratavus

7.1. 2,0%-lise hüdrokiinoni sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,13%.

7.2. 1,0%-lise hüdrokiinonmonometüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,1%.

7.3. 1,0%-lise hüdrokiinonmonoetüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,11%.

7.4. 1,0%-lise hüdrokiinonmonobensüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist tehtud kahe paralleelmääramise tulemuste vahe ületada 0,11%.

8. Reprodutseeritavus

8.1. 2,0%-lise hüdrokiinoni sisalduse puhul ei tohi samast proovist, kuid erinevates tingimustes (erinevad inimesed, laborid, aparatuur ja/või aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,37%.

8.2. 1,0%-lise hüdrokiinonmonometüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist, kuid erinevates tingimustes (erinevad inimesed, laborid, aparatuur ja/või aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,21%.

8.3. 1,0%-lise hüdrokiinonmonoetüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist, kuid erinevates tingimustes (erinevad inimesed, laborid, aparatuur ja/või aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,19%.

8.4. 1,0%-lise hüdrokiinonmonobensüüleetri sisalduse puhul ei tohi samast proovist, kuid erinevates tingimustes (erinevad inimesed, laborid, aparatuur ja/või aeg) tehtud kahe määramise tulemuste vahe ületada 0,11%.

9. Märkused

9.1. Kui määramisel leitud hüdrokiinoni sisaldus on oluliselt suurem kui 2%, siis täpse tulemuse saamiseks tuleb prooviekstrakti (5.1) lahjendada nii palju, et hüdrokiinoni sisaldus ekstraktis vastaks 2%-lisele hüdrokiinoni sisaldusele tootes, ja korrata määramist. (Mõni detektor ei võimalda saada lineaarset sõltuvust, kui hüdrokiinoni kontsentratsioon on liiga kõrge.)

9.2. Kõrvalmõjud

Ülalkirjeldatud meetod võimaldab hüdrokiinoni ja tema eetreid määrata ühe isokraatse kromatografeerimisega. Fenüülkolonni kasutamine tagab hüdrokiinoni piisava retentsiooni, mis ei ole aga garanteeritud, kui kasutatakse C18 kolonni.

Selle meetodi puhul võivad määramist segada mitmed parabeenid.

Sel juhul korratakse määramist, kasutades erinevaid liikuvate ja statsionaarsete faaside süsteeme.

Sobivad järgmised süsteemid:

Kolonn: *Zorbax ODS*, 4,6 mm –25 mm või midagi samaväärset, temperatuur 36 °C, eluendi voolukiirus 1,5 ml/min, liikuv faas:

hüdrokiinoni jaoks –metanool, vesi (mahulises vahekorras 5:95);

hüdrokiinonmonometüüleetri jaoks –metanool, vesi (mahulises vahekorras 30:70);

hüdrokiinonmonobensüüleetri jaoks –metanool, vesi (mahulises vahekorras 80:20).**

Kolonn: *Spherisorb S5-ODS* või samaväärne, liikuv faas: metanool, vesi (mahulises vahekorras 90:10), eluendi voolukiirus 1,5 ml/min.

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 95/32/EMÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.

** Need tingimused sobivad hüdrokiinoni määramiseks.

Lisa 39
sotsiaalministri
23. detsembri 1999. a

**2-FENOKSÜETANOOLI, 1-FENOKSÜPROPAAN-2-OOLI, METÜÜL-,
ETÜÜL-, PROPÜÜL-, BUTÜÜL- JA BENSÜÜL-4-HÜDROKSÜBENSOAADI
IDENTIFITSEERIMINE JA MÄÄRAMINE KOSMEETIKATOODETES***

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

A. IDENTIFITSEERIMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab õhekihikromatograafilist meetodit, mis koos B osas toodud määramismeetodiga võimaldab identifitseerida 2-fenoksüetanolit, 1-fenoksüpropan-2-ooli, metüül-, etüül-, propüül-, butüül- ja bensüül-4-hüdroksübensoati.

