НАРЕДБА № 14 от 28.07.2014 г. за определяне на подробни правила за представяне на информацията по чл. 19, пар. 4 на Регламент (ЕО) № 1223/2009 относно козметичните продукти, изисквания за ефикасност на слънцезащитните козметични продукти и химичните методи за проверка състава на козметичните продукти

Издадена от министъра на здравеопазването, обн., ДВ, бр. 68 от 15.08.2014 г., в сила от 15.08.2014 г.

Раздел I
Общи положения

Чл. 1. С тази наредба се определят изискванията за:
1. представяне на информацията по чл. 19, пар. 4 на Регламент (ЕО) № 1223/2009 на Европейския парламент и на Съвета от 30 ноември 2009 г. относно козметичните продукти (ОВ, L 342, 22.11.2009 г.), за козметични продукти, които не са предварително пакетирани или се пакетират в момента на продажбата им по искане на потребителя или са предварително пакетирани за непосредствена продажба;
2. ефикасност на слънцезащитните козметични продукти и предявяваните претенции по отношение на тях;
3. химичните методи за проверка състава на козметичните продукти.

Чл. 2. Наредбата не се прилага за:
1. лекарствени продукти по смисъла на Закона за лекарствените продукти в хуманната медицина;
2. биоциди по смисъла на Закона за защита от вредното въздействие на химичните вещества и смеси;
3. медицински изделия по смисъла на Закона за медицинските изделия.

Раздел II
Правила за представяне на информацията по чл. 19, пар. 4 на Регламент (ЕО) № 1223/2009 относно козметичните продукти, които не са предварително пакетирани или се пакетират в момента на продажбата им по искане на потребителя или са предварително пакетирани за непосредствена продажба

Чл. 3. (1) Козметичните продукти, които не са предварително пакетирани или се пакетират в момента на продажбата им по искане на потребителя, се съхраняват в контейнери или съдове на места, отговарящи на условията, определени от производителя, преди предоставянето им на потребителя.

(2) Козметичните продукти, които не са предварително пакетирани или се пакетират в момента на продажбата им по искане на потребителя, се предоставят на същия само ако върху контейнера или съда, в който се съхраняват, е поставен траен и неотстраним етикет, лента, стикер или картичка на български език, съдържащи информацията по чл. 19, пар. 1 на Регламент (ЕО) № 1223/2009, обозначена с незаличими, лесни за четене и ясни букви.
(3) Когато поради практически съображения е невъзможно изписването на информацията по чл. 19, пар. 1 на Регламент (ЕО) № 1223/2009 върху етикет, лента, стикер или картичка, тази информация се посочва в указание или листовка, поставени в непосредствена близост до контейнера или съда, в който се съхраняват козметичните продукти.
(4) Козметични продукти, които са предварително пакетирани за непосредствена продажба, се предоставят на потребителите само ако върху опаковката им е поставен траен и неотстраним етикет, лента, стикер или картичка на български език, съдържащи информацията по чл. 19, пар. 1 на Регламент (ЕО) № 1223/2009, обозначена с незаличими, лесни за четене и ясни букви.
(5) За продукти с малки размери, когато е невъзможно поради практически съображения изписването върху етикет, лента, стикер или картичка на информацията, посочена в чл. 19, пар. 1 на Регламент (ЕО) № 1223/2009, тази информация се посочва в указание или листовка, поставени в непосредствена близост до първичната опаковка, в която предварително пакетираният козметичен продукт е изложен за продажба, и се предоставя на потребителя заедно с козметичния продукт.
(6) За всеки козметичен продукт, който не е предварително пакетиран или се пакетира в момента на продажба по искане на потребителя, или е предварително пакетиран за непосредствена продажба, отговорното лице е длъжно да осигури спазването на ал. 1 – 5.

Раздел III
Изисквания към ефикасността на слънцезащитните козметични продукти и предявяваните претенции по отношение на тях

Чл. 4. Изискванията към слънцезащитните козметични продукти се отнасят за:
1. характеристиките на слънцезащитните козметични продукти и предявяваните претенции по отношение на тяхната ефикасност;
2. минималната ефикасност на слънцезащитните продукти при осигуряване високо ниво на защита срещу UVB и UVA лъчение.

Чл. 5. Слънцезащитните козметични продукти трябва да отговарят на изискванията, посочени в приложение № 1.

Раздел IV
Химични методи за проверка състава на козметичните продукти

Чл. 6. За проверка състава на козметичните продукти се прилагат химичните методи, посочени в приложение № 2.

ДОПЪЛНИТЕЛНИ РАЗПОРЕДБИ

§ 1. По смисъла на тази наредба:
1. "Слънцезащитен козметичен продукт" е всеки продукт (крем, лосион, масло, спрей, гел), предназначен за нанасяне върху човешката кожа с цел изключително или главно да я предпази от UV лъчение чрез абсорбиране, разсейване или отразяване.
2. "Претенция за ефикасност" е всяко изявление относно характеристиките или функциите на даден слънцезащитен козметичен продукт под формата на текст, наименования, търговски марки, изображения, картини, фигури или други знаци, използвани при етикетирането, предоставянето на пазара и рекламата на слънцезащитните козметични продукти.
3. "UVB лъчение" е слънчевото излъчване в спектъра 290 – 320 nm.
4. "UVA лъчение" е слънчевото излъчване в спектъра 320 – 400 nm.
5. "Критична дължина на вълната" е дължината на вълната, за която секторът под кривата на интегрирана оптична гъстота, която започва от 290 nm, се равнява на 90 % от интегрирания сектор между 290 и 400 nm.
6. "Минимална еритемна доза" е количеството енергия, причиняваща зачервяване.
7. "Слънцезащитен фактор" е съотношението между минималната еритемна доза върху кожа, защитена от слънцезащитен козметичен продукт, и минималната еритемна доза върху същата, но незащитена кожа.
8. "UVA защитен фактор" е съотношението между минималната UVA доза, необходима за предизвикване на трайно пигментиране на кожа, защитена от слънцезащитен продукт, и минималната UVA доза, необходима за постигане на минимален ефект на потъмняване върху същата, но незащитена кожа.

§ 2. Термините, използвани в Регламент (ЕО) № 1223/2009 и Закона за здравето относно козметичните продукти, се употребяват със същото значение и в тази наредба.

§ 3. С тази наредба се въвеждат изискванията на Първа директива на Комисията 80/1335/ЕО за сближаване на законодателството на държавите членки относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 5, стр. 166 – 185), на Втора директива на Комисията 82/434/ЕИО за сближаване на законодателството на държавите членки относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 6, стр. 36 – 63), на Трета директива на Комисията 83/514/ЕИО за сближаване на законодателството на държавите членки относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 6, стр. 136 – 173), на Четвърта директива на Комисията 85/490/ЕИО за сближаване на законодателството на държавите членки относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 7, стр. 43 – 58), на Пета директива на Комисията 93/73/ЕО относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 13, стр. 70 – 89), на Шеста директива на Комисията 95/32/ЕО относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 16, стр. 126 – 141) и на Седма директива на Комисията 96/45/ЕО относно методите за анализ, необходими за контрола върху състава на козметичните продукти (обн., ОВ, Специално българско издание 2007 г., глава 13, том 17, стр. 258 – 265) и Препоръка на Комисията 2006/647/ЕО за ефикасността на слънцезащитните продукти и предявяваните претенции по отношение на тяхната ефикасност (ОВ, L 265, 26.09.2006 г., стр. 39 – 43).

ЗАКЛЮЧИТЕЛНИ РАЗПОРЕДБИ

§ 4. Наредбата се издава на основание чл. 52 от Закона за здравето и отменя Наредба № 36 от 2005 г. за изискванията към козметичните продукти (обн., ДВ, бр. 101 от 2005 г.; изм. и доп., бр. 44 и 75 от 2006 г., бр. 39 и 106 от 2007 г., бр. 80 от 2008 г., бр. 35 от 2009 г., бр. 2 и 62 от 2010 г., бр. 53 от 2011 г., бр. 88 от 2012 г. и бр. 27 от 2013 г.).

§ 5. Наредбата влиза в сила в деня на обнародването й в "Държавен вестник".

Приложение № 1 към чл. 5

Изисквания към ефикасността на слънцезащитните козметични продукти и предявяваните претенции по отношение на тях

I. UVA/UVB защита, претенции за ефикасност, предпазни мерки и инструкции за употреба

1. Характеристиките на слънцезащитните козметични продукти и претенциите за тяхната ефикасност, посочени в т. I.2 – 6, трябва да отговарят на чл. 20,пар. 1 на Регламент (ЕО) № 1223/2009 относно козметичните продукти.

2. Слънцезащитните козметични продукти трябва да предоставят защита както срещу UVB, така и срещу UVA лъчението.

3. Не трябва да се предявява претенция за ефикасност, която внушава следните характеристики:

а) стопроцентова защита срещу UV лъчение – като например: "блокира слънчевите лъчи" или "пълна защита";

б) че не се налага продуктът да се нанася отново при каквито и да е обстоятелства, като например: "24-часова защита" или "целодневна защита".

4. Слънцезащитните козметични продукти трябва да носят и предупреждения, че не предоставят стопроцентова защита, както и съвети относно предпазните мерки, които следва да се съблюдават в допълнение към употребата им. Могат да се използват предупреждения, като следните:

а) "Не се излагайте прекалено дълго на слънце, дори когато употребявате слънцезащитни козметични продукти";
б) "Не излагайте бебетата и малките деца на директна слънчева ветлина";

в) "Прекомерното излагане на слънце представлява сериозна заплаха за здравето".

