

ÞRIÐJA TILSKIPUN FRAMKVÆMDASTJÓRNARINNAR

frá 27. september 1983

um samræmingu laga aðildarríkjanna varðandi nauðsynlegar greiningaraðferðir til eftirlits með samsetningu snyrtivara

(83/514/EBE)

FRAMKVÆMDASTJÓRN EVRÓPUBANDALAGANNA
HEFUR,

með hliðsjón af stofnsáttmála Efnahagsbandalags Evrópu,

með hliðsjón af tilskipun ráðsins 76/768/EBE frá 27. júlí 1976 um samræmingu laga aðildarríkjanna um snyrtivörur ⁽¹⁾, eins og henni var síðast breytt með tilskipun 83/341/EBE ⁽²⁾, einkum 1. mgr. 8. gr.,

og að teknu tilliti til eftirfarandi:

Í tilskipun 76/768/EBE er kveðið á um opinbert eftirlit með snyrtivörum til að tryggja að fullnægt sé skilyrðum sem mælt er fyrir um í ákvæðum bandalagsins um samsetningu snyrtivara.

Ákveða ber, eins fljótt og kostur er, allar nauðsynlegar greiningaraðferðir. Tvö fyrstu skrefin hafa þegar verið stigin með skilgreiningu tiltekinna aðferða í tilskipun framkvæmdastjórnarinnar 80/1335/EBE ⁽³⁾ og 82/434/EBE ⁽⁴⁾. Þriðja skrefið verður fólgið í því að skilgreina aðferðir til að ákvarða díklórmetan og 1,1,1-tríklóretan, aðgreina og ákvarða kínólín-8-ól og bis(8-hýdroxýkínólíníum) sulfat, ákvarða ammóníak, aðgreina og ákvarða nítrómetan, aðgreina og ákvarða merkaptóediksýru í hárlíðunar og aflíðunarvörum og háreyðingarvörum, aðgreina og ákvarða hexaklórfen (INN), ákvarða natríumtósýlklóramíð (INN),

⁽¹⁾ Stjtið. EB nr. L 262, 27. 9. 1976, bls. 169.

⁽²⁾ Stjtið. EB nr. L 188, 13. 7. 1983, bls. 15.

⁽³⁾ Stjtið. EB nr. L 383, 31. 12. 1980, bls. 27.

⁽⁴⁾ Stjtið. EB nr. L 185, 30. 6. 1982, bls. 1.

ákvarða heildarmagn flúors í tannkremi, aðgreina og ákvarða lífræn kvikasilfursambönd og ákvarða alkalísúlfið og jarðalkalísúlfið.

Ráðstafanir sem kveðið er á um í þessari tilskipun eru í samræmi við álit nefndarinnar sem sér um að laga tilskipun 76/768/EBE að tækniframförum.

SAMÞYKKT TILSKIPUN ÞESSA:

I. gr.

Aðildarríkin skulu gera allar nauðsynlegar ráðstafanir til að tryggja að opinbert eftirlit með snyrtivörum:

- ákvörðun díklórmetans og 1,1,1-tríklóretans,
- aðgreining og ákvörðun kínólín-8-óls og bis(8-hýdroxýkínólíníum) sulfats,
- ákvörðun ammóníaks,
- aðgreining og ákvörðun nítrómetans,
- aðgreining og ákvörðun merkaptóediksýru í hárlíðunar- og aflíðunarvörum og háreyðingarvörum,
- aðgreining og ákvörðun hexaklórfens (INN),
- ákvörðun natríumtósýlklóramíðs (INN),
- ákvörðun heildarmagns flúors í tannkremi,
- aðgreining og ákvörðun lífrænna kvikasilfursambanda,

— ákvörðun alkalisúlfíða og jarðalkalisúlfíða,

3. gr.

sé framkvæmt í samræmi við aðferðirnar sem lýst er í viðaukanum hér á eftir.

Tilskipun þessari er beint til aðildarríkjanna.

2. gr.

Gjört í Brussel 27. september 1983.

Aðildarríkin skulu samþykkja nauðsynleg lög og stjórn-sýslufyrirmæli til að fara að tilskipun þessari eigi síðar en 31. desember 1984.

Fyrir hönd framkvæmdastjórnarinnar,

Frans ANDRIESEN

framkvæmdastjóri.

Þau skulu tilkynna það framkvæmdastjórninni þegar í stað.

VIÐAUKI

ÁKVÖRDUN DÍKLÓRMETANS OG 1,1,1-TRÍKLÓRETANS

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Hér er lýst aðferð við ákvörðun díklórmetans (metýlenklóríðs) og 1,1,1-tríklóretans (metýlklóróform) í öllum snyrtivörum sem líklegt er að innihaldi þessi leysiefni.

2. SKILGREINING

Díklórmetanmagn og 1,1,1-tríklóretanmagn sýnisins sem er ákvarðað í samræmi við þessa aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa.

3. MEGINREGLA

Aðferðin byggist á gasgreiningu með klóróform sem innri staðal.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningargæði

4.1. Klóróform (CHCl_3).4.2. Koltetraklóríð (CCl_4).4.3. Díklórmetan (CH_2Cl_2).4.4. 1,1,1-tríklóretan (CH_3CCl_3).

4.5. Aseton.

4.6. Köfnunarefni.

5. BÚNAÐUR

5.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.

5.2. Gasgreinir með hitaleiðninema.

5.3. Flutningsflaska, 50 – 100 ml (sjá sýnatökuaðferð 5.3) ⁽¹⁾.5.4. Sprauta fyrir gas undir þrýstingi, 25 eða 50 μl (sjá sýnatökuaðferð 5.4.2.2) ⁽¹⁾.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Sýni sem er ekki undir þrýstingi: sýnið er vegið nákvæmlega og sett í Erlenmeyer-kolbu með tappa. Nákvæmlega vegnu klóróformmagni, (4.1.) sem samsvarar áætluðu díklórmetanmagni og 1,1,1-tríklóretanmagni sýnisins, er bætt út í sem innri staðli. Innihaldi kolbunnar er blandað vandlega saman.

⁽¹⁾ Stjttíð. EB nr. L 383, 31. 12. 1980, bls. 27.

- 6.2. Sýni undir þrýstingi: notuð er sýnatökuaðferðin sem lýst er í kaflanum um sýnatöku (5. lið, II. kafla í viðauka við tilskipun ráðsins 80/1335/EBE), en með eftirfarandi breytingum:
- 6.2.1. Sýni er fært yfir í flutningsflösku (5.3) og því magni klóróforms (4.1.), sem samsvarar áætluðu magni af díklórmetani og/eða 1,1,1-tríklórretani í sýninu, síðan bætt út í sem innri staðli. Blandað er vel saman. Dauðarúmmál lokans er hreinsað með 0,5 ml af koltetraklóríði (4.2). Eftir að sýnið hefur verið þurrkað er viðbótarmassi innri staðalsins ákvarðaður nákvæmlega sem massamunur.
- 6.2.2. Sprautan er fyllt með sýninu og nálaroddu sprautunnar hreinsaður með köfnunarefni (4.6) svo að engar leifar séu til staðar þegar sprautað er inn í gasgreiningu.
- 6.2.3. Eftir hverja sýnatöku ber að hreinsa yfirborð lokans og flutningstækisins nokkrum sinnum með asetoni (4.5) (með sprautu), eins og krafist er, og þurrka síðan vandlega með köfnunarefni (4.6).
- 6.2.4. Við hverja greiningu eru notaðar tvær mismunandi flutningsflöskur og fimm mælingar framkvæmdar úr hvorri flösku.

7. AÐSTÆÐUR VIÐ GASGREININGU

7.1. Forsúla

efni: ryðfrítt stál
 Lengd: 300 mm
 Þvermál: 3 eða 6 mm
 Fylliefni: sama efni og notað er í greiningarsúluna.

7.2. Súla

Stöðufasin er gerður úr hallkómíði M 18 á krómósorbi. Aðgreining súlunnar skal vera þannig að „R“ sé jafnt og eða hærra en 1,5, þar sem:

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

þar sem:

r_1 og r_2 = rástími toppanna (í mínútum),
 w_1 og w_2 = breidd toppanna við hálfu hæð (í millímetrum),
 d' = hraði skrifarans (í millímetrum á mínútu).

7.3. Sem dæmi skila eftirfarandi súlur æskilegum niðurstöðum:

Súla	I	II
Efni:	Ryðfrítt stál	Ryðfrítt stál
Lengd:	350 cm	400 cm
Þvermál:	3 mm	6 mm
Burðarefni:		
krómósorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
kornastærð:	100 – 120 mesh	60 – 80 mesh
Stöðufasi:	Hallkómíð M 18, 10%	Hallkómíð M 18, 20%

Hitinn má vera breytilegur eftir því hvert hlutverk búnaðarins er. Í dæmunum hér á eftir hefur hitinn verið stíllur á eftirfarandi hátt:

Súla	I	II
Hití:		
súla:	65°C	75°C
sýnishólf:	150°C	125°C
nemi:	150°C	200°C
Burðarlofttegund:		
flæði helúms:	45 ml/mín.	60 ml/mín.
innrennslisþrýstingur:	2,5 bar	2,0 bar
Innsprautun:	15 µl	15 µl

8. BLANDA TIL AÐ ÁKVEÐA ÚTSLAGSSTUÐULINN

Eftirfarandi blanda er löguð og sett nákvæmlega vegin í Erlenmeyer-kolbu með tappa:

Díklórmetan (4.3), 30% (m/m).
1,1,1-tríklóretan (4.4), 35% (m/m).
Klóróform (4.1), 35% (m/m).

9. ÚTREIKNINGAR

9.1. Útslagsstuðull fyrir efni „p“ í hlutfalli við efni „a“ sem er valinn sem innri staðall er reiknaður út með eftirfarandi formúlu:

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

Fyrir fyrra efnið „p“ er:

k_p = útslagsstuðull þess,
 m_p = massi þess í blöndunni,
 A_p = flatarmál topps þess.

Fyrir síðara efnið „a“ er:

k_a = útslagsstuðull þess,
 M_a = massi þess í blöndunni,
 A_a = flatarmál topps þess.

Sem dæmi hafa eftirfarandi útslagsstuðlar fengist (fyrir klóróform $k = 1$):

Díklórmetan: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$
1,1,1-tríklóretan: $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2. Magn díklórmetans (% m/m) og 1,1,1-tríklóretans í sýninu sem greina á er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

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

þar sem

m_a = massi klóróforms sem notaður er (í grömmum),
 M_a = massi sýnisins sem greina á (í grömmum),
 A_a = flatarmál klóróformtoppsins,
 A_1 = flatarmál díklórmetantoppisins,
 A_2 = flatarmál 1,1,1-tríklóretantoppisins.

10. TVÍMÆLINGAGILDI ⁽¹⁾

Ef díklórmetanmagn og/eða 1,1,1-tríklóretanmagn er 25% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 2,5% (m/m).

⁽¹⁾ ISO-staðall 5725.

**AÐGREINING OG ÁKVÖRDUN KÍNÓLÍN-8-ÓLS OG BIS
(8-HÝDROXYKÍNÓLÍNÍUM) SÚLFATS**

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Hér er lýst aðferð til að aðgreina og ákvarða kínólín-8-ól og súlfat þess.

2. SKILGREINING

Magn kínólín-8-óls og *bis*(8-hýdroxýkínólíníum)súlfats í sýninu sem er ákvarðað með þessari aðferð er gefið upp sem hundradshluti miðað við massa kínólín-8-óls.

3. MEGINREGLA

3.1. **Aðgreining**

Aðgreining með þunnlagsskiljun.

3.2. **Ákvörðun**

Ákvörðun er gerð með litrófsmælingu við 410 nm bylgjulengd á komplexinum sem fæst með hvarfi við Fehling-lausrina.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1. Kínólín-8-ól.

4.2. Bensen. Gæta skal fyllstu varúðar þegar unnið er með bensen sökum eiturverkunar þess.

4.3. Klóróform.

4.4. Vatnslausn natríumhýdroxíðs, 50% (m/m).

4.5. Koparsúlfatpentahýdrat.

4.6. Kalíumnatríumtartrat.

4.7. M saltsýra.

4.8. 0,5 M brennisteinssýra.