2. Meetodi põhimõte

Säilitusained ekstraheeritakse hapustatud kosmeetikatootest atsetooniga. Pärast filtreerimist segatakse atsetoonilahus veega ja rasvhapped sadestatakse kaltsiumsooladena aluselises keskkonnas. Aluselist atsetooni ja vee segu ekstraheeritakse lipofiilsete ühendite eemaldamiseks dietüüleetri. Pärast hapustamist säilitusained ekstraheeritakse dietüüleetri. Nõutav kogus dietüüleetri ekstrakti kantakse ÖKK-plaadile. Pärast elueerimist vaadeldakse plaati UV-valguses ja ilmutatakse *Millon'* i reaktiiviga.

3. Reaktiivid

3.1. Üldised nõuded

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad. Vesi peab olema destilleeritud või vähemalt samaväärne.

3.2. Atsetoon

3.3. Dietüüleeter

3.4. n-pentaan

3.5. Metanool

3.6. Kontsentreeritud äädikhape

3.7. 4 M soolhappe lahus

3.8. 4 M kaaliumhüdroksiidi lahus

3.9. Kaltsiumkloriidihüdraat ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.10. Ilmuti: *Millon'* i reaktiiv: elavhõbe(II)nitraadi lahus, saadav valmiskujul (*Fluka 69820*)

3.11. 2-fenoksüetanol

3.12. 1-fenoksüpropan-2-ool

3.13. Metüül-4-hüdroksübensoaat (metüülparaben)

3.14. Etüül-4-hüdroksübensoaat (propüülparaben)

3.15. n-propüül-4-hüdroksübensoaat (butüülparaben)

3.16. n-butüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparaben)

3.17. Bensüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparaben)

3.18. Standardlahused

Valmistada ainetest 3.11– 3.17 standardlahused (1 g/l metanoolis).

3.19. Eluent: segada 88 mahuosa n-pentaani (3.4) ja 12 mahuosa kontsentreeritud äädikhapet (3.6).

4. Aparatuur

Standardne labori sisseseade

- 4.1. Veevann, 60 °C
- 4.2. Kromatograafiatank (ilma pabervooderduseta)
- 4.3. UV-lamp, 254 nm
- 4.4. ÖKK-plaadid, 2– 20 cm, kaetud 0,25 mm silikageel 60 F₂₅₄kihiga, kontsentratsioonitsooniga (*Merck No 11798, Darmstadt* või samaväärne)
- 4.5. Kuivatuskapp, 105 °C
- 4.6. Küttega juukseföön
- 4.7. Villane värvirull, 10 cm pikk, väline diameeter ligikaudu 3,5 cm, villakihi paksus 2– 3 mm, vill peab olema trimmitud/pügatud (vt märkust punktis 5.2)
- 4.8. Keeratavate korkidega 50-ml katseklaasid
- 4.9. Termoregulaatoriga elektripliit, temperatuur ligikaudu 80 °C. Pliidiplaat peab olema kaetud 20– 20 cm suuruse ja 6 mm paksuse alumiiniumplaadiga, et tagada ühtlane kuumutamine.

5. Analüüsi käik

5.1. Proovi ettevalmistamine

Kaaluda ligikaudu 1 g proovi 50-ml keeratava korgiga katseklaasi (4.8). Lisada neli tilka soolhapet (3.7) ja 40 ml atsetooni (3.2).

Juhul kui kosmeetikatoode on tugevalt aluseline (nt tualettseep), siis lisada 20 tilka soolhapet. Sulgeda katseklaas, kuumutada säilitusainete atsetooniga ekstraheerimise hõlbustamiseks segu ettevaatlikult 60 °C kraadini ja loksutada tugevasti üks minut.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

Viia soolhappega lahuse pH indikaatorpaberi järgi 3-ni või rohkem. Uuesti loksutada tugevasti üks minut.

Jahutada lahus toatemperatuurini ja filtreerida läbi paberfiltri koonilisse kolbi. Mõõta 20 ml filtraati 250-ml koonilisse kolbi, lisada 60 ml vett ja segada. Viia kaaliumhüdrosiidiga (3.8) segu pH indikaatorpaberi järgi ligikaudu 10-ni.