5. Слънцезащитните козметични продукти трябва да съдържат инструкции за употреба, гарантиращи постигане на заявената претенция за ефективност,

като например:

а) "Слънцезащитният козметичен продукт се нанася преди излагане на слънце";

б) "За поддържане на защитата продуктът трябва да се нанася отново и многократно, особено след изпотяване, плуване или избърсване".

6. Слънцезащитните козметични продукти трябва да се придружават от инструкции за употреба относно количеството продукт, което се нанася върху кожата и което гарантира постигане на заявената претенция за ефективност. Необходимото количество може да се означи чрез пиктограма, илюстрация или мярка (например мерителна лъжичка). Инструкциите за употреба трябва да съдържат обяснение за рисковете при нанасяне на по-малко от необходимото количество, например: "Предупреждение: Намаляването на количеството значително понижава нивото на защита".

II. Минимална ефикасност

1. Слънцезащитните козметични продукти трябва да осигуряват степен на минимална защита срещу UVB и UVA лъчение. Степента на защита трябва да се измерва чрез стандартизирани и възпроизводими методи за изпитване, като се взема предвид фотодеградацията. Трябва да се дава предпочитание на in vitro методи.

2. Минималната степен на защита, предоставяна от слънцезащитните козметични продукти, трябва да е, както следва:

а) UVB защита със слънцезащитен фактор 6, определен по Международен метод за изпитване на слънцезащитния фактор (2006), или еквивалентна степен на защита, определена по друг in vitro метод;

б) UVA защита при UVA защитен фактор една трета от слънцезащитния фактор, определен по метода за трайно пигментиране, модифициран от френската здравна агенция (Agence francaise de securite sanitaire des produits de sante – Afssaps), или еквивалентна степен на защита, постигната чрез друг in vitro метод;
в) критична дължина на вълната със стойност 370 nm, определена по метода за изпитване на критичната дължина на вълната.

III. Разбираемо и ясно изразяване на претенциите за ефикасност

1. Текстовете, изразяващи претенциите за ефикасност на слънцезащитните козметични продукти, трябва да са разбираеми, ясни и недвусмислени и да се базират на стандартизирани, възпроизводими критерии.

2. Претенциите за ефикасност срещу UVB и UVA лъчение следва да се предявяват само при условие, че защитата е еквивалентна или превишава нивата, посочени в т. II.2.

3. Ефикасността на слънцезащитните козметични продукти трябва да се означава върху етикета чрез категориите "ниска", "средна", "висока" и "много висока".
Всяка от тези категории трябва да съответства на стандартизирана степен за защита срещу UVB и UVA лъчение.

4. Броят на слънцезащитните фактори, поставяни на етикетите, трябва да се ограничи, за да се улесни сравняването на различните продукти, без с това да се намаляват възможностите за избор от страна на потребителя. За целта може да се използва разпределението на слънцезащитни фактори за всяка от четирите категории и съответното етикетиране:

Категория върху етикета	Слънцезащитен фактор върху етикета (SPF)	Измерен слънцезащитен фактор (определен в съответствие с посоченото в т. II.2.а)	Препоръчан минимален UVA защитен фактор (определен в съответствие с посоченото в т. II.2.б)	Минимална критична дължина на вълната (определена в съответствие с посоченото в т. II.2.в)
"Ниска защита"	"6" "10"	6-9.9 10-14.9	Една трета от слънцезащитния фактор върху етикета	370 nm
"Средна защита"	"15" "20" "25"	15-19.9 20-24.9 25-29.9		
"Висока защита"	"30" "50"	30-49.9 50-59.9		
"Много висока защита"	"50+"	60I		

5. Категорията на слънцезащитния козметичен продукт трябва да бъде означена върху етикета поне толкова отчетливо, колкото слънцезащитния фактор.

IV. Информация за потребителя

Потребителите трябва да бъдат информирани за рисковете, свързани с прекаленото излагане на UV лъчение, и за категорията слънцезащитен продукт, която се изисква за определена степен на излагане на слънчевите лъчи и за определен тип кожа. Информацията се предоставя чрез брошури, листовки, интернет страници или чрез публикации в пресата.

Приложение № 2 към чл. 6

Химични методи за проверка състава на козметичните продукти

I. ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИ ОТ КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ

1. Област на приложение

Процедурата за вземане на проби от козметични продукти е описана от гледна точка на техния анализ в различни лаборатории.

2. Дефиниция

2.1. Основна (базисна) проба – единица взета от партида, предложена за продажба.

2.2. Обща проба – сума от всички основни проби, имащи един и същ партиден номер.
2.3. Лабораторна проба – представителна част от общата проба, която се анализира в отделните лаборатории.

2.4. Част от пробата за изпитване (тест-порция) – типична част от лабораторната проба, която се изисква за един анализ.

2.5. Опаковка – артикулът, който съдържа продукта и е в непрекъснат директен контакт с него.

3. Изисквания при подбора на проби

3.1. Вземането на проба от козметичните продукти става в тяхната оригинална опаковка. Пробите се предават в аналитичната лаборатория затворени.

3.2. За козметични продукти, които се представят на пазара в насипно състояние или се доставят на дребно в опаковка, различна от оригиналната опаковка на производителя, трябва да се издаде подходяща инструкция за вземане на проба на мястото на използване или на мястото за продажба.

3.3. Броят основни (базисни) проби, необходим за приготвяне на лабораторна проба, се определя чрез аналитичния метод и броя на анализите, изпълнени от всяка лаборатория.

4. Идентификация на пробата

4.1. След като се вземат, пробите се затварят и идентифицират съгласно правилата за вземане на проби.

4.2. Всяка взета и идентифицирана основна проба се маркира със следната информация:

4.2.1. наименование на козметичния продукт;
4.2.2. дата, време и място на вземане на пробата;

4.2.3. име на лицето, отговорно за вземане на пробата;

4.2.4. наименование на контролното звено.

4.3. За вземането на пробата се съставя протокол.

5. Съхранение на пробата

5.1. Основните (базисните) проби се съхраняват в съответствие с посочените инструкции на производителя върху етикета, ако има такъв.

5.2. Ако няма други специфицирани условия, лабораторните мостри се съхраняват на тъмно между 10 и 25 °C.

5.3. Базисните проби не се отварят до започване на анализа.

II. ЛАБОРАТОРНО ПРИГОТВЯНЕ НА ЧАСТТА ОТ ПРОБАТА ЗА ИЗПИТВАНЕ

1. Обща част

1.1. Когато е възможно, се анализира всяка базисна проба. Ако базисната проба е много малка, се използва минималният брой базисни проби. Пробите трябва да са смесени много добре, преди да се вземе частта от пробата за изпитване.
1.2. Опаковката се отваря под инертен газ, ако така е препоръчано в аналитичния метод, и се изтегля необходимата част от пробата за изпитване възможно най-бързо. След това анализът продължава с възможно най-малко забавяне. Ако пробата трябва да се запази, опаковката трябва отново да се затвори под инертен газ.

1.3. Козметичните продукти могат да са приготвени в течно, твърдо или полутвърдо състояние. Ако настъпи разслоение в хомогенен продукт, той отново се хомогенизира, преди да се вземе част от пробата за изпитване.

1.4. Ако козметичният продукт се предлага за продажба по специален начин, поради което той не може да се третира в съответствие с тези инструкции и ако няма направена уговорка за съответни методи за изследване, може да се възприеме оригинална процедура, при условие че се представи в писмен вид като част от доклада от анализа.

2. Течности

2.1. Те могат да се представят под формата на продукти, като разтвори в масло, в алкохол, във вода, тоалетни води, лосиони или млека, и може да са поставени във флакони, бутилки, ампули или туби.

2.2. Изтегляне на част от пробата за изпитване:

2.2.1. опаковката с пробата се разклаща енергично, преди да се отвори;

2.2.2. опаковката се отваря;

2.2.3. отсипват се няколко мililитра от течността в епруветка за визуално изследване;

2.2.4. опаковката се затваря отново, или

2.2.5. се взема необходимото количество за изпитване;
2.2.6. опаковката се затваря внимателно.

3. Полутвърди продукти

3.1. Това са продукти, като пасти, кремове, емулсии, гъсти емулсии и гелове, напълнени в туби, пластмасови флакони или буркани.

3.2. Изтегляне на част от пробата за изпитване от:

3.2.1. Опаковки с тесни отвори – отстранява се най-малко първият сантиметър от продукта, изстисква се порцията и опаковката се затваря веднага.

3.2.2. Съдове с широки гърла – повърхностният слой се отстранява равномерно, взема се частта от пробата за изпитване и опаковката се затваря веднага.

4. Твърди продукти

4.1. Такива по отношение на формата са некомпактните пудри, компактните пудри, щифтовете. Те могат да са поставени в най-разнообразни опаковки.