4.9. M natríumhýdroxíðlausn.

4.10. Etanól.

4.11. Bútan-1-ól.

4.12. Ísedik.

- 4.13. 0,1 saltsýra.
- 4.14. „Selít 545“ eða samsvarandi.
- 4.15. **Staðallausnir**
- 4.15.1. Vegin eru 100 mg af kínólín-8-óli (4.1) og sett í 100 ml mælikolbu. Innihald kolbunnar er leyst upp í smáskammti af brennisteinssýru (4.8.). Fyllt er að markinu með brennisteinssýru (4.8.).
- 4.15.2. Vegin eru 100 mg af kínólín-8-óli og sett í 100 ml mælikolbu. Innihald kolbunnar er leyst upp í etanóli (4.10). Fyllt er að markinu með etanóli (4.10) og blandað saman.
- 4.16. **Fehling-laun**
- Laun A*
Vegin eru 7 g af koparsúlfatpentahýdrati (4.5) og sett í 100 ml mælikolbu. Innihald kolbunnar er leyst upp í smáskammti af vatni. Fyllt er að markinu með vatni og blandað saman.
- Laun B*
Vegin eru 35 g af kalíumnatríumtartrat (4.6) og sett í 100 ml mælikolbu. Innihald kolbunnar er leyst upp í 50 ml af vatni. 20 ml af natríumhýdroxíði (4.4) er bætt út í. Fyllt er að markinu með vatni og blandað saman. Rétt áður en nota á blönduna er 10 ml af laun A og 10 ml af laun B fluttir með rennipípu yfir í 100 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu og blandað saman.
- 4.17. **Ferðafasar fyrir þunnlagsskiljun**
- I : Bútan-1-ól (4.11) / ediksýra (4.12) / vatn (80 : 20 : 20; v/v/v).
II : Klóróform (4.13) / ediksýra (4.12) (95 : 5; v/v).
- 4.18. 2,6-díklór-4-(klóróímínó) sýklóhexa-2,5-díenón, 1% (m/v) lausn í etanóli (4.10).
- 4.19. Natríumkarbónat, 1% (m/v) lausn í vatni.
- 4.20. Etanól (4.10), 30% (v/v) lausn í vatni.
- 4.21. Dínatríumdíhýdrógenetylendíamíntetraasetat, 5% (m/v) lausn í vatni.
- 4.22. **Jafnalausn, pH-gildi 7**
- Vegin eru 27 g af vatnsfríu kalíumdíhýdrógenortófosfati og 70 g af díkalíumdíhýdrógenortófosfatríhýdrati og sett í 1 l mælikolbu. Fyllt er að markinu með vatni.
- 4.23. **Tilbúnar plötur fyrir þunnlagsskiljun**
- Tilbúnar þunnlagsplötur af þykktinni 0,25 mm (t.d. *Merck Kieselgel 60* eða samsvarandi plötur). Fyrir notkun eru plöturnar úðaðar með 10 ml af hvarfefni (4.21) og síðan þurrkaðar við 80°C.
5. **BÚNAÐUR**
- 5.1. 100 ml kolba með kúlulaga botni og slípuðum hálsi.
- 5.2. Mælikolbur.
- 5.3. Kvarðaðar rennipípur, 10 og 15 ml.

- 5.4. Belgrennipípur, 20, 15,10 og 5 ml.
- 5.5. Skiltrektir, 100, 50 og 25 ml.
- 5.6. Samanbrotinn síupappír, þvermál 90 mm.
- 5.7. Hverfisvali.
- 5.8. Endurstreymispétir með slípuðum glerhálsi.
- 5.9. Litrófsmælir.
- 5.10. 10 mm kúvettur.
- 5.11. Segulhræri með hitara.
- 5.12. Glersúla fyrir skiljun: 160 mm löng, 8 mm í þvermál, mjórri í neðri endann, með glerullarhnoðra, efri endinn útbúinn þannig að hægt sé að nota yfirþrýsting.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Aðgreining

6.1.1. Vökvasýni

6.1.1.1. pH-gildi hluta sýnisins er stillt á 7,5 og 10 μ l þeirrar lausnar settir á punkt á byrjunarlínu tilbúinnar kísilhlaupsþunnlagsplötu (4.23).

6.1.1.2. 10 og 30 μ l af staðallausninni (4.15.2) eru settir á aðra tvo punkta á byrjunarlínunni og platan síðan látin liggja í öðrum ferðafasanna tveggja (4.17).

6.1.1.3. Þegar ferðafasinn hefur færst fram um 150 mm, er platan þurrkuð við 110°C (í 15 mínútur). Undir útfjólubláum (UV) lampu (366 nm) sýna kíólín-8-ólblettirnir gula flúrljómun.

6.1.1.4. Platan er úðuð með natríumkarbónatlausn (4.19). Hún er síðan þurrkuð og úðuð með 2,6-díklór-4 - (klórómínó) sýklóhexa-2,5-díenónlausn (4.18). Kíólín-8-ól kemur fram sem bláir blettir.

6.1.2. Sýni í föstu formi eða sem krem

6.1.2.1. 1 g af sýninu er dreift í 5 ml af jafnalausninni (4.22). Það er síðan flutt með 10 ml af klóróformi (4.3) yfir í skiltrekt og hrist. Þegar klóróformfasinn hefur verið skilinn frá er vatnsfasinn dreginn út tvisvar sinnum til viðbótar með 10 ml af klóróformi (4.3). Klóróformfasarnir eru sameinaðir og stáðir og síðan er næstum allt leysiefnið eimað af í 100 ml kolbu með kúlulaga botni (5.1.) í hverfisvala (5.7.). Leifarnar eru leystar upp í 2 ml af klóróformi (4.3) og 10 og 30 μ l af lausninni sem fæst eru settir á þunnlagsplötu úr kísilhlaupi (4.23) samkvæmt aðferðinni í 6.1.1.1 og þar á eftir.

6.1.2.2. 10 og 30 μ l af staðallausn (4.15.2) eru settir á plötuna og síðan er haldið áfram eins og lýst er í 6.1.1.2 til 6.1.1.4.

6.2. Ákvörðun

6.2.1. Vökvasýni

6.2.1.1. Vegin eru 5 g af sýninu og sett í 100 ml kolbu með kúlulaga botni. 1 ml af brennisteinssýru (4.8.) er bætt út í og blandan eimuð við lækkaðan þrýsting við 50°C uns næstum allur vökvinn er gufaður upp.

- 6.2.1.2. Þessar leifar eru leystar upp í 20 ml af heitu vatni. Lausnin er síðan flutt yfir í 100 ml mælikolbu. Hún er skoluð þrisvar með 20 ml af vatni. Fyllt er að 100 ml markinu með vatni og blandað saman.
- 6.2.1.3. 5 ml af þessari lausn eru fluttir með rennipípu yfir í 50 ml skiltrekt (5.5). 10 ml af Fehling-laun (4.16) er bætt út í. Kínólín-8-ól koparkomplexinn sem fæst er dreginn út [oxínkopar (ISO-staðall)] þrisvar sinnum með 8 ml af klóróformi (4.3).
- 6.2.1.4. Klóróformfasarnir eru síaðir og þeim safnað í 25 ml mælikolbu (5.2). Fyllt er að markinu með klóróformi (4.3) og hrist. Ljósþéttni gulu lausnarinnar gagnvart klóróformi er mæld við 410 nm bylgjulengd.
- 6.2.2. *Sýni í föstu formi eða sem krem*
- 6.2.2.1. Vegin eru 0,500 g af sýninu og sett í 100 ml kolbu með kúlulaga botni (5.1). 30 ml af bensen (4.2) og 20 ml af saltsýru (4.7) er bætt út í. Innihald kolbunnar er soðið í 30 mínútur og til þess notaður endurstreymisþéttir, hrært er í á meðan.
- 6.2.2.2. Innihald kolbunnar er flutt yfir í 100 ml skiltrekt (5.5). Síðan er skolað með 5 ml af 1N saltsýru (4.7). Vatnsfasinn er fluttur yfir í kolbu með kúlulaga botni (5.1) og bensenfasinn þveginn með 5 ml af saltsýru (4.7).
- 6.2.2.3. Ef um er að ræða fleyti sem hindrar frekari greiningu er 0,500 grömmum af sýninu blandað saman við 2 g af Selíti 545 (4.14) til þess að streymandi púður myndist. Blandan er flutt í smáum skömmum yfir í skiljunarsúlu úr gleri (5.12).
- Eftir að hverjum skammti hefur verið bætt við er fylliefni súlunnar þjappað saman. Um leið og öll blandan hefur verið flutt yfir í súluna er saltsýra (4.13.) notuð sem ferðafasi þannig að á um það bil 10 mínútum fást 10 ml af lausn (ef nauðsyn krefur er hægt að framkvæma þessa skiljun við vægan köfnunarefnisþrýsting). Á meðan á skiljuninni stendur skal tryggja að saltsýran fljóti yfir fylliefnið í súlunni. Fyrstu 10 ml af lausninni eru síðan meðhöndlaðir eins og lýst er í 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. Sameinaðir ferðafasarnir (6.2.2.2) eða lausnin (6.2.2.3) eru eimaðir í hverfisvalanum við lækkaðan þrýsting uns nær allur vökvinn er gufaður upp.
- 6.2.2.5. Leifarnar eru leystar upp í 6 ml af natríumhýdroxíðlausn (4.9). Bætt er við 20 ml af Fehling-laun (4.16) og innihald kolbunnar síðan flutt yfir í 50 ml skiltrekt (5.5). Kolban er skoluð með 8 ml af klóróformi (4.3). Skiltrektin er hrist og klóróformfasinn síaður yfir í 50 ml mælikolbu (5.2).
- 6.2.2.6. Útdrátturinn er endurtekinn þrisvar með 8 ml af klóróformi (4.3). Klóróformfasarnir eru síaðir og þeim safnað í 50 ml kolbu. Fyllt er að markinu með klóróformi (4.3) og hrist. Mæld er ljósþéttni gulu lausnarinnar gagnvart klóróformi (4.3) við 410 nm bylgjulengd.

7. STAÐALKÚRFA

5, 10, 15 og 20 ml af staðallausn (4.15.1), sem samsvara 5, 10, 15 og 20 mg af kínólín-8-ól, eru fluttir með rennipípu yfir í fjórar 100 ml kolbur með kúlulaga botni (5.1), sem hver um sig inniheldur 3 ml af 30% etanóli í vatni (4.20). Haldið er áfram eins og lýst er í 6.2.1.

8. ÚTREIKNINGAR

8.1. Vökvásýni

$$\text{Magn kínólín-8-ól}(\%(\text{m/m})) = \frac{a}{m} \times 100$$

þar sem:

a = kínólín-8-ól lesið af staðalkúrfunni (7.) í milligrömmum,

m = massi prófsýnisins (6.2.1.1) (í milligrömmum).

8.2. Sýni í föstu formi eða sem krem

$$\text{Magn kíólín-8-ólis (\% (m/m))} \frac{2a}{m} \times 100$$

þar sem:

a = kíólín-8-ól lesið af staðalkúrfunni (7.) í millígrömmum,

m = massi prófsýnisins (6.2.2.1) (í millígrömmum).

9. TVÍMÆLINGAGILDI ⁽¹⁾

Ef magn kíólín-8-ólis er um 0,3% má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,02%.

ÁKVÖRÐUN AMMÓNÍAKS**1. UMFANG OG GILDISSVIÐ**

Hér er lýst aðferð til ákvörðunar á óbundnu ammóníaki í snyrtivörum.

2. SKILGREINING

Ammóníakmagn sýnisins sem er ákvarðað í samræmi við þessa aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa ammóníaks.

3. MEGINREGLA

Baríumklóríðlausn er bætt út í prófsýni af snyrtivöru sem þynnt hefur verið með vatnsblönduðu metanóli. Ef botnfall myndast er það síað burtu eða skilið frá með miðflótttaflsskiljun. Þessi aðferð kemur í veg fyrir að ammóníak glatist, við gufueimingu, úr tilteknum ammóníumsöltum, til dæmis karbónati og hýdrógenkarbónati ásamt söltum fitusýra, þó ekki úr ammóníumasetati.