Lisada 1 g kaaliumkloriidi (3.9) ja loksutada tugevasti. Filtreerida lahus läbi filterpaberi 250-ml jaotuslehtrisse, milles on 75 ml dietüületrit, ja loksutada tugevasti üks minut. Lasta segul kihistuda ja koguda vesifaas 200-ml koonilisse kolbi. Viia soolhappega vesilahuse pH indikaatorpaberi järgi ligikaudu 2-ni. Lisada 10 ml dietüületrit ja loksutada tugevasti üks minut. Lasta faasidel eralduda ja viia dietüüleetri faasi umbes 2 ml 5-ml pudelisse.

5.2. Õhekihikromatograafia (ÖKK)

Asetada ÖKK-plaat (4.4) elektripliidile (4.9). Kanda 10 µl igat standardlahust (3.18) ja 100 µl proovilahust (5.1) ÖKK-plaadi stardijoonele kontsentreerimistsooni. Vajadusel kasutada lahusti aurustamiseks fööni (4.6). Võtta plaat pliidilt ja jahutada toatemperatuurini. Valada kromatograafiatanki (4.2) 100 ml eluenti (3.9).

Asetada ÖKK-plaat kohe küllastamata tanki ja elueerida toatemperatuuril, kuni eluendi front on tõusnud ligikaudu 15 cm kõrgusele stardijoonest. Võtta plaat välja ja kuivatada kuuma õhuga, kasutades fööni (4.6).

Vaadelda plaati UV-valguses (4.3) ja märkida pliitsiga laikude asukohad. Äädikhappe liia eemaldamiseks kuumutada plaati 30 minutit kuivatuskapis (4.5) 100 °C juures. Ilmutada säilitusainete laigud *Millon*'i reatiiviga, kastes värvirulli (4.7) reaktiivi ja rullides üle ÖKK-plaadi, kuni see märgub.

Märkus. Laikude ilmutamiseks võib tilgutada ühe tilga *Millon*'i reatiivi UV-valguses märgistatud laigukohale.

4-hüdrosübensoehappe estrid ilmuvad punase laiguna, 2-fenoksüetanool ja 1-fenoksüpropan-8-ool annavad kollased laigud. Tuleb arvestada, et ka 4-hüdrosübensoehape, mis võib tootes esineda säilitusainena või parabeenide lagunemissaadusena, annab punase laigu (vt 7.3 ja 7.4).

6. Identifitseerimine

Leida iga laigu R_f. Võrrelda standardainete ja proovilahuse laikude R_f, laikude värvust pärast ilmutamist ja helendumist UV-valguses ning teha esialgne järeldus säilitusainete esinemise kohta tootes.

Kui järeldub, et proovis on säilitusained, siis järgneb nende määramine käesoleva lisa B osas kirjeldatud kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil. Lõplik otsus 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropan-2-ooli ja parabeenide esinemise kohta proovis tehakse pärast ÖKK ja HPLC tulemuste võrdlemist.

7. Märkused

7.1. Kuna *Millon*'i reaktiiv on toksiline, tuleb teda kindlasti kasutada ülalkirjeldatud viisil. Mitte pritsida!

7.2. *Millon*'i reaktiivi toimele muudavad värvust ka teised hüdroksüülrühmi sisaldavad ühendid. Kirjeldatud ÖKK meetodiga määratud teiste säilitusainete R_f väärtused ja värvused on antud artiklis: *N. de Kruijff, M.A. Rijk. L.A. Pranato-Soetardi and A. Schouten. Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products. Chromatography, 1987, 410, 395–411.*

7.3. Alljärgnevas tabelis antakse näitena rea säilitusainete R_f väärtused ja värvused:

Ühend	hR _f	Värvus
4-hüdroksübensoehape	11	Punane
metüülparabeen	12	Punane
Etüülparabeen	17	Punane
Propüülparabeen	21	Punane
Butüülparabeen	26	Punane
Bensüülparabeen	16	Punane
2-fenüüloksüetanool	29	Kollane
1-fenoksüpropan-8-ool	50	Kollane

7.4. 4-hüdroksübensoehapet metüülparabeenist ega bensüülparabeeni ei ole õnnestunud ÖKK meetodil eraldada etüülparabeenist. Nende ühendite identifitseerimiseks tuleb kasutada B osas kirjeldatud HPLC meetodit ja võrrelda nimetatud konservantide standardainete retensiooniga proovilahuse omadega.