4.2. Вземане на част от пробата за изпитване от:

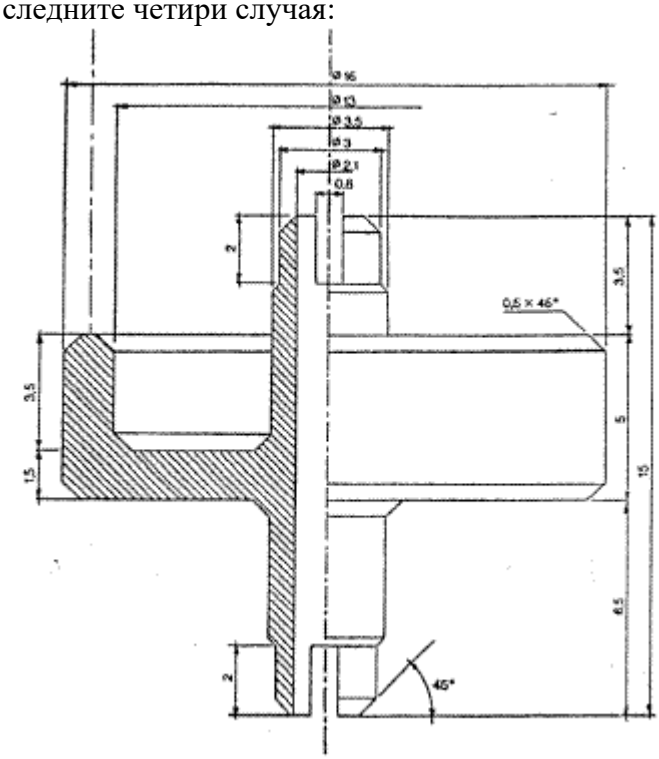
4.2.1. Некомпактна пудра – разбърква се енергично, преди да се отвори, отваря се и се взема частта от пробата за изпитване.

4.2.2. Компактна пудра или щифт – повърхностният слой се отстранява чрез равномерно изгребване, взема се част от пробата за изпитване от вътрешността.
5. Продукти в опаковки под налягане (аерозолни опаковки)

5.1. Вземане на част от пробата за изпитване:

След енергично разклащане аликвотна част от съдържанието на аерозолната опаковка се прехвърля с помощта на подходящо свързващо устройство (фиг. 1) в стъклен флакон с пластмасово покритие, снабден с аерозолен вентил, но без шлаух (сифонна тръбичка). На фиг. 1 е показана примерна схема на свързващо устройство, но при специфични изисквания на аналитичния метод могат да се използват и други. По време на прехвърлянето флаконът се държи с вентила надолу. Така съдържанието се вижда ясно. Възможни са

следните четири случая:



Фигура 1

Свързващо устройство (конектор) – P1

5.1.1. Аерозолен продукт под формата на хомогенен разтвор за директен анализ.

5.1.2. Аерозолен продукт, състоящ се от две фази. Всяка фаза може да се анализира, след като долната фаза се отдели във втори преливен флакон. Тя предимно е водна и без съдържание на пропелант.

5.1.3. Аерозолен продукт, съдържащ прахообразна съставка в суспензия. Течната фаза може да се анализира след отстраняване на прахообразната съставка.

5.1.4. Продукт под форма на пяна или крем.

В преливния флакон се отмерва точно измерено количество 2-метоксиетанол (между 5 и 10 g). Последният предпазва от образуване на пяна по време на дегазирането и тогава е възможно да се отстрани пропелантът без загуба на течност.

5.2. Спомагателни приспособления

Свързващото устройство – конектор (фиг. 1), е от дуралуминий или от месинг.
Конструкцията му е пригодна за различни вентилни системи чрез полиетиленов адаптор. Могат да се използват и други свързващи устройства

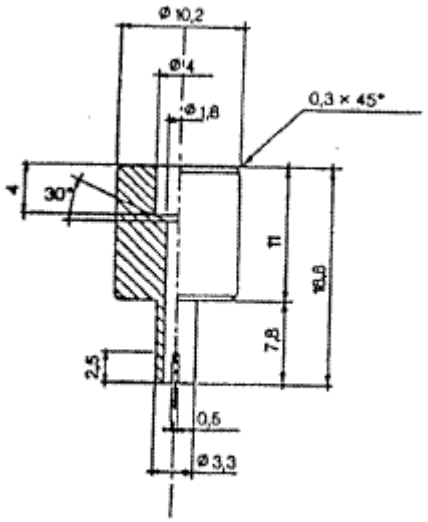
(виж фиг. 2 и 3).

Преливният флакон (фиг. 4) е направен от бяло стъкло, обвито от външната страна с предпазен слой от прозрачен пластмасов материал. Обемът му е от 50 до 100 cm^3 (ml). Снабден е с аерозолен вентил без сифонна тръбичка.

5.3. Процедура

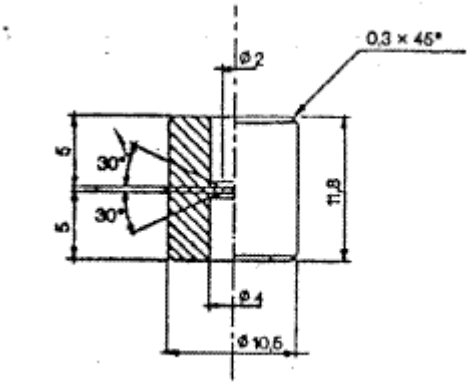
За да се прехвърли достатъчно количество проба, преливният флакон не трябва да съдържа въздух. За тази цел чрез конектора се вкарва около 10 cm^3 (ml) дихлордифлуорометан или бутан (в зависимост от вида на изследвания аерозолен продукт) и се обезгазява напълно. Свързващото устройство се отстранява.

Претегля се преливната бутилка ("a" g). Разклаща се енергично аерозолната опаковка, от която ще се взема пробата. Прикачва се конекторът към вентила на аерозолната опаковка, от която ще се взема пробата (вентилът е нагоре), приспособява се преливният флакон (гърлото надолу) към конектора и се натиска. Напълва се преливният флакон до 2/3. Ако прехвърлянето се прекрати поради уеднаквяване на налягането, то може да се възстанови чрез охлаждане на преливния флакон.



Фигура 2

Свързващо устройство (конектор) – М2



Фигура 3

Свързващо устройство (конектор) – M1

Фигура 4

Преливен флакон с вместимост 50 до 100 ml

Фигура 5

Газхроматографска спринцовка

Отстранява се конекторът, претегля се напълненият флакон ("b" g) и се определя теглото на прехвърлената аерозолна проба M_1 (M_1 = b – a).

Така получената проба може да се използва за:

а) химичен анализ;

б) анализ на летливи съставки чрез газова хроматография.

5.3.1. Подготовка на пробата за химичен анализ

Придържайки преливният флакон с вентила нагоре, се извършват следните операции:

5.3.1.1. Дегазиране. Ако дегазирането доведе до образуване на пяна, се използва преливен флакон, в който предварително се поставя точно претеглено количество 2-метоксиетанол(между 5 и 10 g). Последният се въвежда във флакона чрез конектора със спринцовка.

5.3.1.2. Завършва се отстраняването на летливите съставки без загуба чрез разбъркване на пробата на водна баня при поддържане на температурата 40 °C. Откачва се конекторът.

5.3.1.3. Претегля се отново преливният флакон ("c" g), за да се определи теглото на остатъка M_2 (M_2 = c – a).
Когато се изчислява теглото на остатъка, се изважда теглото на използвания 2-метоксиетанол;

5.3.1.4. Отваря се преливният флакон чрез отстраняване на вентила.

5.3.1.5. Разтваря се напълно остатъкът в известно количество подходящ разтворител.

5.3.1.6. Извършва се необходимото определяне на аликвотната част.

5.3.1.7. Формулите за изчисление са:

$$R = \frac{r \times M_2}{M_1} \quad Q = \frac{R \times P}{100},$$

където:

M_1 е масата на аерозола, взет в преливния флакон в g;

M_2 – масата на остатъка след загряване до 40 °C в g;

r – специфичното вещество в M_2 в % (определено съгласно подходящ метод);

R – специфичното вещество в аерозола в %, както е получен;
Q – общата маса на специфичното вещество в аерозолната опаковка в g;

P – нетната маса на първоначалната аерозолна опаковка (основна проба) в g.

5.3.2. Подготовка на пробата за анализ на летливите съставки чрез газова хроматография.

5.3.2.1. Принцип

С газхроматографска спринцовка се изтегля подходящо количество проба от преливния флакон, което се инжектира в газовия хроматограф.

5.3.2.2. Спомагателни приспособления

Газхроматографска спринцовка (с точност на пробовземането серия А2) от 25µl или 50 µl (фиг. 5) или еквивалентна. Тази спринцовка е снабдена с ограничител в края на иглата. Спринцовката се свързва към преливния флакон чрез конектор и чрез полиетиленова тръбичка (дължина 8 mm, вътрешен диаметър 2,5 mm).

5.3.2.3. Процедура

От преливния флакон, в който е прехвърлено необходимото количество продукт, съгласно т. 5.3 се взема проба с газхроматографска спринцовка. Последната се свързва с преливния флакон, както е описано в т. 5.3.2.2. Отваря се вентилът и се изтегля необходимият обем. Газовите мехурчета се отстраняват чрез раздвижване на буталото, при което иглата на спринцовката е насочена вертикално нагоре. Ако е необходимо, спринцовката се охлажда. Когато спринцовката се напълни с необходимото количество проба без мехурчета, вентилът се затваря и спринцовката се отстранява от преливния флакон. Иглата на спринцовката се вкарва в инжектора на газовия хроматограф, вентилът се отваря и пробата се инжектира.