Ammóníakið er gufueimað frá síuvökvanum eða flotinu og ákvarðað með breytiviðnámsmælingu eða annarri gerð títrunar.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1. Metanól.**4.2. Baríumklóríðdíhýdrat, 25% lausn (m/v).****4.3. Ortóbórsýra, 4% lausn (m/v).****4.4. Brennisteinssýra, staðallausn, 0,25 M.****4.5. Froðueyðir.****4.6. Natríumhýdroxíð, staðallausn, 0,5 M.****4.7. Litvísir (ef hans er krafist): 5 ml af 0,1% (m/v) af metýlrauðri lausn í etanóli er blandað saman við 2 ml af 0,1% (m/v) af metýlenblárrí lausn í vatni.**

⁽¹⁾ ISO-staðall 5725.

5. BÚNAÐUR
- 5.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.
- 5.2. Miðflótttaafllsskilja með 100 ml flöskum með töppum.
- 5.3. Gufueimingarbúnaður.
- 5.4. Breytviðnámsmælir.
- 5.5. Glerrafskaut og samanburðarrafskaut úr díkvikasílfurdíklóríði (kalómel).
6. VINNUAÐFERÐ
- 6.1. Sá massi sýnisins (m) sem samsvarar 150 mg af ammóníaki hið mesta er veginn og settur í 100 ml mælikolbu.
- 6.2. 10 ml af vatni, 10 ml af metanóli (4.1) og 10 ml af baríumklóríðlausn (4.2) er bætt út í. Fyllt er upp að 100 ml markinu með metanóli (4.1).
- 6.3. Innihaldi kolbunnar er blandað saman og það látið standa yfir nótt í kælikáp (5°C).
- 6.4. Lausnin, meðan hún er enn köld, er síðan síuð eða sett í miðflótttaafllsskilju í lokuðum glösum í 10 mínútur þannig að síuvökvinn eða flotið verði tært.
- 6.5. 40 ml af þessari tæru lausn eru fluttir með rennipípu yfir í gufueimingarbúnaðinn (5.3), ásamt 0,5 ml af froðueyði (4.5), ef þörf krefur.
- 6.6. Lausnin er eimuð og 200 ml af henni er safnað í 250 ml bikarglas sem inniheldur 10 ml af staðalbrennisteinssýru (4.4) og 0,1 ml af litvísi (4.7).
- 6.7. Umframsýran er baktítruð með staðalnatríumhýdroxíðlausn (4.6).
- 6.8. *Ath.:* Fyrir ákvörðun með breytiviðnámsmælingu er 200 ml af eimuðu lausninni safnað í 250 ml bikarglas sem inniheldur 25 ml af ortóbórsýrulausn (4.3), og lausnin síðan títruð með staðalbrennisteinssýru (4.4) og títrunarferillinn teiknaður.
7. ÚTREIKNINGAR
- 7.1. **Útreikningur við baktítrun**

Ammóníakmagn sýnisins sem gefið er upp sem hundraðshluti miðað við massa (% m/m) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

$$\text{ammóníak \% (m/m)} = \frac{(20M_2 - V_1M_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(20M_2 - V_1M_1) \times 4250}{m}$$

þar sem:

V_1 = rúmmál natríumhýdroxíðlausnarinnar (4.6) sem notuð er (í millílítrum)

M_1 = raunverulegur mólstyrkur natríumhýdroxíðlausnarinnar (4.6),

M_2 = raunverulegur mólstyrkur brennisteinssýrulausnarinnar (4.4),

m = massi prófsýnisins (6.1) sem tekinn er (í millígrömmum).

7.2. Útreikningur við breytiviðnámsmælingu

Ammóníakmagn sýnisins sem gefið er upp sem hundraðshluti miðað við massa (% m/m) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem

V_2 = rúmmál brennisteinssýrulausnarinnar (4.4) sem notuð er (í millílítrum),

M_2 = raunverulegur mólstyrkur hennar,

m = massi prófsýnisins sem tekinn er (í millígrömmum).

8. TVÍMÆLINGAGILDI (¹)

Ef ammóníakmagn er um 6% má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,6%.

AÐGREINING OG ÁKVÖRDUN NÍTRÓMETANS**1. UMFANG OG GILDISSVIÐ**

Þessi aðferð hentar til að aðgreina og ákvarða nítrómetan í allt að 0,3% magni í snyrtivörum í úðabrusum.

2. SKILGREINING

Nítrómetanmagn sýnisins sem er ákvarðað í samræmi við þessa aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa nítrómetans í heildarmagni úðabrusans.

3. MEGINREGLA

Nítrómetan er aðgreint með litahvarfi. Nítrómetan er ákvarðað með gasgreiningu eftir að innri staðli hefur verið bætt við.

4. AÐGREINING**4.1. Hvarfefni**

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1.1. Natríumhýdroxíð, 0,5 M lausn.

4.1.2. *Folin-hvarfefni*

0,1 g af natríum 3,4-díhýdró-3,4-díoxónaftalín-1-súlfónat er leyst upp í vatni og þynnt í 100 ml.

4.2. Vinnuaðferð

10 ml af 4.1.1 og 1 ml af 4.1.2 er bætt í 1 ml af sýninu. Ef nítrómetan er til staðar kemur fram fjólublár litur.

5. ÁKVÖRDUN**5.1. Hvarfefni**

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

(¹) ISO-staðall 5725.

- 5.1.1. Klóróform (innri staðall 1).
- 5.1.2. 2,4-dímetylheptan (innri staðall 2).
- 5.1.3. Etanól, 95%.
- 5.1.4. Nítrómetan.
- 5.1.5. *Tilvísunarlausn klóróforms*
Um 650 mg af klóróformi (5.1.1) eru settir í fyrirfram vegna 25 ml mælikolbu. Kolban er vegin nákvæmlega á ný með innihaldinu. Fyllt er að 25 ml markinu með 95% etanóli (5.1.3.). Hundradshluti klóróforms í þessari lausn miðað við massa er veginn og reiknaður út.
- 5.1.6. *Tilvísunarlausn 2,4-dímetylheptans*
Þessi lausn er tilreidd á sama hátt og tilvísunarlausn klóróforms en 270 mg af 2,4-dímetylheptan (5.1.2) eru vegin og sett í 25 ml mælikolbu.
- 5.2. **Búnaður**
- 5.2.1. Gasgreinir með logajónunarnema.
- 5.2.2. Búnaður fyrir sýnatöku úr úðabrusum (flutningsflaska, tengi fyrir smásprautur, o.s.frv.) eins og lýst er í II. kafla viðaukans við tilskipun framkvæmdastjórnarinnar 80/1335/EEB frá 22. desember 1980 ⁽¹⁾.
- 5.2.3. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu
- 5.3. **Vinnuaðferð**
- 5.3.1. *Undirbúningur sýnisins*
5 ml af innri staðallausnunum (5.1.5. eða í 5.1.6.) eru settir í vegna 100 ml flutningsflösku sem er hreinsuð eða lofttæmd samkvæmt aðferðinni í 5.4 í II. kafla ofangreindrar tilskipunar. Notuð er 10 eða 20 ml nálarlaus glersprauta sem er tengd við flutningstækið samkvæmt aðferðum sem lýst er í 5. lið í II. kafla ofangreindrar tilskipunar framkvæmdastjórnarinnar. Flaskan er vegin á ný til að ákvarða magn sýnisins sem sett hefur verið í hana. Sama aðferð er notuð til að flytja um 50 g af úðasýninu yfir í flöskuna. Flaskan er vegin enn á ný til að ákvarða magn sýnisins sem flutt er. Blandað er vel saman.
10 μ l er sprautað inn með því að nota smásprautuna (5.2.2) sem tilgreind var. Sprautað er inn fimm sinnum.
- 5.3.2. *Undirbúningur staðalsins*
Vegin eru nákvæmlega um 500 mg af nítrómetani (5.1.4) og annaðhvort 500 mg af klóróformi (5.1.1) eða 210 mg af 2,4-dímetylheptani (5.1.2) og sett í 50 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með 95% etanóli (5.1.3). Blandað vel saman. 5 ml af þessari lausn eru settir í 20 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með 95% etanóli (5.1.3).
10 μ l er sprautað inn með því að nota smásprautuna (5.2.2) sem tilgreind var. Sprautað er inn fimm sinnum.
- 5.3.3. *Aðstæður við gasgreiningu*
- 5.3.3.1. Súla
Súlan skiptist í tvo hluta og er fylliefni fyrri hlutans úr dídekýltalat á gaskrómi Q en þess síðara úkon 50 HB 280X á gaskrómi Q.

⁽¹⁾ Stjttíð. EB nr. L 383, 31. 12. 1980, bls. 27.

Aðgreining samsettu súlunnar skal vera þannig að „R“ sé jafnt og eða hærra en 1,5, þar sem:

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

þar sem:

r_1 og r_2 = rástími toppanna (í mínútum),
 w_1 og w_2 = breidd toppanna við hálfu hæð (í millímetrum),
 d' = hraði skrifarans (í millímetrum á mínútu).

Sem dæmi skila eftirfarandi tveir súluhlutar æskilegum niðurstöðum:

Súla A:

Efni: ryðfrítt stál

Lengd: 1,5 m

Þvermál: 3 mm

Fylliefni: 20% dídeýltalat á gaskrómi Q (100 – 120 mesh)

Súla B:

Efni: ryðfrítt stál

Lengd: 1,5 m

Þvermál: 3 mm

Fylliefni: 20% úkon 50 HB 280X á gaskrómi Q (100 – 120 mesh)

5.3.3.2.

Nemi

Hæfilegt nemi rafspennumælis logajónunarnemans er 8×10^{-10} A.

5.3.3.3.

Hiti

Eftirfarandi hiti hefur reynst hæfilegur:

Sýnishólf: 150°C,

Nemi: 150°C,

Súla: 50 – 80°C (fer eftir gerð súlu og búnaðar).

5.3.3.4.

Hæfilegt magn lofttegunda

Burðarlofttegund: köfnunarefni.

Þrýstingur: 2,1 bar.

Flæði: 40 ml/mín.

Aðstæður nema: eins og tilgreint er af framleiðanda nemans.

6.

ÚTREIKNINGAR

6.1.

Útslagsstuðull fyrir nítrómetan er reiknaður út frá innri staðlinum sem er notaður:

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

Ef „n“ stendur fyrir nítrómetan, er:

k_n = útslagsstuðull þess,

m'_n = massi þess í blöndunni í grömmum,

S'_n = flatarmál topps þess.

Ef „c“ stendur fyrir innri staðalinn, klóróform eða 2,4-dímetylhéptan, er:

m'_c = massi klóróforms eða 2,4-dímetylhéptan í blöndunni (í grömmum),

S'_c = flatarmál topps þess.

(k_n fer eftir því hvaða búnaður er notaður).

6.2.

Nítrómetanstyrkur sýnisins

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

Ef „n“ stendur fyrir nítrómetan, er:

k_n = útslagsstuðull þess,
 S_n = flatarmál topps þess.

Ef „c“ stendur fyrir innri staðalinn, klóróform eða 2,4-dímetylhéptan, er:

m_c = massi þess í blöndunni í grömmum.
 S_c = flatarmál topps þess,
 M = massi úðans í sýninu (í grömmum).

7. TVÍMÆLINGAGILDI ⁽¹⁾

Ef nítrómetanmagn er um 0,3% má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,03% (m/m).

AÐGREINING OG ÁKVÖRÐUN MERKAPTÓEDIKSÝRU Í HÁRLIÐUNAR- OG AFLIÐUNARVÖRUM OG HÁREYÐINGARVÖRUM

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Hér er lýst aðferð til að aðgreina og ákvarða merkaptóediksýru í hárlíðunar- og aflíðunarvörum og háreyðingarvörum þar sem önnur afoxandi efni geta verið til staðar.

2. SKILGREINING

Magn merkaptóediksýrunnar í sýninu sem er ákvarðað í samræmi við þessa aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa merkaptóediksýrunnar.