B. MÄÄRAMINE

1. Kasutusala

Käesolev meetod kirjeldab 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropan-2-ooli, metüül-, etüül-, propüül-, butüül- ja bensüül-4-hüdroksübensoaadi määramist kosmeetikatoodetes.

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

2. Näitaja ühik

Käesoleva meetodi järgi määratud säilitusainete sisaldus tootes väljendatakse nende massiprotsendina.

3. Meetodi põhimõte

Proov hapustatakse vävelhappega ja suspendeeritakse etanooli ja vee segus. Pärast segu ettevaatlikku kuumutamist lipiidfaasi sulatamiseks ja kvantitatiivse ekstraheerimise parandamiseks segu filtreeritakse.

Säilitusained filtraadis määratakse pöördfaasi kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC) abil, kasutades sisestandardina isopropüül-4-hüdroksübensoaati.

4. Reaktiivid

4.1. Üldnõuded

Kõik reaktiivid peavad olema analüütiliselt puhtad ja vajadusel vastama HPLC *grade*'le. Vesi peab olema destilleeritud või vähemalt samaväärne.

4.2. Absoluutne etanool

4.3. 2-fenoksüetanool

4.4. 1-fenoksüpropan-8-ool

4.5. Metüül-4-hüdroksübensoaat (metüülparabeen)

4.6. Etüül-4-hüdroksübensoaat (propüülparabeen)

4.7. n-propüül-4-hüdroksübensoaat (butüülparabeen)

- 4.8. Isopropüül-4-hüdroksübensoaat (isopropüülparabeen)
- 4.9. n-butüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparabeen)
- 4.10. Bensüül-4-hüdroksübensoaat (bensüülparabeen)
- 4.11. Tetrahüdrofuraan
- 4.12. Metanool
- 4.13. Atsetonitriil
- 4.14. 2 M väävelhappe lahus
- 4.15. Etanooli-vee segu: segada 9 mahuosa etanooli (4.2) 1 mahuosa veega
- 4.16. Sisestandardi lahus: kaaluda täpsusega 0,01 g ligikaudu 0,25 g isopropüülparabeeni (4.8) ja viia kaalutis üle 500-ml mõõtekolbi. Lahustada ja täita kolb etanooli-vee seguga (4.15) märgini.
- 4.17. Liikuv faas: tetrahüdrofuraan, vesi, metanool, atsetonitriil (mahulises vahekorras 5:60:10:25).
- 4.18. Säilitusainete põhilahus
Kaaluda 100-ml mõõtekolbi täpsusega kuni 1 mg ligikaudu 200 mg 2-fenoksüetanooli, 200 mg 1-fenoksüpropan-2-ooli, 50 mg metüülparabeeni, 50 mg etüülparabeeni, 50 mg propüülparabeeni, 50 mg butüülparabeeni ja 25 mg bensüülparabeeni. Lahustada ja täita kolb etanooli-vee seguga märgini.

Külmutuskapis hoides on lahus kasutamiskõlblik kuni üks nädal.

- 4.19. Säilitusainete standardlahused:
Pipeteerida viide 50-ml mõõtekolbi järjestikku 20,00 ml; 10,00 ml; 5,00 ml; 2,00 ja 1,00 ml põhilahust (4.18). Lisada igasse kolbi 10,00 ml sisestandardi (4.16) lahust ja 1,0 ml väävelhapet (4.14). Täita kolb etanooli-vee seguga märgini. Kasutada üksnes värskestvalmistatud lahuseid.

5. Aparatuur

Standardne labori sisseseade.