5.3.2.4. Вътрешен стандарт

Ако се изисква вътрешен стандарт, той се въвежда в преливния флакон посредством обикновена стъклена спринцовка, използвайки конектор.

III. ОПРЕДЕЛЯНЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА СВОБОДНИТЕ НАТРИЕВИ И КАЛИЕВИ ХИДРОКСИДИ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентификация на козметични продукти, съдържащи значителни количества от свободни натриеви и/или калиеви хидроксиди и за определянето на такива свободни натриеви и/или калиеви хидроксиди в продукти за заздравяване на косата и продукти за разтваряне на кожичките около ноктите.

2. Дефиниция

Свободните натриеви и калиеви хидроксиди се определят чрез обема на стандартна киселина, необходима за неутрализирането на продукта при определени условия, като резултатът се изразява в % (M/M) свободен натриев хидроксид.

3. Принцип

Пробата се разтваря или разпръсква във вода и се титрува със стандартна

киселина. Стойността на pH се записва успоредно с прибавянето на киселината:
за прост разтвор на натриеви или калиеви хидроксиди крайната точка е ясно изразената максимална степен на промяната на записаната pH стойност.

Кривата на простото титруване може да се повлияе от присъствието на:

а) амоняк и други слаби органични основи, които имат доста равна крива на титруване; амонякът се отстранява чрез изпаряване при намалено налягане, но при стайна температура;

б) соли на слаби киселини, които могат да създадат много различни точки на инфлексия на кривата на титруване; в такива случаи само първата част на кривата до първите точки на инфлексия отговаря на неутрализацията на хидроксилния йон, идващ от свободния натриев или калиев хидроксид; представена е алтернативна процедура за титруване в алкохол, където се означава прекомерната интерференция от солите на слаби неорганични киселини.

Съществува теоретична възможност, че други разтворими силни основи, например литиев хидроксид, четвъртичен амониев хидроксид, могат да присъстват, причинявайки високо pH, присъствието им в този вид козметичен продукт е твърде невероятно.
4. Идентификация

4.1. Реактиви

4.1.1. Стандартен алкален буферен разтвор pH – 9,18 при 25 °C: 0,05 M натриев борат тетрахидрат

4.2. Апаратура

4.2.1. Стандартно лабораторно оборудване

4.2.2. pH метър

4.2.3. Стъклен мембранен електрод

4.2.4. Стандартен каломелов референтен електрод

4.3. Процедура

Калибрира се pH метърът с електродите, като се използва стандартният буферен разтвор. Приготвя се 10 %-ен воден разтвор или дисперсия на продукта, който ще се анализира, и се филтрува. Измерва се pH. Ако pH е 12 или повече, трябва да се осъществи количествено определяне.

5. Определяне
5.1. Титруване във водна среда

5.1.1. Реактиви

5.1.1.1. Стандартна 0,1 N солна киселина

5.1.2. Апаратура

5.1.2.1. Стандартно лабораторно оборудване

5.1.2.2. pH метър, за предпочитане със записващо устройство

5.1.2.3. Стъклен мембранен електрод

5.1.2.4. Стандартен каломелов референтен електрод

5.1.3. Процедура

Претеглят се между 0,5 и 1,0 g с точност 0,001 g от пробата за изпитване в 150 cm^3 (ml) колба. Ако има амоняк, се прибавят няколко гранули против кипенето и се изпарява под вакуум, използвайки водна помпа, докато престане да се усеща миризмата на амоняк (около 3 h). Остатъкът се разтваря със 100 cm^3 (ml) дестилирана вода и се титрува с 0,1 N разтвор на солна киселина (т. 5.1.1.1), записвайки промяната на pH (т. 5.1.2.2).

5.1.4. Изчисление
Идентифицират се точките на инфлексия върху кривите на титруване. Където се появи първата точка на инфлексия при pH под 7,0, там пробата е свободна от натриев или калиев хидроксид. Където има две или повече точки на инфлексия в кривата, само първата е валидна. Отбелязва се обемът на титранта при първата точка на инфлексия.

Съдържанието на натриев и/или калиев хидроксид (C) в пробата, изразено като % (M/M) натриев хидроксид, се изчислява по формулата:

$$\%C = 0{,}4\frac{V}{M},$$

където:

V е обемът на титранта в cm^3 (ml);

M – теглото на пробата в g.

Възможно е въпреки означенията за присъствие на значително количество натриев и/или калиев хидроксид кривата на титруване да не покаже точката на инфлексия. В такъв случай определянето се повтаря в изопропанол.

5.2. Титруване в изопропанол

5.2.1. Реактиви

5.2.1.1. Изопропанол

5.2.1.2. 1,0 N стандартен воден разтвор на солна киселина
5.2.1.3. 0,1 N солна киселина в изопропанол, приготвена непосредствено преди употреба чрез разреждане на 1,0 N воден разтвор на солна киселина с изопропанол.

5.2.2. Апаратура

5.2.2.1. Стандартно лабораторно оборудване

5.2.2.2. pH метър, за предпочитане със записващо устройство

5.2.2.3. Стъклен мембранен електрод

5.2.2.4. Стандартен каломелов референтен електрод

5.2.3. Процедура

Претеглят се между 0,5 и 1,0 g с точност 0,001 g от пробата за изпитване в 150 cm^3 (ml) колба. Ако има амоняк, се прибавят няколко гранули против кипенето и се изпарява под вакуум, използвайки водна помпа, докато престане да се усеща миризмата на амоняк (около 3 h).

Остатъкът се разтваря със 100 cm^3 (ml) изопропанол и се титрува с 0,1 N солна киселина в изопропанол (т. 5.2.1.1), записвайки промяната в pH (т. 5.2.2.2).

5.2.4. Изчисление

Както в т. 5.1.4 първата точка на инфлексия е при pH около 9,0.
5.3. Повторяемост*

За съдържание на натриев или калиев хидроксид до 5 % (M/M) като натриев хидроксид разликата между резултатите от две определения, осъществени паралелно върху една и съща проба, не трябва да превишава абсолютната стойност от 0,25 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

IV. ОПРЕДЕЛЯНЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ОКСАЛОВА КИСЕЛИНА И НЕЙНИТЕ АЛКАЛНИ СОЛИ В
ПРОДУКТИ ЗА ПОДДЪРЖАНЕ НА КОСАТА

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне и идентификация на оксалова киселина и нейните алкални соли в продукти за поддържане на косата. Той може да се

използва за безцветни водно-алкохолни разтвори и лосиони, които съдържат около 5 % оксалова киселина или еквивалентно количество алкален оксалат.

2. Дефиниция

Съдържанието на оксалова киселина и/или нейните алкални соли, определено по този метод, се изразява като % (M/M) свободна оксалова киселина в пробата.

3. Принцип

След отстраняването на всякакви анионни повърхностноактивни вещества с p-толуидин хидрохлорид оксаловата киселина и/или оксалатите се утаяват като калциев оксалат, след което разтворът се филтрува. Утайката се разтваря в сярна киселина и се титрува с калиев перманганат.

4. Реактиви
Всички реактиви трябва да бъдат с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата да е дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Разтвор на амониев ацетат, 5 % (M/M)

4.2. Разтвор на калциев хлорид, 10 % (M/M)

4.3. Етанол, 95 % (V/V)

4.4. Тетрахлорметан

4.5. Диетилов етер

4.6. Разтвор на p-толуидин дихидрохлорид, 6,8 % (M/M)

4.7. Калиев перманганат, 0,1 N разтвор

4.8. Сярна киселина, 20 % (M/M)

4.9. Солна киселина, 10 % (M/M)

4.10. Натриев ацетат трихидрат
4.11. Ледена оцетна киселина

4.12. Сярна киселина (1:1)

4.13. Наситен разтвор на бариев хидроксид

5. Апаратура

5.1. Делителни фунии, 500 cm^3 (ml)

5.2. Стъклени чаши, 50 cm^3 (ml) и 600 cm^3 (ml)

5.3. Стъклени филтри, G-4

5.4. Мерителни цилиндри, 25 cm^3 (ml) и 100 cm^3 (ml)

5.5. Пипети, 10 cm^3 (ml)

5.6. Смукателни колби, 500 cm^3 (ml)

5.7. Водоструйна помпа
5.8. Термометър, градуиран от 0 до 100 °C

5.9. Магнитна бъркалка с нагревател

5.10. Магнитни разбъркващи пръчки, покрити с тефлон

5.11. Бюрета, 25 cm^3 (ml)

5.12. Конусни колби, 250 cm^3 (ml)

6. Процедура

6.1. Претеглят се 6 до 7 g от пробата с точност 0,001 g в 50 cm^3 (ml) стъклена чаша, довежда се pH до 3,0 с разредена солна киселина (т. 4.9) и се прехвърля в делителна фуния със 100 cm^3 (ml) дестилирана вода. Добавят се последователно 25 cm^3 (ml) етанол (т. 4.3), 25 cm^3 (ml) разтвор на p-толуидин дихидрохлорид (т. 4.6) и 25 до 30 cm^3 (ml) тетрахлорметан (т. 4.4) и сместа се разклаща енергично.

6.2. След разделянето на фазите долната (органична) фаза се отстранява, повтаря се екстракцията, използвайки реактивите, посочени в т. 6.1, и отново се отстранява органичната фаза.