3. MEGINREGLA

Merkaptóediksýra er aðgreind með athugun bletta og þunnlagsskiljun og ákvörðuð með joðtítrun eða gasgreiningu.

4. AÐGREINING

4.1. Aðgreining með athugun bletta

4.1.1. Hvarfefni

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1.1.1. Blý-dí(asetat)pappír.

4.1.1.2. Saltsýrulausn (einn rúmmálshluti af óblandaðri saltsýru að viðbættum einum rúmmálshluta af vatni).

4.1.2. Vinnuáðferð

4.1.2.1. Aðgreining merkaptóediksýru með litahvarfi með blý-dí(asetati)

Einn dropi af sýninu sem greina á er settur á blý-dí(asetat)pappír (4.1.1.1). Merkaptóediksýra er líklega til staðar ef sterkur gulur litur kemur fram.

Næmi: 0,5%.

4.1.2.2. Aðgreining ólífrænna súlfíða með myndun vetnissúlfíðs með því að bæta sýru út í sýnið

Nokkur millígrömm af sýninu sem rannsaka á eru sett í tilraunaglas. 2 ml af eimuðu vatni og 1 ml af saltsýru (4.1.1.2) er bætt út í.

⁽¹⁾ ISO-staðall 5725.

Vetnissúlfíð, sem þekkt á lyktinni, myndast og svartar útfellingar á blý-dí(asetat)pappírnum (4.1.1.1).
Næmi: 50 ppm.

- 4.1.2.3. Aðgreining súlfíða með myndun brennisteinsdíoxíðs með því að bæta sýru út í sýnið
Aðgreiningunni er haldið áfram eins og lýst er í 4.1.2.2. Lausnin er hituð að suðu. Brennisteinsdíoxíðið þekkt á lyktinni og afoxandi eiginleikum sínum, t.d. að því er tekur til permanganatjóna.
- 4.2. **Greining með þunlagsskiljun**
- 4.2.1. *Hvarfefni*
- Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika, nema annað sé tekið fram.
- 4.2.1.1. Merkaptóediksýra (þióglýkóllsýra), lágmarkshreinleiki 98%, ákvarðað með joðtíturun.
- 4.2.1.2. 2,2'-díþíodí(ediksýra), lágmarkshreinleiki 99%, ákvarðað með joðtíturun.
- 4.2.1.3. 2-merkaptóprópiónsýra (þíómjólkursýra), lágmarkshreinleiki 95%, ákvarðað með joðtíturun.
- 4.2.1.4. 3-merkaptóprópiónsýra, lágmarkshreinleiki 98%, ákvarðað með joðtíturun.
- 4.2.1.5. 3-merkaptóprópan-1,2-díól (1-þióglýseról), lágmarkshreinleiki 98%, ákvarðað með joðtíturun.
- 4.2.1.6. Þunlagsplötur, kísilhlaup, tilbúnar, 0,25 mm á þykkt.
- 4.2.1.7. Þunlagsplötur, áloxíð, *Merck F 254 E* eða sambærilegt.
- 4.2.1.8. Saltsýra, óblönduð, ($d_4^{20} = 1,19$ g/ml).
- 4.2.1.9. Etýlasetat.
- 4.2.1.10. Klóróform.
- 4.2.1.11. Díísóprópýleter.
- 4.2.1.12. Koltetraklóríð.
- 4.2.1.13. Ísedik.
- 4.2.1.14. Kalíumjoðíð, 1% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.15. Platínutetraklóríð, 0,1% lausn í vatni (m/v).
- 4.2.1.16. Ferðafasi
- 4.2.1.16.1. Etýlasetat (4.2.1.9), klóróform (4.2.1.10), díísóprópýleter (4.2.1.11), ediksýra (4.2.1.13) (20 : 20 : 10 : 10, miðað við rúmmál).
- 4.2.1.16.2. Klóróform (4.2.1.10), ediksýra (4.2.1.13) (90 : 20, miðað við rúmmál).
- 4.2.1.17. Framköllunarefni
- 4.2.1.17.1. Rétt fyrir notkun er sama rúmmáli af lausn í 4.2.1.14 og lausn í 4.2.1.15 blandað saman.
- 4.2.1.17.2. Brómlausn, 5% (m/v):
5 g af brómi eru leyst upp í 100 ml af koltetraklóríði (4.2.1.12).
- 4.2.1.17.3. Flúoresínlausn, 0,1% (m/v):
100 mg af flúoresíni eru leyst upp í 100 ml af etanóli.
- 4.2.1.17.4. Hexaammóníumheptamólybdat, 10% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.18. Tilvísunarlausnir
- 4.2.1.18.1. Merkaptóediksýra (4.2.1.1), 0,4% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.18.2. 2,2'-díþíodí(edik)sýra (4.2.1.2), 0,4% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.18.3. 2-merkaptóprópiónsýra (4.2.1.3), 0,4% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.18.4. 3-merkaptóprópiónsýra (4.2.1.4), 0,4% lausn (m/v) í vatni.
- 4.2.1.18.5. 3-merkaptóprópan-1,2-díól (4.2.1.5), 0,4% lausn (m/v) í vatni.

- 4.2.2. **Búnaður**
Venjulegur búnaður fyrir þunnlagsskiljun.
- 4.2.3. **Vinnuaðferð**
- 4.2.3.1. **Meðferð sýna**
Sýnin eru sýrð með nokkrum dropum af saltsýru (4.2.1.8.) uns pH verður 1 og síuð ef þörf krefur.
Í sérstökum tilvikum kann að vera rétt að þynna sýnið. Ef sýnið er þynnt er rétt að sýra það með saltsýru áður.
- 4.2.3.2. **Skiljun**
1 μ l af sýnisláusninni (4.2.3.1) og 1 μ l af hverri tilvísunarlausnanna (4.2.1.18) fimm er sett á þunnlagsplötuna. Platan er þurrkuð gætilega við vægan köfnunarefnisblástur og síðan látin í ílát með ferðafösum (4.2.1.16.1 eða 4.2.1.16.2). Platan er síðan þurrkuð eins fljótt og auðið er til að halda oxun þíóls í lágmarki.
- 4.2.3.3. **Framköllun**
Platan er úðuð með einu þriggja hvarfefnanna (4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 eða 4.2.1.17.4). Ef platan er úðuð með hvarfefni (4.2.1.17.3), er hún einnig meðhöndluð með brómgufu (t.d. í íláti sem inniheldur lítið bikarglas af framköllunarefni (4.2.1.17.2)) uns blettirnir koma fram. Framköllun með úðafefninu (4.2.1.17.4) er því aðeins möguleg að þunnlagsplatan sé ekki þurrkuð lengur en í 30 mínútur.
- 4.2.3.4. **Túlkun niðurstaðna**
Borin eru saman Rf-gildi bletta og litir tilvísunarlausnanna og sýnalausnanna. Meðaltal Rf-gildanna sem talin eru upp hér að neðan í upplýsingaskyni hafa einungis samanburðargildi. Þau eru háð:
- virkni stöðufasa plötunnar við skiljun,
 - hita í skiljunarlátinu.

Dæmi um Rf-gildi sem komu fram á kísilhlaupsplötu

	Ferðafasar	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Merkaptóediksýra	0,25	0,80
2-merkaptóprópiónsýra	0,40	0,95
2,2'-díþíódí(edik)sýra	0,00	0,35
3-merkaptóprópiónsýra	0,45	0,95
3-merkaptóprópan-1,2-díól	0,45	0,35

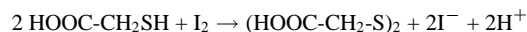
5. ÁKVÖRÐUN (sjá Ath.)

Ákvörðunin ætti alltaf að hefjast á joðtítrun.

5.1. Joðtítrun

5.1.1. MEGINREGLA

Ákvörðun fer fram með því að oxu „-SH“-hópin með joði í súrum miðli samkvæmt jöfnunni:



5.1.2. Hvarfefni

Joð, 0,05 M staðallausn.

Ath.: Ákvörðun merkaptóediksýru verður að fara fram á ónotaðri vöru úr íláti sem opnað er rétt áður en sýnið er tekið til að koma í veg fyrir oxun.

5.1.3. *Búnaður*

Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.

5.1.4. *Vinnuaðferð*

Vegið er nákvæmlega 0,5 – 1 g af sýninu og sett í 150 ml Erlenmeyer-kolbu með tappa sem inniheldur 50 ml af eimuðu vatni. 5 ml af saltsýru (4.1.1.2) (pH-gildi lausnar um 0) er bætt út í og títrað með joðlausn (5.1.2) uns gulur litur kemur fram. Notaður er litvísir (t.d. sterkjulausn eða koltetraklóríð) ef þörf krefur.

5.1.5. *Útreikningar*

Merkaptóediksýrumagn er reiknað út samkvæmt formúlunni:

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

þar sem:

m = massi prófsýnisins (í grömmum),

n = rúmmál joðlausnarinnar (5.1.2.) sem notuð er.

5.1.6. *Athugasemdir*

Ef niðurstaðan, reiknuð sem merkaptóediksýra, er 0,1% eða enn lægri en leyfilegur hámarksstyrkur er óþarfi að framkvæma frekari ákvarðanir. Ef niðurstaðan er jöfn eða yfir leyfilegum hámarksstyrk og ef greining leiðir í ljós að nokkur afoxunarefni eru til staðar er nauðsynlegt að framkvæma gasgreiningu.

5.2. **Gasgreining**5.2.1. **MEGINREGLA**

Merkaptóediksýra er skilin frá burðarefninu við útfellingu með kadmíumdí(asetat)lausn. Eftir metýleringu með díásómetani, sem annaðhvort er tilreitt á staðnum eða fyrirfram í díetýleterlausn, er metýlflaða merkaptóediksýrunnar mæld með gasgreiningu eða vökvaskiljun og metýloktaóat notað sem innri staðall.

5.2.2. **Hvarfefni**

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

5.2.2.1. Merkaptóediksýra, 98%.

5.2.2.2. Saltsýra, ($d_4^{20} = 1,19$ g/ml).

5.2.2.3. Metanól.

5.2.2.4. Kadmíumdí(asetat)díhýdrat, 10% lausn (m/v) í vatni.

5.2.2.5. Metýloktaóat, 2% lausn (m/v) í metanóli.

5.2.2.6. Asetatjafnalausn (pH-gildi 5):
Natríumasetatríhýdrat, 77 g.
Ísedik, 27,5 g.
Afjónað vatn, heildarrúmmál: 1 lítri.

5.2.2.7. Saltsýra, 3 M lausn í metanóli (5.2.2.3), nýlögð.

5.2.2.8. 1-metýl-3-nítró-1-nítrósógúanídín.