- 5.1. Veevann, 60±1 °C
- 5.2. Kõrgsurve vedelikkromatograaf UV-detektoriga, lainepikkus 280 nm
- 5.3. Analüütiline kolonn: roostevaba teras, pikkus 25 cm ja sisediameeter 4,6 mm (või pikkus 12,5 cm ja sisediameeter 4,6 mm), täidis –*Nucleosil 5C18* või samaväärne (vt 10.1)
- 5.4. 100-ml keeratava korgiga katseklaas
- 5.5. Karborundist keedukivikesed suurusega 2–4 mm või samaväärsed

6. Analüüsi käik

- 6.1. Proovi ettevalmistamine
- 6.1.1. Proovi ettevalmistamine sisestandardi lisamiseta

Kaaluda 100-ml keeratava korgiga katseklaasi (5.4) ligikaudu 1,0 g proovi. Pipeteerida katseklaasi 1,0 ml väävelhappe lahust (4.14) ja 50 ml etanooli-vee segu (4.15). Lisada umbes 1 g keedukivikesi (5.5), sulgeda katseklaas ja loksutada tugevasti vähemalt üks minut, kuni moodustub homogeenne suspensioon. Asetada katsuti viieks minutiks veevanni 60±1 °C juurde, et parandada säilitusainete ekstraheerumist etanooli faasi.

Katseklaas jahutada kohe külma vee all ja hoida katseklaasi üks tund külmkapis. Filtreerida katseklaasi sisu läbi paberfiltri. Umbes 2 ml filtraati valada 5-ml pudelisse. Filtraati hoida külmkapis ja kasutada kromatografeerimiseks 24 tunni jooksul.

- 6.1.2. Proovi ettevalmistamine sisestandardi lisamisega

Kaaluda 100-ml keeratava korgiga katseklaasi täpsusega 1 mg 1,0 –0,1 g proovi. Pipeteerida katseklaasi 1,0 ml väävelhappe lahust (4.14) ja 40 ml etanooli-vee segu (4.15). Lisada umbes 1 g keedukivikesi (5.5) ja täpselt 10,00 ml sisestandardi lahust (4.16). Sulgeda katsuti ja loksutada tugevasti vähemalt ühe minuti vältel,

kuni moodustub homogeenne suspensioon. Asetada katseklaas viieks minutiks veevanni 60 ± 1 °C juurde, et parandada säilitusainete ekstraheerumist etanooli faasi.

Katseklaas jahutada kohe külma vee all ja hoida katseklaasi üks tund külmkapis. Katseklaasi sisu filtreerida läbi paberfiltritri. Umbes 2 ml filtraati valada 5-ml pudelisse. Filtraati hoida külmkapis ja kasutada kromatografeerimiseks 24 tunni jooksul.

6.2. Kõrgefektiivse vedelikkromatograafia (HPLC)

6.2.1. Kromatografeerimistingimused:

- liikuv faas – tetraahüdofuraan, vesi, metanool, atsetonitriil (4.17);
- voolukiirus – 1,5 ml/min;
- detektori lainepikkus – 280 nm.

6.2.2. Kalibreerimine

Süstida 10 µl iga standardlahust (4.19). Saadud kromatogrammide järgi leida standardlahuste piikide ja sisestandardi piigi kõrguste suhted. Joonistada kalibreerimisgraafik leitud suhete ja neile vastavate standardlahuste kontsentratsioonide järgi.

6.2.3. Määramine

Süstida 10 µl sisestandardita proovilahust (6.1.1) ja 10 µl sisestandardite lahust (4.1.9). Võrrelda saadud kromatogramme. Juhul kui proovilahuse (6.1.1) kromatogrammil ei ole piike, mille retensiooniaeg oleks lähedane sisestandardina soovitatud isopropüülparabeeni piigi retensiooniajale, siis järgmisena süstitakse 10 µl sisestandardit sisaldavat proovilahust (6.1.2). Mõõta kromatogrammil piikide kõrgused. Juhul kui kromatogrammil on leitud segavaid piike, mille retensiooniaeg on ligilähedane isopropüülparabeeni omale, valida mingi teine sisestandard. Kui eelneva analüüsi alusel on teada, et mõndasäilitusainet tootes ei ole, siis võib seda ainet kasutada sisestandardina.

Leida uuritavate säilitusainete piikide ja sisestandardi piigi kõrguste suhe. Veenduda, et kalibreerimisgraafik on sirge.