6.3. Водният разтвор се прехвърля в 600 cm^3 (ml) стъклена чаша и се отстранява останалият тетрахлорметан чрез кипене на разтвора.

6.4. Добавят се 50 cm^3 (ml) разтвор на амониев ацетат (т. 4.1), довежда се разтворът до кипене (т. 5.9) и се добавя при разбъркване 10 cm^3 (ml) горещ разтвор на калциев хлорид (т. 4.2). Оставя се да се отдели утайката.

6.5. Проверява се дали е завършено утаяването чрез прибавяне на няколко капки разтвор на калциев хлорид (т. 4.2), оставя се да изстине на стайна температура и се разбърква с 200 cm^3 (ml) етанол (т. 4.3), (т. 5.10), оставя се да престои 30 min.
6.6. Течността се филтрува през стъклен филтър (т. 5.3), утайката се пренася с малко количество гореща вода (50 до 60 °C) във филтъра и се промива със студена вода.

6.7. Утайката се промива 5 пъти с малко етанол (т. 4.3) и след това 5 пъти с малко диетилов етер (т. 4.5). Утайката със стъкления филтър се прехвърля върху друга смукателна колба и се разтваря с 50 cm^3 (ml) гореща сярна киселина (т. 4.8) при изсмукване под вакуум.

6.8. Разтворът се пренася в конусна колба (т. 5.12) и се титрува с разтвор на калиев перманганат (т. 4.7) до леко розово оцветяване.

7. Изчисления

Съдържанието на оксалова киселина в пробата (C), изразено като % (M/M), се изчислява по формулата:

$$\%C = \frac{A \times 4{,}50179 \times 100}{M \times 1000},$$

където:

A е изразходваното количество 0,1 N калиев перманганат при титруването(т. 6.8) в $cm^{3;}$

M – масата на пробата в g (т. 6.1);

4,50179 – коефициентът на превръщане за оксалова киселина.

8. Повторяемост*
За съдържание на оксалова киселина до 5 % разликата между резултатите от две определения, осъществени паралелно върху една и съща проба, не трябва да превишава абсолютната стойност от 0,15 %.

**Забележка*. Виж ISO 5725.

9. Идентификация

9.1. Принцип

Оксаловата киселина и/или нейните оксалати се утаяват като калциев оксалат и се разтварят в сярна киселина. Към разтвора се прибавя разтвор на калиев перманганат, който се обезцветява и причинява образуването на въглероден диоксид. Когато въглеродният диоксид преминава през разтвор на бариев хидроксид, се образува млечнобяла утайка от бариев карбонат.

9.2. Процедура

9.2.1. Част от пробата, която ще се анализира, се обработва, както е описано в точки от 6.1 до 6.3, така че да се отстранят всякакви налични детергенти.

9.2.2. Към 10 cm^3 (ml) от разтвора, получен в съответствие с т. 9.2.1, се добавя шпатула с натриев ацетат (т. 4.10) и разтворът се подкиселява с няколко капки студена оцетна киселина (т. 4.11).

9.2.3. Добавя се 10 % разтвор на калциев хлорид (т. 4.2) и се филтрува.

Утайката от калциев оксалат се разтваря в 2 cm^3 (ml) сярна киселина (1:1) (т. 4.12).

9.2.4. Разтворът се пренася в колбата за изпитване и се добавят на капки 0,5 cm^3 (ml) 0,1 N разтвор на калиев перманганат (т. 4.7). Ако има оксалат, разтворът се обезцветява първо постепенно, а след това бързо.
9.2.5. Веднага след добавянето на калиевия перманганат върху колбата се поставя подходящ крюмер, нагрява се леко и образуваният въглероден диоксид се
събира в наситен разтвор на бариев хидроксид (т. 4.13). Появата на млечен облак от бариев карбонат след 3 до 5 min показва присъствие на оксалова киселина.

V. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЛОРОФОРМ В ПАСТИ ЗА ЗЪБИ

1. Област на приложение

Този метод се отнася за определяне на хлороформ в пасти за зъби чрез газова хроматография в концентрации до 5 %.

2. Дефиниция

Съдържанието на хлороформ, определено с този метод, се изразява като % (M/M).

3. Принцип

Пастата за зъби се суспендира в смес от диметилформамид/метанол, към която се
добавя известно количество ацетонитрил като вътрешен стандарт.

След центрофугиране част от течната фаза се хроматографира и се изчислява съдържанието на хлороформ.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.).
4.1. Porapak Q, Chromosorb 101 или еквивалентни, 80 до 100 mesh

4.2. Ацетонитрил

4.3. Хлороформ

4.4. Диметилформамид

4.5. Метанол

4.6. Разтвор на вътрешен стандарт

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се отпипетират 5 cm^3 (ml) диметилформамид
(т. 4.4) и се добавят около 300 mg (M) ацетонитрил, претеглен с точност 1 mg.
Долива се до марката с диметилформамид и се разбърква.

4.7. Разтвор за определяне на относителния отговор на сигнала

В мерителна колба от 10 cm^3 (ml) се отпипетират точно 5 cm^3 (ml) вътрешен стандартен разтвор (т. 4.6) и се добавят около 300 mg (M1) хлороформ, претеглен с точност 1 mg. Долива се до марката с диметилформамид и се разбърква.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна
5.2. Газов хроматограф с пламъчнойонизационен детектор

5.3. Микроспринцовка с вместимост от 5 до 10 µl и деления от 0,1 µl

5.4. Пипети с вместимост 1, 4 и 5 cm^3 (ml)

5.5. Мерителни колби, 10 и 50 cm^3 (ml)

5.6. Шишенца за изпитване, приблизително 20 cm^3 (ml), с капачки на винт, Sovirel France № 20 или еквивалентни. Капачката на винт има вътрешно уплътнение за запечатване, покрито само от едната страна с тефлон.

5.7. Центрофуга

6. Процедура

6.1. Подходящи газхроматографски условия

6.1.1. Материал за колоната: стъкло

Дължина – 150 cm

Вътрешен диаметър – 4 mm
Външен диаметър – 6 mm

6.1.2. Пълнеж на колоната: Porapak Q, Chromosorb 101 или еквивалентни, с 80
до 100 меша (т. 4.1), киселинно обработени.

6.1.3. Пламъчнойонизационен детектор: чувствителността му се нагласява

така,
че когато се инжектират 3 µl от разтвор (т. 4.7), височината на ацетонитриловия пик да бъде три четвърти от височината на цялата скала.

6.1.4. Газове:

Носител, азот, със скорост на потока 65 cm^3 (ml)/min.

Допълнителни газове: потокът от газове към детектора се нагласява така, че потокът от въздух или кислород да е 5 до 10 пъти повече от този на водорода.

6.1.5. Температури:

на инжекторния блок – 210 °C

на детекторния блок – 210 °C

на колонната пещ – 175 °C

6.1.6. Скорост на диаграмата: около 100 cm/h.
6.2. Подготовка на пробата

Пробата за анализ се взема от неотворена туба. Отстранява се една трета от съдържанието, поставя се отново капачката на тубата, смесва се внимателно съдържанието, след което се взема пробата за изпитване.

6.3. Определяне

6.3.1. В шишенце с капак на винт (т. 5.6) се претеглят 6 до 7 g (M_0) с точност 0,001 g от пастата за зъби, приготвена в съответствие с т. 6.2, и се прибавят три малки стъклени перли.

6.3.2. В шишенцето се отпипетирват точно 5 cm^3 (ml) разтвор на вътрешен стандарт (т. 4.6), 4 cm^3 (ml) диметилформамид (т. 4.4) и 1 cm^3 (ml) метанол (т. 4.5). Шишенцето се затваря и разбърква.

6.3.3. Затвореното шишенце се разклаща за половин час на механична клатачна
машина и се центрофугира за 15 min при такава скорост, че да се получи отделяне на фазите.

Забележка. Възможно е след центрофугирането течната фаза да е все още мътна.
Избистряне може да се получи чрез прибавяне на 1 до 2 g натриев хлорид към
течната фаза и повторно центрофугиране.

6.3.4. Инжектират се 3 µl от този разтвор (т. 6.3.3) според условията, описани в раздел 6.1. Тази операция се повтаря. При описаните по-горе

условия
времената на задържане имат следните характерни стойности:

метанол – приблизително 1 min

ацетонитрил – приблизително 2,5 min

хлороформ – приблизително 6 min
диметилформамид – повече от 15 min

6.3.5. Определяне на относителния отговор на сигнала

Инжектират се 3 µl от разтвор (т. 4.7) двукратно. Относителният отговор на сигнала се определя ежедневно.

7. Изчисления

7.1. Изчисление на относителния отговор на сигнала.

7.1.1. Измерва се височината и ширината на половината височина на пиковете на
ацетонитрила и хлороформа и се изчислява площта на двата пика, използвайки
формулата: височината х ширината на половината височина на пика.