5.2.2.9. Natríumhýdroxíð, lausn, 5 M.

5.2.2.10. Joð, stöðluð lausn, 0,05 M.

- 5.2.2.11. Díetýleter.
- 5.2.2.12. Díasómetanlausn, tilreidd úr *N*-metýl-*N*-nítrosótólúen-4-súlfónamíð (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)
- Lausnin sem fæst inniheldur um 1,5 g af díasómetani í 100 ml af díetýleter. Díasómetan er eitruð og mjög óstöðug lofttegund og verður því að framkvæma allar tilraunir í mjög góðum stinkskápi og forðast notkun slípaðs glerbúnaðar (til er sérstakur búnaður í þessum tilgangi).
- 5.2.3. *Búnaður*
- 5.2.3.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu
- 5.2.3.2. Búnaður fyrir tilreiðslu díasómetans fyrir metýleringu á staðnum (sjá Fales, H. M., Jaouni, T. M. og Babashak, J. F., *Analyt. Chem.* 45, 1973, 2302).
- 5.2.3.3. Búnaður fyrir tilreiðslu díasómetanlausnar fyrirfram (*Fieser*).
- 5.2.4. *Undirbúningur sýnisins*
- Nógu mikið magn af sýninu, sem áætlað er að innihaldi 50 - 70 mg af merkaptóediksýru, er vegið nákvæmlega og sett í 50 ml miðflótttaafsskiljuglas. Lausnin er sýrð með nokkrum dropum af saltsýru (5.2.2.2) uns pH verður um 3.
- Bætt er við 5 ml af afjónuðu vatni og 10 ml af asetatjafnalausn. (5.2.2.6).
- Athugað er með pH-pappír hvort sýrustigið sé um 5. Síðan er 5 ml af kadmíum dí(asetat)lausn (5.2.2.4) bætt út í.
- Beðið er í 10 mínútur og síðan er lausnin skilin í miðflótttaafsskilju í að minnsta kosti 15 mínútur við 4 000 g. Flotið, sem getur innihaldið torleysta fitu, er fjarlægt (ef um er að ræða krem). Ekki er hægt að rugla þessari fitu saman við þíólin sem mynda samþjappaðan massa á botni glassins. Gengið er úr skugga um hvort einhver botnfelling eigi sér stað þegar nokkrum dropum af kadmíumdí(asetat)lausn (5.2.2.4) er bætt út í flotið.
- Í þeim sýnum þar sem fyrri greiningar gáfu til kynna að engin önnur afoxunarefni en þíól væru til staðar er með jodtítrun gengið úr skugga um að þíólið sem er til staðar í flötinu sé ekki meira en 6 – 8% af upprunalega magninu.
- 10 ml af metanóli (5.2.2.3) er bætt út í miðflótttaafsskiljuglasið með botnfallinu og því blandað varlega saman við með hræripinna. Lausnin er skilin aftur í miðflótttaafsskilju í að minnsta kosti 15 mínútur við 4 000 g. Flötinu er hellt af og gengið úr skugga um með jodtítrun hvort lausnin innihaldi þíól. Botnfallið er þvegið í annað sinn á sama hátt.
- Í sama miðflótttaafsskiljuglasið eru settir:
- 2 ml af metýloktanóatlausn (5.2.2.5),
 - 5 ml af saltsýru í metanóli (5.2.2.7).
- Þíólin eru leyst upp að fullu (smáskammtur af torleystu efni úr bindiefninu gæti orðið eftir). Þetta er lausn „S“.
- Gengið er úr skugga um með jodtítrun, á hluta lausnarinnar, hvort magn þíóla sé að minnsta kosti 90% af því sem fékkst í 5.1.
- 5.2.5. *Metýlering*
- Metýlering er framkvæmd annaðhvort á staðnum (5.2.5.1) eða með því að nota fyrirfram tilreidda díasómetanlausn (5.2.5.2).
- 5.2.5.1. *Metýlering á staðnum*
- 50 μ l af lausn „S“ er sett í metýleringarbúnað (5.2.3.2) sem inniheldur 1 ml af eter (5.2.2.11) og metýlerað með um 300 mg af 1-metýl-3-nítro-1-nítrosógúanídín (5.2.2.8) samkvæmt aðferðinni í 5.2.3.2. Að 15 mínútum liðnum (eterlausnin ætti að vera gul og

gefa til kynna umframmagn díásómetans) er sýnislausnin flutt yfir í 2 ml flösku með tappa. Flaskan er sett í kælikáp yfir nótt. Metýlering er framkvæmd á tveim sýnum samtímis.

- 5.2.5.2. *Metýlering með fyrirfram tilreiddri díásómetanlausn*
1 ml af díásómetanlausn (5.2.2.12) er sett í 5 ml flösku með tappa, síðan er 50 μ l af lausn „S“ bætt út í. Flaskan er geymd í kælikáp yfir nótt.
- 5.2.6. *Tilreiðsla staðals*
Tilreidd er staðallausn merkaptóediksýru (5.2.2.1) með þekktum styrk sem inniheldur um 60 mg af hreinni merkaptóediksýru (5.2.2.1) í 2 ml.
Þetta er lausn „E“.
Lausnin er látin botnfalla og hreinsuð eins og lýst er í 5.2.4 og síðan metýlerað samkvæmt 5.2.5 .
- 5.2.7. *Aðstæður við gasgreiningu*
- 5.2.7.1. *Súla*
Gerð: ryðfrítt stál.
Lengd: 2 m.
Þvermál: 3 mm.
- 5.2.7.2. *Fylliefni*
20% dídekýltalat/krómósorb, WAW 80 – 100 mesh.
- 5.2.7.3. *Nemi*
Logajónunarnemi. Hæfilegt næmi rafspennumælis logajónunarnemans er 8×10^{-10} A.
- 5.2.7.4. *Hæfilegt magn lofttegunda*
Burðarlofttegund: köfnunarefni.
þrýstingur: 2,2 bar,
flæði: 35 ml/mín.
Stuðningslofttegund: vetni.
þrýstingur: 1,8 bar,
flæði: 15 ml/mín.

Aðstæður nema: eins og tilgreint er af framleiðendum búnaðarins.
- 5.2.7.5. *Hiti*
Sýnishólf: 200°C
Nemi: 200°C
Súla: 90°C.
- 5.2.7.6. *Hraði skrifara*
5 mm/mín.
- 5.2.7.7. *Magn sem sprautað er inn*
3 μ l sprautað inn fimm sinnum.
- 5.2.7.8. *Leiðbeiningarupplýsingar eru gefnar um aðstæður við gasgreiningu. Aðgreining súlunnar skal vera þannig að „R“ sé jafnt og eða hærra en 1,5, þar sem:*

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

þar sem:

r_1 og r_2 = rástími toppanna (í mínútum),

w_1 og w_2 = breidd toppanna við hálfu hæð (í millímetrum),

d' = hraði skrifarans (í millímetrum á mínútu).

Ráðlagt er að ljúka greiningunni með því að hækka hitann úr 90 í 150°C, um 10°C á mínútu, til þess að fjarlægja efni sem geta haft truflandi áhrif á mælingar sem á eftir fara.

- 5.2.8. *Útreikningar*
- 5.2.8.1. *Hlutfallsstuðull fyrir merkaptóediksýru*
Hlutfallsstuðullinn K_i fyrir merkaptóediksýru er reiknaður út með tilliti til metýloktanóats á grundvelli staðalblöndu:

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

Ef „t“ stendur fyrir merkaptóedíksýru, er:

k_t = hlutfallsstuðull hennar,
 m'_t = massi hennar í blöndunni í (millígrömmum),
 S'_t = flatarmál topps hennar.

Ef „c“ stendur fyrir metýloktanóat, er:

m'_c = massi þess í sýninu (í millígrömmum),
 S'_c = flatarmál topps þess.

Stuðullinn k_1 er breytilegur eftir því hvaða búnaður er notaður.

5.2.8.2 Styrkur merkaptóedíksýrunnar í sýninu

Merkaptóedíksýrumagn sem gefið er upp sem hundradshluti miðað við massa (% m/m) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

Ef „t“ stendur fyrir merkaptóasetýru, er:

k_t = hlutfallsstuðull hennar,
 S_t = flatarmál topps hennar.

Ef „c“ stendur fyrir metýloktanóat, er:

m_c = massi þess í blöndunni (í millígrömmum),
 S_c = flatarmál topps þess.
 M = massi upprunalega prófsýnisins (í millígrömmum).

6. TVÍMÆLINGAGILDI ⁽¹⁾

Ef merkaptóedíksýrumagn er 8% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,8% (m/m).

AÐGREINING OG ÁKVÖRDUN HEXAKLÓRFENS

A. AÐGREINING

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Þessi aðferð er hentug fyrir allar snyrtivörur.

2. MEGINREGLA

Hexaklórfen í sýninu er dregið út með etýlasetati og greint með þunnlagsskiljun.

3. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

3.1. Brennisteinssýra, 4 M lausn.

3.2. Selít AW.

3.3. Etýlasetat.

⁽¹⁾ ISO-staðall 5725.

- 3.4. Ferðafasi: bensen sem inniheldur 1% af ísediki (v/v).
- 3.5. Framköllunarefni I:
Ródamín B-lausn: 100 mg af ródamín B eru leyst upp í blöndu af 150 ml af díetýleter, 70 ml af hreinu etanóli og 16 ml af vatni.
- 3.6. Framköllunarefni II:
2,6-díbróm-4-(klórómínó)sýklóhexa-2,5-díenón-lausn: 400 mg af 2,6(díbróm-4-(klórómínó)sýklóhexa-2,5-díenón eru leyst upp í 100 ml af metanóli (laga þarf nýja lausn daglega).
Natríumkarbónatlausn: 10 g af natríumkarbónati eru leyst upp í 100 ml af afjónuðu vatni.
- 3.7. Tilvísunarlausn:
Hexaklórfen, 0,05% lausn (m/v) í etýlasetati.
4. BÚNAÐUR
- 4.1. Kísilhlaup 254, þunnlagsplötur, 200 × 200 mm (eða sambærilegar plötur).
- 4.2. Venjulegur búnaður fyrir þunnlagsskiljun.
- 4.3. Hitabað, stillt á 26°C fyrir þunnlagsskiljunarlátíð.
5. UNDIRBÚNINGUR SÝNISINS
- 5.1. 1 g af einsleitu sýni er blandað vandlega saman við 1 g af Selíti AW (3.2) og 1 ml af brennisteinssýru (3.1).
- 5.2. Þurrkað er við 100°C í tvær klukkustundir.
- 5.3. Eftir kælingu eru þurrkaðar leifarnar muldar í fínt duft.
- 5.4. Útdráttur er framkvæmdur tvisvar með 10 ml af etýlasetati (3.3), eftir hvorm útdrátt er skilið í miðflótta-aflsskilju og etýlasetatlögin sameinuð.
- 5.5. Etýlasetatið er látið gufa upp við 60°C.
- 5.6. Leifarnar eru leystar upp í 2 ml af etýlasetati (3.3).
6. VINNUAÐFERÐ
- 6.1. 2 µl af sýnislausninni (5.6) og 2 µl af tilvísunarlausninni (3.7) eru settir á þunnlagsplötu (4.1).
- 6.2. Þunnlagsskiljunarlátíð er mettað (4.3) með ferðafasanum (3.4).
- 6.3. Þunnlagsplatan er sett í flátíð og höfð þar uns ferðafasinn hefur færst fram um 150 mm.
- 6.4. Platan er tekin upp úr flátinu og þurrkuð í loftræstum ofni við um 105°C.
- 6.5. *Framköllun blettanna*
Hexaklórfenblettirnir á þunnlagsplötunni eru framkallaðir eins og um getur í 6.5.1 eða 6.5.2.

- 6.5.1. Framköllunarefni I (3.5) er úðað jafnt á plötuna. Að 30 mínútum liðnum er platan skoðuð undir útfjólubláu (UV) ljósi við 254 nm bylgjulengd.
- 6.5.2. 2,6-díbróm-4-(klórómínó)sýklóhexa-2,5-díenónlausn framköllunarefnis II (3.6) er úðað jafnt á plötuna. Því næst er platan úðuð með natríumkarbónatlausn (3.6). Hún er síðan skoðuð í dagsbirtu eftir 10 mínútna þurrkun við stofuhita.

7. TÚLKUN

7.1. Framköllunarefni I (3.5):
Hexaklórfen kemur fram sem bláleitur blettur á gulappelsínugulum flúrljómandi grunni með Rf-gildi um 0,5.

7.2. Framköllunarefni II (3.6):
Hexaklórfen kemur fram sem himinblár eða túrkíslitaður blettur á hvítum grunni með Rf-gildi um 0,5.

B. ÁKVÖRDUN

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Aðferð þessi á við um allar tegundir snyrtivara.

2. SKILGREINING

Hexaklórfenmagn sýnisins sem er ákvarðað samkvæmt þessari aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa.

3. MEGINREGLA

Hexaklórfen er ákvarðað, eftir umbreytingu í metýlafleiðu, með gasgreiningu og greiningu með raf-eindahreppingu.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1. Etýlasetat.

4.2. *N*-metýl-*N*-nítrosó-*p*-tólúensúlfónamíð (dífasald).

4.3. Díetýleter.

4.4. Metanól.

4.5. 2-(2-etoxýetoxý)etanól (karbítól).