Veenduda, et standard- ja proovilahuse kromatogrammid vastavad järgmistele tingimustele:

- piikide eraldatus ei tohi kõige halvemini lahutatud piikide paari puhul olla alla 0,90 (joon 1). Kui lahutusvõime on nõutust väiksem, siis tuleb kasutada efektiivsemat kolonni või tuleb muuta liikuva faasi koostist;

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 1. Piikide eraldamine

- kõikide piikide asümmeetrifaktor A peab olema 0,9 ja 1,5 vahel (joon 2). Asümmeetrifaktori määramisel peab isekirjuti lindi liikumiskiirus olema vähemalt 2 cm/min;
- nulljoon peab olema püsiv.

(v.t. [RTL 2000, 22, 302](#))

Joonis 2. Piigi asümmeetrifaktor

7. Arvutused

Proovis olevate säilitusainete kontsentratsioon leida kalibreerimisgraafikult (6.2.2) uuritavate säilitusainete piikide kõrguste ja sisestandardi piigi kõrguse suhte järgi.

Arvutada 2-fenoksüetanooli, 1-fenoksüpropan-2-ooli, metüül-, etüül-, propüül-, butüül- ja bensüül-4-hüdroksübensoaadi sisaldus proovis P, väljendatud massiprotsendina, kasutades järgmist valemist:

$P = b_i / 200 \times a$, kus:

b_i – säilitusaine sisaldus proovis kalibreerimisgraafiku järgi, µg/ml;

a – katsekoguse mass, g.

8. Korratavus

Vaata punkti 10.5.

9. Reprodutseeritavus

Vaata punkti 10.5.

10. Märkused

10.1. Statsionaarne faas

HPLC kolonni lahutusvõime sõltub statsionaarse faasi tüübist, tootjafirmast, kolonni eelnevast kasutusalaast ja muudest asjaoludest. Otsus kolonni sobivuse kohta säilitusainete analüüsiks teha pärast standardlahuste

kromatografeerimist (vt 6.2.3). Peale soovitatud kolonitaidise sobivad kasutamiseks ka *Hypersil ODS* ja *Zorbax ODS*.

Vajaliku lahutusvõime saamiseks võib muuta ka soovitatud liikuvat faasi.

10.2. Detektori lainepikkus

Kõrvalmõjude uurimised näitavad, etjubaväga väike lainepikkuse muutus mõjutab oluliselt määramise tulemust. Seepärast on oluline jälgida lainepikkuse õigsust määramise käigus.

10.3. Interferentsid

Käesoleva meetodi järgi määramisel võivad elueeruda ka mitmed teised kosmeetikatoodetes sisalduvad ained. Paljude kosmeetikatoodetes kasutada lubatud säilitisainete retensiooniajad on toodud artiklis: *N. de Kruijf, M.A. Rijk. L.A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten. Determination of preservatives in cosmetic products II: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products. Chromatography, 1989, 469, 317–398.*

[RTL 2002, 54, 791 – jõust. 06.05.2002]

10.4. Analüütilise kolonni kaitseks on soovitatav kasutada sobilikku eelkolonni.

Käesoleva meetodi korratavus ja reprodutseeritavus määrati ringtestiga üheksas laboratooriumis.

Analüüsiti kolme proovi. Alljärgnevas tabelis on antud igas proovis sisalduva analüüsitava aine kohta korratavus (r) ja reprodutseeritavus (R), väljendatud massiprotsendina (m):

Proov		2-fenoksü- etanool	1-fenoksü- propan-8- ool	Metüül- para- been	Etüül- para- been	Propüül- para- been	Butüül- para- been	Bensüül- para- been
Vitamiini- kreem	m	1,124		0,250	0,0628	0,031	0,0906	
	r	0,016		0,018	0,0035	0,0028	0,0044	
	R	0,176		0,030	0,0068	0,0111	0,0034	
Hajutus- kreem	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,76		0,022	0,004			
Massaaži- kreem	m		0,806			0,180	0,148	0,152
	r		0,067			0,034	0,013	0,015
	R		0,112			0,078	0,012	0,016

* Käesolevas lisas on säilitatud Euroopa Ühenduste Komisjoni direktiivi 96/45/EÜ lisa ülesehitust ja numeratsiooni.