7.1.2. Определя се площта на пиковете на ацетонитрила и хлороформа в хроматограмите, получени в съответствие с т. 6.3.5, и се изчислява относителният отговор на сигнала по следната формула:

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

където:

f_s е относителният отговор на сигнала за хлороформа;

A_s – площта на хлороформния пик (т. 6.3.5);
A_i – площта на ацетонитриловия пик (т. 6.3.5);M_s – количеството хлороформ за 10 cm^3 (ml) от разтвор (т. 4.7) (=M_1) в mg;M_i – количеството ацетонитрил за 10 cm^3 (ml) от разтвор (т. 4.7) (1/10 m) в mg.Изчисляват се средните стойности на получените резултати.7.2. Изчисляване съдържанието на хлороформ.7.2.1. Площта на пиковете на хлороформа и ацетонитрила от получените хроматограми (т. 6.3.4) се изчислява в съответствие с т. 7.1.1.7.2.2. Съдържанието на хлороформ в % (X) в пастата за зъби се изчислява по формулата:

$$\%X = \frac{As \times Mi}{fs \times Ms \times Ai} \times 100\% = \frac{As \times M}{fs \times Ai \times Mo \times 100},$$

където:

X е съдържанието на хлороформ в пастата за зъби в %;

As – площта на хлороформния пик (т. 6.3.4);
Ai – площта на ацетонитрилния пик (т. 6.3.4);

Ms – масата на пробата (т. 6.3.1) (= 1000 Mo) в mg;

Mi – количеството ацетонитрил за 10 cm^3 (ml) от разтвора, получен в съответствие с т. 6.3.2 (1/10 M) в mg.

Средната стойност на получените резултати се изчислява с точност 0,1 %.

8. Повторяемост *

За съдържание на хлороформ до 3 % разликата между резултатите на две успоредни определения на една и съща проба не трябва да превишава абсолютната
стойност от 0,3 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

VI. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЦИНК

1. Област на приложение

Този метод е подходящ за определяне съдържанието на цинк като хлорид, сулфат
или 4-хидроксибензолсулфонат, или като комбинация от някои от тези цинкови
соли в козметични продукти.

2. Дефиниция
Съдържанието на цинк в пробата се определя гравиметрично като бис (2-метил-8-хинолил оксид) и се изчислява като цинк в % (M/M).

3. Принцип

Съдържащият се в разтвор цинк се утаява в кисела среда като цинк бис (2-метил-8-хинолил оксид). След филтруване утайката се изсушава и претегля.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Концентриран амоняк, 25 % (M/M)

4.2. Ледена оцетна киселина

4.3. Амониев ацетат

4.4. 2-метилхинолин-8-ол

4.5. Разтвор на амоняк, 6 % (M/V)

Претеглят се 240 g концентриран амоняк (т. 4.1) в 1000 cm^3 (ml) мерителна колба, долива се с дестилирана вода до марката и се разбърква.
4.6. Разтвор на амониев ацетат, 0,2 M

Разтварят се 15,4 g амониев ацетат (т. 4.3) с дестилирана вода в 1000 cm^3 (ml) мерителна колба, долива се до марката и се разбърква.

4.7. Разтвор на 2-метилхинолин-8-ол

Разтварят се 5 g 2-метилхинолин-8-ол в 12 cm^3 (ml) ледена оцетна киселина и се прехвърлят с дестилирана вода в 100 cm^3 (ml) мерителна колба. Долива се с
дестилирана вода до марката и се разбърква.

5. Апаратура

5.1. Мерителни колби 100 и 1000 cm^3 (ml)

5.2. Бехерова чаша 400 cm^3 (ml)

5.3. Мерителни цилиндри 50 и 150 cm^3 (ml)

5.4. Градуирани пипети 10 cm^3 (ml)

5.5. Стъклен филтър G-4

5.6. Смукателни шишета 500 cm^3 (ml)
5.7. Водоструйна помпа

5.8. Термометър, градуиран от 0 до 100° C

5.9. Ексикатор с подходящ сушител и индикатор за влажност, напр. силикагел
или еквивалентен такъв

5.10. Сушилен шкаф с регулиране на температурата до 150±2 °C

5.11. pH метър

5.12. Нагревателна плоча

5.13. Филтърна хартия Whatman № 4 или еквивалентна

6. Процедура

6.1. В бехерова чаша от 400 cm^3 (ml) се претеглят 5 до 10 g с точност 0,001 g от пробата, която трябва да се анализира (M g), съдържащи около 50 до 100 mg
цинк, прибавят се 50 cm^3 (ml) дестилирана вода и се разбърква.

6.1.1. Ако е необходимо, се филтрува на вакуумпомпа и филтратът се запазва.

6.1.2. Екстракцията се повтаря с още 50 cm^3 (ml) дестилирана вода. Филтрува се и филтратите се събират.
6.2. За всеки 10 mg цинк, намиращ се в разтвора (т. 6.1.2), се прибавят 2 cm^3 (ml) разтвор на 2-метилхинолин-8-ол (т. 4.7) и се разбърква.

6.3. Сместа се разрежда със 150 cm^3 (ml) дестилирана вода, загрява се до 60 °C (т. 5.12) и се прибавят 45 cm^3 (ml) 0,2 M разтвор на амониев ацетат (т. 4.6) при непрекъснато разбъркване.

6.4. Нагласява се pH на разтвора до 5,7 – 5,9, с 6 % амонячен разтвор (т. 4.5), при непрекъснато разбъркване, използвайки pH метър.

6.5. Разтворът се оставя да престои 30 min. Филтрува се на водна помпа през стъклен филтър G-4, предварително изсушен (150 °C) и претеглен след охлаждане (Mo g). Утайката се промива със 150 cm^3 (ml) гореща дестилирана вода (95 °C).

6.6. Филтърът с утайката се поставя в сушилен шкаф и се суши при 150 °C в продължение на 1 h.

6.7. Филтърът с утайката се изважда от сушилния шкаф, поставя се в ексикатор
(т. 5.9) и след охлаждане до стайна температура се претегля (M1 g).

7. Изчисления

Съдържанието на цинк в пробата (C) се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%C = \frac{(M_1 - Mo) \times 17{,}12}{M},$$

където:

M е масата на пробата (т. 6.1) в g;
M_o – масата на празния и изсушен стъклен филтър (т. 6.5) в g;

M_1 – масата на стъкления филтър с утайката (т. 6.7) в g.

8. Повторяемост*

За съдържание на цинк до 1 % (M/M) разликата в резултатите между две

паралелни определения върху една и съща проба не трябва да надвишава абсолютната стойност от 0,1 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

VII. ОПРЕДЕЛЯНЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА 4-ХИДРОКСИБЕНЗОЛСУЛФОНОВА КИСЕЛИНА

1. Област на приложение

Този метод е подходящ за идентификация и определяне на 4-хидроксибензолсулфонова киселина в козметични продукти, като аерозоли и
лосиони за лице.

2. Дефиниция

Съдържанието на 4-хидроксибензолсулфонова киселина, определено в съответствие
с този метод, се изразява като процент безводен цинк 4-хидроксибензолсулфонат
в продукта.

3. Принцип

Пробата се концентрира под намалено налягане, разтваря се във вода и се пречиства чрез екстракция с хлороформ. Определянето на 4-хидроксибензолсулфонова киселина се извършва йодометрично върху аликвотна
част от филтрирания воден разтвор.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да бъдат с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Концентрирана солна киселина, 36 % (M/M) (d_4^{20}=1,18)

4.2. Хлороформ

4.3. Бутан-1-ол

4.4. Ледена оцетна киселина

4.5. Калиев йодид

4.6. Калиев бромид

4.7. Натриев карбонат

4.8. Сулфанилова киселина
4.9. Натриев нитрит

4.10. Калиев бромат, 0,1 N

4.11. Разтвор на натриев тиосулфат, 0,1 N

4.12. Воден разтвор на скорбяла, 1 % (M/V)

4.13. Воден разтвор на натриев карбонат, 2 % (M/V)

4.14. Воден разтвор на натриев нитрит, 4,5 % (M/V)

4.15. Разтвор на дитизон в хлороформ, 0,05 % (M/V)

4.16. Разтворител за проявяване на хроматограмата (подвижна фаза) – бутан-1-ол : ледена оцетна киселина : вода = 4:1:5. След смесване в делителна
фуния се изхвърля долната фаза.

4.17. Реактив на Pauly:

4,5 g сулфанилова киселина (т. 4.8) се разтваря в 45 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (т. 4.1) при загряване и се разрежда с вода до 500 cm^3 (ml). 10 cm^3 (ml) от разтвора се изстудява в съд с ледена вода и се добавя при разбъркване 10 cm^3 (ml) студен разтвор на натриев нитрит (т. 4.14); разтворът се оставя да престои 15 min при 0 °C (при тази температура той остава стабилен за 1 до 3 дни) и непосредствено преди напръскването на хроматограмата (т. 7.5) се добавят 20 cm^3 (ml) разтвор на натриев карбонат (т. 4.13).

4.18. Готови целулозни плаки за тънкослойна хроматография (20x20 cm), дебелина на слоя адсорбент 0,25 mm.
5. Апаратура

5.1. Колби с кръгло дъно с шлифована стъклена запушалка, 100 cm^3 (ml);

5.2. Делителни фунии 100 cm^3 (ml);

5.3. Конусна колба с шлифована стъклена запушалка, 250 cm^3 (ml);

5.4. Бюрета, 250 cm^3 (ml);

5.5. Пипети, 1, 2 и 10 cm^3 (ml);

5.6. Градуирана пипета, 5 cm^3 (ml);

5.7. Микроспринцовка, 10 µl с 0,1 µl деления;

5.8. Термометър, градуиран от 0 до 100 °C;

5.9. Водна баня, оборудвана с нагряващ елемент;

5.10. Сушилен шкаф, добре вентилиран и регулиран до 80 °C;
5.11. Стандартна апаратура за тънкослойна хроматография.