4.6. Maurasýra.

4.7. Kalíumhýdroxíð, 50% vatnslausn (m/m) (laga þarf nýja blöndu daglega).

- 4.8. Hexan fyrir litrófsmælingu.
- 4.9. Brómklórfen (staðall nr. 1).
- 4.10. 4,4',6,6'-tetraklór-2,2'-þíódífenól (staðall nr. 2).
- 4.11. 2,4,4'-tríklór-2-hýdroxýdífenýleter (staðall nr. 3).
- 4.12. Aseton.
- 4.13. 4 M brennisteinssýra.
- 4.14. Selít AW.
- 4.15. Maurasýra/etýlasetat, 10% lausn (v/v).

4.16. Hexaklórfen.

5. BÚNAÐUR

- 5.1. Venjulegur glerbúnaður rannsóknarstofu.
- 5.2. Smábúnaður fyrir tilreiðslu díasómetans (*Analyt. Chem.*, 45, 1973, 2302-2).
- 5.3. Gasgreinir með nema, 63 nikkell, til rafeindahreppingar.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. Tilreiðsla staðallausnarinnar

Innri staðall er valinn þannig að hann hafi ekki truflandi áhrif á efni í burðarefni vörunnar sem á að greina. Venjulega er staðall nr. 1 notaður (4.9).

- 6.1.1. Vegin eru nákvæmlega um 50 mg af staðli nr. 1, 2 eða 3 (4.9, 4.10 eða 4.11) og 50 mg af hexaklórfeni (4.16) og sett í 100 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með etýlasetati (4.1), (lausn A). 10 ml af lausn A eru þynntir með etýlasetati (4.1) í 100 ml, (lausn B).
- 6.1.2. Vegin eru nákvæmlega um 50 mg af staðli nr. 1, 2 eða 3 (4.9, 4.10 eða 4.11) og sett í 100 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með etýlasetati (4.1), (lausn C).

6.2. Undirbúningur sýnisins ⁽¹⁾

Vegið er nákvæmlega um 1 g af einsleitu sýni og blandað vandlega saman við 1 ml af brennisteinssýru (4.13), 15 ml af asetoni (4.12) og 8 g af Selíti AW (4.14). Blandan er loftþurrkuð í 30 mínútur í gufubaði og síðan þurrkuð í loftræstum ofni í eina og hálfu klukkustund. Hún er því næst kæld, leifarnar muldar í fínt púður og fluttar yfir í glersúlu.

⁽¹⁾ Þar eð hexaklórfen finnst í mörgum mismunandi vörutegundum er mikilvægt að athuga heimtur þess úr sýninu samkvæmt þessari aðferð áður en niðurstöðurnar eru skráðar. Ef heimtur eru rýrar er hægt að gera ákveðnar breytingar, t.d. breyta um leysiefni (nota bensen í stað etýlasetats) með samþykki þeirra sem málið varðar.

Etýlasetat (4.1) er látið renna gegnum súluna og 100 ml safnað. 2 ml af innri staðallausn, (lausn C) (6.1.2), er bætt út í.

6.3. Metýlering sýnisins

Öll hvarfefni og allur búnaður er kældur niður í 0 – 4°C í tvær klukkustundir. 1,2 ml af lausninni sem tilreidd er samkvæmt 6.2 og 0,1 ml af metanóli (4.4) er sett í ytra hólf díasómetansbúnaðarins. 200 mg af díasaldi (4.2) eru settir í miðhólfið, 1 ml af karbítóli (4.5) og 1 ml af díetýleter (4.3) er bætt út í og leyst upp. Búnaðurinn er settur saman, honum hálfkýft í vatnsbað við 0°C og 1 ml af kældri kalíumhýdroxíðlausn (4.7) sprautað inn í miðhólfið. Tryggt skal að guli liturinn sem verður til við myndun díasómetans haldist. Ef guli liturinn helst ekki er metýleringin endurtekin með 200 mg af díasaldi (4.2) til viðbótar ⁽¹⁾.

Búnaðurinn er tekinn upp úr vatnsbaðinu eftir 15 mínútur og látinn standa lokaður við stofuhita í 12 klukkustundir. Búnaðurinn er opnaður og umframmagn díasómetansins látið hvarfast með því að bæta út í nokkrum dropum af 10% maurasýrulausn (v/v) í etýlasetati (4.15) og því næst er lífræna lausnin færð yfir í 25 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með hexani (4.8).

1,5 µl af þessari lausn er sprautað inn í gasgreininn.

6.4. Metýlering staðalsins

Öll hvarfefni og allur búnaður er kældur niður í 0 – 4°C í tvær klukkustundir. Í ytra hólf díasómetansbúnaðarins eru settir:

0,2 ml af lausn B (6.1.1),
1 ml af etýlasetati (4.1),
0,1 ml af metanóli (4.4).

Metýlering er því næst framkvæmd eins og lýst er í 6.3. 1,5 µl af lausninni sem fæst við hvarfið er sprautað inn í gasgreininn.

7. GASGREINING

Aðgreining súlunnar skal vera þannig að „R“ sé jafnt og eða hærra en 1,5, þegar:

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

þar sem:

r_1 og r_2 = rástími toppanna (í mínútum),
 w_1 og w_2 = breidd toppanna við hálfá hæð (í millímetrum),
 d' = hraði skrifarans (í millímetrum á mínútu).

Eftirfarandi aðstæður við gasgreiningu hafa reynst heppilegar:

Gerð súlu: ryðfrítt stál.

Lengd: 1,7 m.

Þvermál: 3 mm.

Burðarefni:

krómósorb: WAW

kornastærð: 80 – 100 mesh

Stöðufasi: OV-17, 10%.

Hiti:

súla : 280°C,

sýnishólf: 280°C,

nemi: 280°C.

Burðarlofttegund: súrefnislaust köfnunarefni.

Þrýstingur: 2,3 bar.

Flæði : 30 ml/mín.

⁽¹⁾Ef guli liturinn helst er það merki um umframmagn díasómetans sem er nauðsynlegt til að tryggja að sýnið verði alveg metýlerað

8. ÚTREIKNINGAR

8.1. Hlutfallsstuðull hexaklórfens

Hlutfallsstuðullinn K_h fyrir hexaklórfen er reiknaður út með tilliti til staðalsins sem er valinn í tengslum við staðalblönduna:

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

þar sem:

h = hexaklórfen,
 k_h = hlutfallsstuðull,
 m'_h = massi í blöndunni (í grömmum),
 A'_h = flatarmál topps,
 s = staðallinn sem valinn er,
 m'_s = massi í blöndunni (í grömmum),
 A'_s = flatarmál topps.

8.2. Hexaklórfenmagn sýnisins sem gefið er upp sem hundraðshluti miðað við massa (% m/m) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

h = hexaklórfen,
 k_h = hlutfallsstuðull,
 A_h = flatarmál topps,
 s = staðallinn sem valinn er,
 m_s = massi í blöndunni (í grömmum),
 A_s = flatarmál topps,
 M = massi sýnisins sem tekið er (í grömmum).

9. TVÍMÆLINGAGILDI (¹)

Ef hexaklórfenmagn er um 8% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,005% (m/m).

**MAGNÁKVÖRDUN NATRÍUMTÓSÝLKLÓRAMÍÐS (INN)
(KLÓRAMÍN-T)**

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Aðferð þessi lýsir magnákvörðun natríumtósýlklóramíðs (klóramín-t) í snyrtivörum með þunnlagsskiljun.

(¹) ISO-staðall 5725.

2. SKILGREINING

Magn klóramíns-T í sýninu sem ákvarðað er með þessari aðferð er gefið upp sem hundraðshluti miðað við massa (m/m).

3. MEGINREGLA

Klóramín-T er vatnsrofið að fullu með því að sjóða það í saltsýru þannig að 4-tólúensúlfónamíð myndist.

Magn 4-tólúensúlfónamíðs sem myndast er ákvarðað með ljóspéttnimælingu eftir að þunnlagsskiljun hefur farið fram.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1. Natríumtósýlklóramíð (klóramín-T).

4.2. Staðallausn 4-tólúensúlfónamíðs: 50 mg af 4-tólúensúlfónamíði í 100 ml af etanóli (4.5).

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

4.4. Díetýleter.

4.5. Etanól, 96% (v/v).

4.6. Ferðafasi

4.6.1. 1-bútanól/etanól (4.5) /vatn (40 : 4 : 9; v/v/v), eða

4.6.2. Klóróform/aseton (6 : 4; v/v).

4.7. Tilbúin þunnlagsplata, kísilhlaup 60, án flúrljómunarlitvísis.

4.8. Kalíumpermanganat.

4.9. Saltsýra, 15% (m/m).

4.10. Úðahvarfefni: 2-tólúídín, 1% lausn (m/v) í etanóli (4.5).

5. BÚNAÐUR

5.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.

5.2. Venjulegur búnaður fyrir þunnlagsskiljun.

5.3. Ljóspéttnimælir.

6. VINNUAÐFERÐ

6.1. **Vatnsrof**

Vegið er nákvæmlega um það bil 1 g af sýninu (m) og sett í 50 ml kolbu með kúlulaga botni. Bætt er við 5 ml af vatni og 5 ml af saltsýru (4.3) og látið sjóða í eina klukkustund og til þess notaður endurstreymisþéttir. Heit sviflausnin er þegar í stað flutt í vatni yfir í 50 ml mælikolbu. Kolban er kæld og fyllt að markinu með vatni. Því næst er innihald kolbunnar skilið í miðflóttaaflsskilju við að minnsta kosti 3 000 snún/mín í fimm mínútur og flotið látið renna í gegnum síu.

6.2. **Útdráttur**

6.2.1. 30 ml af síuvökvanum eru dregnir út þrisvar með 15 ml af díetýleter (4.4). Eterfasarnir eru þurrkaðir ef nauðsyn krefur og síðan safnað í 50 ml mælikolbu. Fyllt er að markinu með díetýleter (4.4).

6.2.2. 25 ml eru teknir af þurrkaða eterútdrættinum og eterinn látinn gufa upp við köfnunarefnisblástur. Leifarnar eru leystar upp á ný í 1 ml af etanóli (4.5).

6.3. **Þunnlagsskiljun**

6.3.1. 20 μ l af etanóleifunum (6.2) eru settir á þunnlagsplötuna (4.7).

8, 12, 16 og 20 μ l af staðallausn 4-tólúensúlfónamíðsins (4.2) eru settir, samtímis og á sama hátt, á plötuna.

6.3.2. Platan er síðan höfð í íláti með ferðafasa (4.6.1 eða 4.6.2) uns hann hefur færst fram um 150 mm.

6.3.3. Þegar leysiefnið hefur gufað upp að fullu er platan sett í klórgas í tvær til þrjár mínútur sem framleitt er með því að hella um 100 ml af saltsýru (4.9) yfir um 2 g af kalíumpermanganati (4.8) í lokuðu hylki. Umframklór er fjarlægður með því að hita plötuna upp í 100°C í fimm mínútur. Platan er síðan úðuð með hvarfefninu (4.10).

6.4. **Mæling**

Eftir um það bil eina klukkustund eru fjólubláu blettirnir mældir með ljóspéttnimæli við 525 nm bylgjulengd.

6.5. **Kvörðunarferlar teiknaðir**

Gildi fyrir hámarkshæð toppa fjögurra staðal-4-tólúensúlfónamíðbletta eru teiknuð sem fall af samsvarandi magni 4-tólúensúlfónamíðs (þ.e. 4, 6, 8, 10 μ g af 4-tólúensúlfónamíð fyrir hvern blett).

7. ATHUGASEMD

Hægt er að sannprófa aðferðina með því að nota 0,1 eða 0,2% lausn (m/v) af klóramín-T (4.1) sem meðhöndluð er á sama hátt og sýnið (6.).

8. ÚTREIKNINGAR

Magn klóramíns-T sem gefið er upp sem hundradshluti miðað við massa er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

- 1,33 = breytistuðull fyrir 4-tólúensúlfónamíð-klóramín-T,
a = magn 4-tólúensúlfónamíðs (í μl) í sýninu sem lesið er af kvörðunarferlunum.
m = massi sýnisins sem tekið er (í grömmum).

9. TVÍMÆLINGAGILDI (¹)

Ef magn klóramíns-T er um 0,2% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,03% (m/m).