6. Подготовка на пробата

В метода, описан по-долу, за идентификация и определяне на хидроксибензолсулфоновата киселина в аерозоли се използва остатък, получен
след освобождаването на аерозолната опаковка от разтворителите и пропелантите, които се изпаряват при нормално налягане.

7. Идентификация

7.1. С помощта на микроспринцовка (т. 5.7) се нанасят по 5 µl от остатъка (т. 6) или пробата на всяка от шестте точки върху началната линия (старт) на разстояние 1 cm от долния край на тънкослойната плака (т. 4.18).

7.2. Плаката се поставя в хроматографската вана, съдържаща разтворителя за проявяване (подвижна фаза по т. 4.16), и се хроматографира, докато фронтът на
разтворителя достигне 15 cm от началната линия.

7.3. Плаката се изважда от ваната и изсушава при 80 °C, докато миризмата на оцетна киселина престане да се усеща. Плаката се напръсква с разтвор на натриев карбонат (т. 4.13) и се изсушава на въздух.

7.4. Покрива се половината от плаката със стъклена плочка и се напръсква непокритата част с 0,05 % разтвор на дитизон (т. 4.15). Появата на червеноморави петна в хроматограмата показва наличие на цинкови йони.

7.5. Покрива се напръсканата половина на плаката със стъклена плочка и се напръсква другата половина с реактива на Поли (т. 4.17). Наличието на 4-хидроксибензолсулфонова киселина се доказва чрез появата на жълтеникавокафяво петно със стойност на Rf около 0,26, докато жълтото петно
със стойност на Rf около 0,45 в хроматограмата показва наличие на 3-хидроксибензолсулфонова киселина.

8. Определяне

8.1. Претеглят се 10 g с точност 0,001 g от пробата или остатъка (т. 6) в 100 cm^3 (ml) колба с кръгло дъно и се изпарява почти до сухо на вакуумротационен
изпарител на водна баня, поддържана при 40 °C.
8.2. Прибавят се 10 cm^3 (ml) (V_1) вода в колбата и се разтваря остатъкът от

изпаряването (т. 8.1) чрез нагряване.

8.3. Разтворът се пренася количествено в делителна фуния и се екстрахира два
пъти с по 20 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.2). След всяка екстракция хлороформната
фаза се изхвърля.

8.4. Водният разтвор се филтрува през нагънат филтър. В зависимост от очакваното съдържание на хидроксибензолсулфонова киселина се отпипетирват 1,0
или 2,0 cm^3 (ml) (V_2) от филтрата в 250 cm^3 (ml) конусна колба (т. 5.3) и се разрежда с вода до 75 cm^3 (ml).

8.5. Добавят се 2,5 cm^3 (ml) 36 % солна киселина (т. 4.1) и 2,5 g калиев бромид (т. 4.6), разбърква се и се нагласява температурата на разтвора до 50 °C на водна баня.

8.6. Добавя се 0,1 N калиев бромат (т. 4.10) от бюрета, докато разтворът, който е загрят до 50 °C, стане жълт.

8.7. Добавя се 3,0 cm^3 (ml) разтвор на калиев бромат (т. 4.10), колбата се затваря и се оставя да престои 10 min на водна баня при 50 °C. Ако след 10 min разтворът загуби цвета си, добавят се още 2 cm^3 (ml) от разтвора на калиев бромат (т. 4.10), колбата се затваря и загрява за 10 min на водна баня при 50 °C. Записва се цялото количество на прибавения разтвор от калиев бромат (a).

8.8. Разтворът се изстудява при стайна температура, прибавя се 2 g калиев йодид (т. 4.5) и се разбърква.

8.9. Отделеният йод се титрува с 0,1 N разтвор на натриев тиосулфат (т. 4.11).

В края на титруването се прибавят няколко капки от разтвор на скорбяла (т. 4.12) като индикатор. Записва се количеството на използвания натриев тиосулфат (b).

9. Изчисление

Съдържанието на цинк хидроксибензолсулфонат в пробата или остатъка (b) като %
(M/M) се изчислява по формулата:

$$\%M/M\ \text{цинк хидроксибензолсулфонат} = \frac{(a-b)\times V_1 \times 0{,}00514 \times 100}{M \times V_2},$$

където:

а е общото количество на добавения 0,1 N разтвор от калиев бромат (т. 8.7) в

cm^3 (ml);

b – количеството на добавения 0,1 N разтвор от натриев тиосулфат, използван
при обратното титруване (т. 8.9) в cm^3 (ml);

M – количеството на анализирания продукт или остатък в g;

V_1 – обемът на получения разтвор в съответствие с т. 8.2 в cm^3 (ml);

V_2 – обемът на разтворения изпарен остатък, използван за анализа (т. 8.4) в
cm^3 (ml).

Забележка. В случай на аерозоли резултатът от определянето в % (M/M) на
остатъка (b) трябва да се изрази спрямо оригиналния продукт. За целта на
това
превръщане трябва да се направи справка за правилата при пробовземане на
аерозоли.

10. Повторяемост*

За съдържание на цинк хидроксибензолсулфонат до около 5 % (M/M)
разликата
между резултатите на две успоредни определения върху една и съща проба
не
трябва да превишава абсолютната стойност от 0,5 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.
11. Интерпретация на резултатите

Съгласно Приложение № III на Регламент (ЕО) № 1223/2009, т. 25,
максимално
допустимата концентрация на цинк 4-хидроксибензенсулфонат в лосиони за
лице и
дезодоранти е 6 % (M/M). Тази формулировка означава, че освен съдържание
на
хидроксибензолсулфонова киселина трябва да се определи и съдържанието
на
цинк.

Умножението на изчисленото съдържание на цинк хидроксибензолсулфонат
(т. 9)
по коефициент 0,1588 дава минималното цинково съдържание в % (M/M),
което
трябва да се съдържа в продукта от гледна точка на измереното съдържание
на
хидроксибензолсулфонова киселина. Действителното цинково съдържание,
измерено
гравиметрично (виж съответните условия), може обаче да бъде по-високо,

защото
цинковият хлорид и цинковият сулфат могат също да бъдат използвани в козметичните продукти.

VIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ОКИСЛИТЕЛНИ АГЕНТИ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ВОДОРОДЕН ПЕРОКСИД В ПРОДУКТИ ЗА ПОДДЪРЖАНЕ НА КОСАТА

Област на приложение

Йодометричното определяне на водороден пероксид в козметиката е възможно само
в отсъствие на други окислителни агенти, които образуват йод от йодиди. Ето
защо преди йодометричното определение на водороден пероксид е необходимо да
се открият и идентифицират всички други налични окислителни агенти. Това определение се състои от 2 етапа: първият обхваща определяне на персулфати,
бромати и водороден пероксид, а вторият – на бариев пероксид.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ПЕРСУЛФАТИ, БРОМАТИ И ВОДОРОДЕН ПЕРОКСИД

1. Принцип

Натриев персулфат, калиев персулфат и амониев персулфат; калиев бромат, натриев бромат и водороден пероксид – независимо дали произлизат, или не от
бариев пероксид, се определят чрез низходяща хартиена хроматография, като се
използват два проявяващи разтворителя (подвижни фази).

2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.
2.1. 0,5 % (M/V) водни стандартни разтвори на следните компоненти:

2.1.1. Натриев персулфат

2.1.2. Калиев персулфат

2.1.3. Амониев персулфат

2.1.4. Калиев бромат

2.1.5. Натриев бромат

2.1.6. Водороден пероксид

2.2. Проявяващ разтворител А (подвижна фаза А) – 80 % (V/V) етанол

2.3. Проявяващ разтворител Б (подвижна фаза Б) – бензол : метанол : метилбутан-1-ол: вода = 34 : 38 : 18 : 10 (V/V/V/V)

2.4. Детектор А (реактив за оцветяване А), 10 % (M/V) воден разтвор на калиев
йодид

2.5. Детектор Б (реактив за оцветяване Б), 1 % (M/V) воден разтвор на скорбяла
2.6. Детектор В (реактив за оцветяване В), 10 % (M/M) солна киселина

2.7. Солна киселина, 4 N

3. Апаратура

3.1. Хроматографска хартия (Whatman хартия № 3 и № 4 или еквивалентна)

3.2. Микропипета, 1 µl1

3.3. Мерителни колби, 100 cm^3 (ml)

3.4. Нагънати филтри

3.5. Апаратура за низходяща хартиена хроматография

4. Процедура

4.1. Водоразтворими продукти

От всяка проба се приготвят по два разтвора чрез разтваряне на 1 g и 5 g от продукта в 100 cm^3 (ml) вода. От всеки от тези разтвори се използва по 1 µl1 за извършване на хроматографски анализ чрез хартиена хроматография, както е
описано в т. 5.
4.2. Продукти, частично разтворими във вода

4.2.1. От всяка проба се претеглят по 1 g и 5 g и се диспергират в 50 cm^3 (ml) вода. Доливат се до 100 cm^3 (ml) и се разбърква. Двете дисперсии се филтруват през филтър (т. 3.4). От всеки филтрат се използва по 1 µl за извършване на хроматографски анализ чрез хартиена хроматография, както е описано в т. 5.