ÁKVÖRDUN HEILDARMAGNS FLÚORS Í TANNKREMI

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Aðferð þessi er ætluð til að ákvarða heildarmagn flúors í tannkremi. Hún er hentug fyrir flúormagn sem fer ekki yfir 0,25%.

2. SKILGREINING

Flúormagn sýnisins sem er ákvarðað samkvæmt þessari aðferð er gefið upp sem hundradshluti miðað við massa.

3. MEGINREGLA

Ákvörðunin er framkvæmd með gasgreiningu. Flúori, úr efnasamböndum sem innihalda flúor, er breytt í trítýlflúorsílan (TEFS) með hvarfi við klórtrítýlsílan (TECS) í súrri lausn og um leið dregið út með sýleni sem hefur sýklóhexan sem innri staðal.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

4.1. Natríumflúoríð, þurrkað við 120°C uns stöðugum massa er náð.

4.2. Tvíeimað vatn eða vatn af sambærilegum gæðum.

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

4.4. Sýklóhexan (CH).

4.5. Sýlen: toppar mega ekki koma fram á grafinu á undan toppum leysiefnisins þegar skiljun fer fram við sömu skilyrði og þegar sýnið (6.1) er annars vegar. Ef þörf krefur er sýlenið hreinsað með eimingu (5.8).

(¹) ISO-staðall 5725.

- 4.6. Klórtríetýlsílan (TECS MERCK eða sambærilegt efni).
- 4.7. **Staðallausnir flúors**
- 4.7.1. Stofnlausn, 0,250 mg F⁻/ml. Vegið er nákvæmlega 138,1 mg af natríumflúoríði (4.1) og leyst upp í vatni (4.2). Lausnin er flutt magnbundið yfir í 250 ml mælikolbu (5.5). Þynnt er að markinu með vatni (4.2) og blandað saman.
- 4.7.2. Þynnt stofnlausn, 0,050 mg F⁻/ml. 20 ml af stofnlausninni (4.7.1) er flutt með rennipípu yfir í 100 ml mælikolbu (5.5). Þynnt er að markinu með vatni og blandað saman.
- 4.8. **Innri staðallausn**
- Blandað er saman 1 ml af sýklóhexan (4.4) og 5 ml af sýleni (4.5).
- 4.9. **Klórtríetýlsílan/innri staðallausn**
- 0,6 ml af TECS (4.6) og 0,12 ml af innri staðallausninni (4.8) er flutt með rennipípu (5.7) yfir í 10 ml mælikolbu. Þynnt er með sýleni (4.5) að markinu og blandað saman. Laga þarf nýja blöndu daglega.
- 4.10. Perklórsýra, 70% (m/v).
- 4.11. Perklórsýra, 20% (m/v) í vatni (4.2).
5. **BÚNAÐUR**
- 5.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.
- 5.2. Gasgreinir með logajónunamema.
- 5.3. *Vortex*-snúningsblandari eða sambærileg gerð.
- 5.4. *Bühler*-hristari, gerð SMB₁ eða sambærileg gerð.
- 5.5. Mælikolbur úr pólýprópýlen, 100 og 250 ml .
- 5.6. 20 ml miðflóttaafllsskiljuglös úr gleri með teflonhúðuðum skrúftöppum, *Sovirel* gerð 611-56 eða sambærileg gerð. Glösin og skrúftapparnir eru hreinsuð með því að láta þau liggja í perklórsýru (4.11) í nokkra klukkutíma, þau eru síðan skoluð fimm sinnum með vatni (4.2) og að lokum þurrkuð við 100°C.
- 5.7. Rennipípur, gerðar til að flytja 50 – 200 µl rúmmál með einnota endastykki úr plasti.
- 5.8. Eimingarbúnaður, tengdur við *Schneider*-súlu með þrem bungum eða samsvarandi *Vigreux*-súlu.

6. VINNUAÐFERÐ**6.1. Greining sýnis**

- 6.1.1. Valin er óopnuð tannkremstúbba, hún opnuð og alveg tæmd. Innihaldið er flutt yfir í plastflát, blandað vandlega saman og geymt við aðstæður þar sem það skemmist ekki.
- 6.1.2. Vegin eru nákvæmlega 150 mg (m) af sýninu og sett í miðflóttaafllskiljuglas (5.6), 5 ml af vatni (4.2) er bætt út í og lausnin gerð einsleit (5.3).
- 6.1.3. 1 ml af sýleni (4.5) er bætt út í.
- 6.1.4. 5 ml af saltsýru (4.3) er bætt við í dropatali og lausnin gerð einsleit (5.3).
- 6.1.5. 0,5 ml af klórtríetýlsflani/innri staðallausn (4.9) er bætt út í miðflóttaafllskiljuglasið (5.6) með rennipípu.
- 6.1.6. Tappinn (5.6) er skrúfaður á glasið og innihaldi þess blandað vandlega saman í 45 mínútur í hristara (5.4) sem stilltur er á 150 slög á mínútu.
- 6.1.7. Glasið er sett í miðflóttaafllskilju í 10 mínútur við á þann hraða sem veldur greinilegum aðskilnaði fasanna, tappinn er skrúfaður af glasinu, lífræna lagið er fjarlægt og 3 μ l þess sprautað inn í súlu gasgreinisins (5.2).

Athugasemd:

Um það bil 20 mínútur líða uns allir efnisþættirnir eru komnir í gegnum súluna.

- 6.1.8. Sprautað er inn á ný, hlutfallið milli meðalflatarmáls toppanna er reiknað út (A_{TEFS}/A_{CH}) og samsvarandi magn flúors lesið af kvörðunarferlinum (6.3) (í milligrömmum (m_1)).
- 6.1.9. Heildarmagn flúors í sýninu er reiknað út (í hverjum hundradshluta miðað við massa flúors) eins og getið er um í 7. lið.

6.2. Aðstæður við gasgreiningu

- 6.2.1. Súla: ryðfrítt stál.

Þvermál: 3 mm.

Burðarefni: gaskróm Q 80 – 100 mesh.

Stöðufasi: silíkonolía DC 200 eða sambærileg olía, 20%. Súlan er undirbúin yfir nótt við 100°C (flæði burðarlofttegundar: 25 ml af köfnunarefni á mínútu) og ferlið endurtekið á hverju kvöldi. Eftir fjórðu eða fimmtu hverju innsprautun er súlan meðhöndluð á ný með því að hita hana í 30 mínútur við 100°C.

Hiti:

súla: 70°C,

sýnishólf: 150°C,

nemi: 250°C.

Flæði burðarlofttegundar: 35 ml af köfnunarefni á mínútu.

6.3. Kvörðunarferill

- 6.3.1. 0, 1, 2, 3, 4 og 5 ml af þynntu staðalflúorlausninni (4.7.2) er settir með rennipípu í sex miðflóttaafllskiljuglós (5.6). Vatni er bætt í hvert glas upp að 5 ml markinu (4.2).

- 6.3.2. Haldið er áfram eins og lýst er í 6.1.3 til og með 6.1.6.
- 6.3.3. 3 μ l af lífræna fasanum er sprautað inn í gasgreininn (5.2).
- 6.3.4. Sprautað er inn á ný og hlutfall milli meðalflatarmáls toppanna reiknað út (A_{TEFS}/A_{CH}).
- 6.3.5. Kvörðunarferillinn er teiknaður sem samband á milli massa flúorsins (í millígrömmum) í staðallausnunum (6.3.1) og hlutfallsins á milli meðalflatarmáls toppanna (A_{TEFS}/A_{CH}) sem mælt er samkvæmt 6.3.4. Punktur ferilsins eru tengdir þannig að úr verði sem beinust lína sem reiknuð er út með aðhvarfsgreiningu.

7. ÚTREIKNINGAR

Heildarmagn flúors í sýninu (í hverjum hundraðshluta miðað við massa flúors) (% (m/m) f) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

m = massi prófsýnisins (í millígrömmum) (6.1.2),

m_1 = magn flúors sem lesið er af kvörðunarferlinum (6.1.8) (í millígrömmum).

8. TVÍMÆLINGAGILDI (¹)

Ef flúormagn er um 0,15% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,012% (m/m).

ADGREINING OG ÁKVÖRÐUN LÍFRÆNNA KVIKASILFURSAMBANDA

UMFANG OG GILDISSVIÐ

Aðferðina, sem lýst er hér á eftir, má nota til að aðgreina og ákvarða lífrænar kvikasilfurfleiður sem notaðar eru sem rotvarnarefni í augnsnyrtivörur. Hægt er að nota hana fyrir þíómersal (INN) (natríum-2-(etýlmerkúríóþíó)bensóat) og fenýlkvikasilfur og sölt þess.

A. ADGREINING

1. MEGINREGLA

Myndaðir eru komplexar úr lífrænu kvikasilfursamböndunum og 1,5-dífenýl-3-þiókarbasón. Þegar díþísónatið hefur verið dregið út með koltetraklóriði, fer þunnlagsskiljun á kísilhlaupi fram. Díþísónötin koma fram sem appelsínugulir blettir.

2. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

2.1. Brennisteinssýra, 25% (v/v).

(¹) ISO-staðall 5725.

- 2.2. 1,5-dífenýl-3-þiókarbasón (díþísón) : 0,8 mg í 100 ml af koltetraklóríði (2.4).
- 2.3. Köfnunarefni.
- 2.4. Koltetraklóríð.
- 2.5. Ferðafasi: hexan / aseton, 90 : 10 (v/v).
- 2.6. Staðallausn, 0,001% í vatni úr:
natríum-2-(etýlmerkúríóþíó)bensóati,
etýlkvikasilfurklóríði eða metýlkvikasilfurklóríði,
fenýlkvikasilfurnítrati eða fenýlkvikasilfurasetati,
kvikasilfurdíklóríði eða kvikasilfurdí(asetati).
- 2.7. Tilbúnaðar kísilhlaupsplötur (t.d. *Merck* 5721 eða sambærilegar plötur).
- 2.8. Natríumklóríð.
3. BÚNAÐUR
- 3.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.
- 3.2. Venjulegur búnaður fyrir þunnlagsskiljun.
- 3.3. Fasaskiljunarsía.
4. VINNUAÐFERÐ
- 4.1. **Útdráttur**
- 4.1.1. 1 g af sýninu er þynnt í miðflótttaafllsskiljuglasi með títrun með 20 ml af eimuðu vatni. Blandað er vel saman og lausnin hituð upp í 60°C í vatnsbaði. 4 g af natríumklóríði (2.8) er bætt út í. Lausnin er síðan hrist og látin kólna.
- 4.1.2. Lausnin er skilin í miðflótttaafllsskilju í að minnsta kosti 20 mínútur við 4 500 snún./mín. til þess að skilja meginhluta fasta efnisins frá vökvanum. Lausnin er síðan síuð yfir í skiltrekt og 0,25 ml af brennisteinssýrulausn bætt út í (2.1).
- 4.1.3. Lausnin er dregin nokkrum sinnum út með 2 eða 3 ml af díþísónlausn (2.2) uns síðasti lífræni fasinn helst grænn að lit.
- 4.1.4. Lífrænu fasarnir eru síaðir hver á fætur öðrum í gegnum fasaskiljunarsíu (3.3).
- 4.1.5. Leysiefnið er síðan látið gufa alveg upp við köfnunarefnisblástur (2.3).
- 4.1.6. Það sem eftir verður við uppgufunina er leyst upp í 0,5 ml af koltetraklóríði (2.4). Þessi lausn er síðan notuð þegar í stað eins og getið er um í 4.2.1.

4.2. **Skiljun og aðgreining**

4.2.1. 50 μl af koltetraklóríði sem fengust samkvæmt 4.1.6 eru settir þegar í stað á kísilhlaupsplötu. 10 ml af staðallausninni (2.6) eru meðhöndlaðir samtímis eins og í 4.1 og 50 μl af lausninni sem fengust samkvæmt 4.1.6 eru settir á sömu plötu.

4.2.2. Platan er sett í ferðafasann (2.5) og höfð þar uns hann hefur færst upp um 150 mm. Lífrænu kvikasilfursamböndin koma fram sem litaðir blettir og liturinn helst stöðugur að því tilskildu að platan sé hulin með glerplötu um leið og leysiefnið hefur gufað upp.

Sem dæmi hafa eftirfarandi Rf-gildi fengist:

	Rf-gildi	Litur
Þíómersal	0,33	Appelsínugulur
Etýlkvikasilfurklóríð	0,29	Appelsínugulur
Metýlkvikasilfurklóríð	0,29	Appelsínugulur
Fenýlkvikasilfursölt	0,21	Appelsínugulur
Kvikasilfur (II) sölt	0,10	Appelsínugulur
Kvikasilfurdí (asetat)	0,10	Appelsínugulur
1,5-dífenýl-3-þíókarbasón	0,09	Bleikur

B. ÁKVÖRDUN

1. SKILGREINING

Magn lífræna kvikasilfursambanda sem ákvarðað er með þessari aðferð er gefið upp sem hundradshluti miðað við massa (m/m) kvikasilfurs í sýninu.

2. MEGINREGLA

Aðferðin samanstendur af mælingu þess heildarmagns kvikasilfurs sem er til staðar. Það er því nauðsynlegt að ganga fyrst úr skugga um að ekkert kvikasilfur í ólífrænu formi sé til staðar og að lífræna kvikasilfurafléiðan sem sýnið inniheldur sé aðgreind. Eftir afjónun er kvikasilfrið sem myndast mælt með atómgleypnimælingu án loga.

3. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

3.1. Óblönduð saltpétursýra, $d_4^{20} = 1,41$ g/ml.

3.2. Óblönduð brennisteinssýra, $d_4^{20} = 1,84$ g/ml.

3.3. Endureimað vatn.

3.4. Kalíumpermanganat, 7% lausn (m/v).

3.5. Hýdroxýlammóníumklóríð, 1,5% lausn (m/v).

3.6. Díkalíumperoxódísúlfat, 5% lausn (m/v).

- 3.7. Tindíklóríð, 10% lausn (m/v).
- 3.8. Óblönduð saltsýra, ($d_4^{20} = 1,18$ g/ml).
- 3.9. Glerull gegnsýrð með 1% palladíumdíklóríði (m/m).
4. **BÚNAÐUR**
- 4.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.
- 4.2. Búnaður fyrir ákvörðun með atómgleypnimælingu án loga (köld gufutækni), þar með talinn nauðsynlegur glerbúnaður. Mælihólfíð þarf að vera að minnsta kosti 100 mm.
5. **VINNUAÐFERÐ**
- Gera verður venjulegar varúðarráðstafanir fyrir sporgreiningu kvikasilfurs.
- 5.1. **Niðurbrot**
- 5.1.1. Vegin eru nákvæmlega um 150 mg af sýninu (m). Bætt er við 10 ml af saltpétursýru (3.1) og sýnið látið brotna niður í þrjár klukkustundir í loftþéttri kolbu í vatnsbaði við 55°C, kolban er hrist með reglulegu millibili. Samtímis er gert núllpróf á hvarfefnunum.
- 5.1.2. Eftir kælingu er 10 ml af brennisteinssýru (3.2) bætt út í og kolban síðan sett aftur í vatnsbaðið við 55°C í 30 mínútur.
- 5.1.3. Kolban er sett í ísbað og 20 ml af vatni bætt varlega út í (3.3).
- 5.1.4. Bætt er við 2 ml skömmtum af 7% kalíumpermanganatlausn (3.4) uns lausnin fær á sig lit sem helst óbreyttur. Kolban er sett í vatnsbaðið við 55°C í 15 mínútur til viðbótar.
- 5.1.5. Bætt er við 4 ml af díkalíumperoxódísúlfatlausn (3.6). Kolban er hituð áfram í vatnsbaðinu við 55°C í 30 mínútur.
- 5.1.6. Lausnin er kæld og innihald kolbunnar flutt yfir í 100 ml mælikolbu. Kolban er skoluð með 5 ml af hýdroxýlammóníumklóríði (3.5) og síðan fjórum sinnum með 10 ml af vatni (3.3). Lausnin ætti því að vera orðin algjörlega litlaus. Fyllt er að markinu með vatni (3.3).
- 5.2. **Ákvörðun**
- 5.2.1. 10 ml af próflausninni (5.1.6) eru settir í glerhylki til að ákvarða kvikasilfur með kaldri gufutækni (4.2). Lausnin er þynnt með 100 ml af vatni (3.3) og því næst 5 ml af brennisteinssýru (3.2) og 5 ml af tindíklóríðlausn (3.7) bætt út í. Blandað er saman eftir hverja viðbót. Beðið er í 30 sekúndur svo að allt jónaða kvikasilfrið afoxist yfir í málmkennt form og síðan er lesið af mælinum (n).
- 5.2.2. Dálítið af gegnsýrðu glerullinni er sett á milli hylkisins sem kvikasilfrið er afoxað í og mælihólfs tækisins. Aðgerðin í 5.2.1 er endurtekin og aflesturinn skráður. Ef niðurstaða mælinga er ekki núll hefur afjónunin verið ófullkomin og endurtaka þarf greininguna.

6. ÚTREIKNINGAR

Kvikasilfur magn sýnisins sem gefið er upp sem hundraðshluti miðað við massa (% m/m) er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

m = massi prófsýnisins (í millígrömmum).

n = magn kvikasilfurs (í μl) sem lesið er af tækinu.

7. ATHUGASEMDIR

7.1. Til að bæta afjónunina getur verið nauðsynlegt að byrja á því að þynna sýnið.

7.2. Ef grunur leikur á að einhver hvarfefni sýnisins sogi í sig kvikasilfrið ætti magnákvörðun að fara fram eins og þegar efnunum er bætt við á venjubundinn hátt.

8. TVÍMÆLINGAGILDI ⁽¹⁾

Ef kvikasilfur magn er um 0,007% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,00035%.

ÁKVÖRDUN ALKALÍ- OG JARÐALKALÍSÚLFÍÐA

1. UMFANG OG GILDISSVIÐ

Hér er lýst aðferð til að ákvarða súlfíð í snyrtivörum. Jafnvel þótt þíól eða önnur afoxandi efni (þar með talin súlfíð) séu til staðar hefur það ekki truflandi áhrif á ákvörðunina.

2. SKILGREINING

Magn súlfíða í sýninu sem ákvarðað er með þessari aðferð er gefið upp sem hundraðshluti brennisteins miðað við massa.

3. MEGINREGLA

Eftir að miðlunarefnið hefur verið sýrt er vetnissúlfíð blásið út með köfnunarefni og síðan bundið sem kadmíumsúlfíð. Síðarnefnda efnið er síað og hreinsað og síðan ákvarðað með jodítitrun.

4. HVARFEFNI

Öll hvarfefni verða að standast kröfur um greiningarhreinleika.

⁽¹⁾ ISO-staðall 5725.

- 4.1. Óblönduð saltsýra, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.
- 4.2. Natríumþíósúlfat, 0,1 M stöðluð lausn.
- 4.3. Joð, 0,05 M stöðluð lausn.
- 4.4. Dínatríumsúlfíð.
- 4.5. Kadmíumdí(asetat).
- 4.6. Óblandað ammóníak, $d_4^{20} = 0,90$ g/ml.
- 4.7. Ammóníaklausn af kadmíumdí(asetati): 10 g af kadmíumdí(asetati) (4.5) eru leyst upp í um það bil 50 ml af vatni. Ammóníaki (4.6) er bætt út í uns botnfallið leystist upp aftur (þ.e. um það bil 20 ml). Fyllt er að 100 ml markinu með vatni.
- 4.8. Köfnunarefni.
- 4.9. Ammóníaklausn M.
5. BÚNAÐUR
- 5.1. Venjulegur búnaður rannsóknarstofu.
- 5.2. 100 ml kolba með kúlulaga botni og þrem slípuðum hálsum.
- 5.3. Tvær 150 ml Erlenmeyer-kolbur með slípuðum hálsum og búnaði sem samanstendur af slöngu niður í kolbuna og útblástursslöngu til hliðar fyrir lofttegund sem hleypt er út.
- 5.4. Ein trekt með löngum stúti.
6. VINNUAÐFERÐ
- 6.1. **Útblástur súlfíðs**
- 6.1.1. Tekin er óopnuð pakkning. Vegið er nákvæmlega það magn (m) (gefið upp í grömmum) vörunnar sem samsvarar mest 30 mg af súlfíðjónum og sett í kolbu með kúlulaga botni (5.2). Bætt er við 60 ml af vatni og tveimur dropum af froðueyði.
- 6.1.2. 50 ml af lausninni (4.7) eru settir hvor í sína Erlenmeyer-kolbu (5.3).
- 6.1.3. Skiltrekt, slöngu og útblástursslöngu er komið fyrir á kolbunni (5.2). Útblástursslangan er raðtengd við báðar Erlenmeyer-kolburnar (5.3) með PVC-slöngu.

Ath.: Búnaðurinn sem notaður er til að hleypa lofttegundinni út verður að standast eftirfarandi vökva- og þéttleikapróf: líkt er eftir rannsóknaskilyrðum og í stað vörunnar sem ákvarða á eru notaðir 10 ml af súlfíðlausn (tilreidd samkvæmt 4.4) sem inniheldur „X mg“ af súlfíði (ákvarðað með títrun). Magn súlfíðs í millígrömmum sem finnst við greininguna er táknað með bókstafnum „Y“. Munurinn á magni „X“ og „Y“ má ekki vera meiri en 3%.

- 6.1.4. Köfnunarefni (4.8) er látið streyma í gegn, tvær loftbólur á sekúndu, í 15 mínútur til að þrýsta út loftinu í kolbunni (5.2).
- 6.1.5. Kolban er hituð upp í $85 \pm 5^\circ\text{C}$.
- 6.1.6. Köfnunarefnisstraumurinn (4.8) er stöðvaður og 40 ml af saltsýru (4.1) bætt út í í dropatali.
- 6.1.7. Opnað er fyrir köfnunarefnisstrauminn (4.8) á ný þegar búið er að bæta nærri allri sýrunni út í, en dálítill vökvaþétting er skilin eftir til að koma í veg fyrir leka vetnissúlfíðs.
- 6.1.8. Hitun er hætt eftir 30 mínútur. Kolban (5.2) er kæld og haldið er áfram að láta köfnunarefnið (4.8) streyma í gegn í að minnsta kosti eina og hálfu klukkustund.

6.2. Títrun

- 6.2.1. Kadmíumsúlfíðið er síað í gegnum trekt með löngum stúti (5.4).
- 6.2.2. Erlenmeyer-kolburnar (5.3) eru fyrst skolaðar með ammóníaklausn (4.9) sem hellt er í síuna. Þær eru síðan skolaðar með eimuðu vatni og vatnið notað til að þvo botnfallið sem verður eftir í síunni.
- 6.2.3. Botnfallið er að lokum þvegið með 100 ml af vatni.
- 6.2.4. Pappírssían er sett í fyrstu Erlenmeyer-kolbuna sem inniheldur botnfallið. Bætt er við 25 ml (n_1) af joðlausn (4.3), um það bil 20 ml af saltsýru (4.1) og 50 ml af eimuðu vatni.
- 6.2.5. Umframmagn joðs er ákvarðað með títrun með því að nota natríumþíósúlfatlausn (n_2) (4.2).

7. ÚTREIKNINGAR

Súlfíðmagn sýnisins sem gefið er upp sem hundraðshluti brennisteins miðað við massa er reiknað út með eftirfarandi formúlu:

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

þar sem:

- n_1 = rúmmál stöðluðu joðlausnarinnar (4.3) sem notuð er (í millilítrum),
 x_1 = mólstyrkur lausnarinnar,
 n_2 = rúmmál stöðluðu natríumþíósúlfatlausnarinnar (4.2), (í millilítrum)
 x_2 = mólstyrkur lausnarinnar,
 m = massi prófsýnisins (í grömmum).

8. TVÍMÆLINGAGILDI (¹)

Ef súlfíðmagn er um 2% (m/m), má munur á niðurstöðum tveggja ákvarðana sem eru gerðar á hliðstæðan hátt á sama sýninu ekki vera meiri en sem nemur raungildinu 0,2% (m/m).

(¹) ISO-staðall 5725.