4.2.2. От всяка проба се приготвят още веднъж две дисперсии – 1 g и 5 g проба
се диспергира в 50 cm^3 (ml) вода, подкислява се с разредена солна киселина

(т. 2.7), долива се с вода до 100 cm^3 (ml) и се хомогенизира. Филтрува се през нагънат филтър (т. 3.4). От двата филтрата се използва по 1 µl за извършване на хроматографски анализ чрез хартиена хроматография, както е описано в т. 5.

4.3. Кремове

5 g и 20 g от всеки продукт се диспергират в 100 cm^3 (ml) вода. Получените дисперсии се използват за извършване на хроматографски анализ чрез хартиена
хроматография, както е описано в т. 5.

5. Процедура

5.1. В две хроматографски вани се поставя достатъчно количество подвижни фази
А (т. 2.2) и Б (т. 2.3) за извършване на хроматографски анализ чрез хартиена хроматография. Хроматографските вани се насищат най-малко 24 h с парите на
подвижната фаза и плътно се затварят с подходящ капак.

5.2. Върху стартови точки от лентата на хроматографската хартия (Whatman № 3
или еквивалентна) с дължина 40 cm и ширина 20 cm (т. 3.1) се нанасят по 1 µ11
от единия разтвор на анализираната проба и от стандартния разтвор, приготвени
според т. 4 и 2.1. Изсушава се на въздуха.

5.3. Хроматографската лента (т. 5.2) се поставя в хроматографската вана, напълнена с подвижна фаза (т. 5.1). Хроматографира се, докато фронтът на подвижната фаза се придвижи на 35 cm (около 5 h).

5.4. Описаната в т. 5.2 и 5.3 процедура се повтаря, като се използва подвижна фаза Б и хроматографска хартия (Whatman № 4 или еквивалентна) (т. 3.1). Хроматографира се до достигане на фронта (35 cm).

5.5. Хроматограмите се изваждат и се изсушават на въздуха.
5.6. Детектиране (оцветяване): хроматограмата се напръсква последователно със:

5.6.1. Детектор А (т. 2.4), последван от детектор Б (т. 2.5). Петната на персулфатите в пробата и в съответния стандартен разтвор (т. 2.1) са по-близо
до старта от тези на водородния пероксид. Петната се маркират с молив.

5.6.2. Детектор В (т. 2.6) върху хроматограмите, получени съгласно т. 5.6.1. При наличие на бромати върху хроматограмата се появяват сиво-сини петна, идентични с тези на стандартния разтвор (т. 2.1).

5.7. При горепосочените условия, отнасящи се до подвижни фази А (т. 2.2) и Б
(т. 2.3), Rf стойностите на стандартните вещества (т. 2.1) са приблизително следните:

	Подвижна фаза А (т. 2.2)	Подвижна фаза Б (т. 2.3)
Натриев персулфат	0.40	0.10
Калиев персулфат	0.40	0.02 + 0.05
Амониев персулфат	0.50	0.10 + 0.20
Натриев бромат	0.40	0.20
Калиев бромат	0.40	0.10 + 0.20
Водороден пероксид	0.80	0.80

Б. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА БАРИЕВ ПЕРОКСИД

1. Принцип

Бариевият пероксид се идентифицира след подкисляване на пробата (т. А.4.2)
чрез образуването на водороден пероксид в присъствие на бариевия йон:

1.1. При отсъствието на персулфати (т. А) (т. Б.4.1) – чрез добавяне на разредена сярна киселина към една част от киселия разтвор на пробата (т. Б.4.1), в резултат на което се образува бяла утайка от бариев сулфат. Присъствието на бариев йон в пробата (т. Б.4.1) се доказва чрез хартиена хроматография по описания по-долу начин (т. Б.5).

1.2. При наличие на персулфати (т. Б.4.2) – последователно се извършва следното: изваряване на остатъка от разтвора (т. Б.4.2) в алкална среда и разтваряне в солна киселина; в разтвора, получен от стопилката (т. Б.4.2), присъствието на бариеви йони се доказва чрез хартиена хроматография и/или
чрез утаяване като бариев сулфат.

2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

2.1. Метанол

2.2. Концентрирана солна киселина, 36 % (M/M)

2.3. Солна киселина, 6 N

2.4. Сярна киселина, 4 N

2.5. Динатриева сол на родизониевата киселина

2.6. Бариев хлорид ($BaCl_2.2H_2O$)

2.7. Безводен натриев карбонат

2.8. Воден разтвор на бариев хлорид, 1 % (M/V)

2.9. Проявяващ разтворител (подвижна фаза) – метанол : концентрирана солна
киселина (концентрация 36 %) : вода = 80 : 10 : 10 (V/V/V)

2.10. Детектор (реактив за оцветяване), 0,1 % (M/V) воден разтвор на динатриева сол на родизониевата киселина, приготвени непосредствено преди
употреба.

3. Апаратура

3.1. Микропипета, 5 µl1

3.2. Платинени тигли

3.3. Мерителни колби, 100 cm^3 (ml)

3.4. Хроматографска хартия Schleicher и Schull 2043b или еквивалентна. Хартията се обработва предварително, като се поставя за една нощ в съд за нисходяща хроматография (т. А.3), съдържащ проявяващ разтворител (подвижна
фаза) (т. Б.2.9.), след което се изсушава.
3.5. Нагънат филтър

3.6. Апаратура за осъществяване на възходяща хартиена хроматография

4. Подготовка на пробата

4.1. Проби, в които няма персулфати.

4.1.1. 2 g от продукта се диспергират в 50 cm^3 (ml) вода и се довежда до pH на дисперсията приблизително 1 със солна киселина (т. Б.2.3).

4.1.2. Дисперсията се прехвърля с вода в мерителна колба от 100 cm^3 (ml), долива се с вода до марката и се разбърква. Приготвената дисперсия се използва за анализ чрез хартиена хроматография, както е описано в т. 5 за идентифициране на барий чрез утаяване на сулфата.

4.2. Проби, в които има персулфати

4.2.1. 2 g от продукта се диспергират в 100 cm^3 (ml) вода и се филтрува.

4.2.2. Към изсушения остатък се прибавя натриев карбонат (т. Б.2.7) в количество 7 до 10 пъти от неговото тегло, разбърква се и сместа се стапя в платинов тигел (т. В.3.2) за 30 min.

4.2.3. Охлажда се до стайна температура и стопилката се разтваря в 50 cm^3 (ml) вода и се филтрува (т. В.3.5).

4.2.4. Остатъкът върху филтъра се разтваря в солна киселина (т. В.2.3) и се долива с вода до 100 cm^3 (ml). Този разтвор се използва за анализ чрез хартиена хроматография, както е описано в т. 5, и за определяне на барий чрез
утаяване на сулфата.
5. Процедура

5.1. Подходящо количество от проявяващия разтворител (подвижната фаза) (т.
Б.2.9) се поставя във ваната за възходяща хартиена хроматография. Последната
се насища с парите на разтворителя минимум 15 h.

5.2. Върху три стартови точки на лист от хроматографската хартия, обработена
предварително, както е описано в т. Б.3.4, се накапва по 5 µl от приготвените разтвори съгласно т. Б.4.1.2 и т. Б.4.2.4 и от стандартния разтвор (т.
Б.2.8).

5.3. Петната се изсушават на въздуха. Хроматографира се до достигане на фронта (30 cm).

5.4. Хроматограмата се изважда от ваната и се изсушава на въздуха.

5.5. Детектиране (оцветяване): Хроматограмата се напръсква с детектор (т. Б.2.10). При наличие на барий върху хроматограмата се появяват червени петна
с Rf стойност около 0,10.

В. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ВОДОРОДЕН ПЕРОКСИД В КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ ЗА ПОДДЪРЖАНЕ НА
КОСАТА

1. Област на приложение

Йодометричното определяне на водороден пероксид в козметични продукти е
възможно само при отсъствие на други окислителни агенти, които отделят йод от
йодидите.

2. Принцип

Йодометричното определяне на водороден пероксид се основава на следната реакция:
$H_2O_2 + 2H^+ + 2I- I2 + 2H_2O$

Реакцията протича много бавно, но може да се ускори чрез прибавяне на алуминиев молибдат. Отделеният йод се определя титриметрично с натриев тиосулфат и е еквивалентен на съдържанието на водороден пероксид.

3. Дефиниция

Съдържанието на водороден пероксид, определено по начина, описан по-долу, се
изразява като % (M/M) на продукта.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Сярна киселина, 1 mol/dm^3 (2 N).

4.2. Калиев йодид.

4.3. Амониев молибдат.

4.4. Натриев тиосулфат, 0,1 mol/dm^3 (0,1 N).

4.5. Калиев йодид, 10 % (M/V), приготвен непосредствено преди използването.
4.6. Амониев молибдат, 20 % (M/V).

4.7. Скорбелен разтвор, 1,0 % (M/V).

5. Апаратура

5.1. Бехерови чаши, 100 cm^3 (ml).

5.2. Бюрета, 50 cm^3 (ml).

5.3. Мерителни колби, 250 cm^3 (ml).

5.4. Мерителни цилиндри, 25 и 100 cm^3 (ml).

5.5. Пипети, 10 cm^3 (ml).

5.6. Ерленмайерови колби, 250 cm^3 (ml).

6. Процедура

6.1. В бехерова чаша от 100 cm^3 (ml) се претеглят 10 g (M) с точност 0,001 g от продукта, съдържащ около 0,6 g водороден пероксид. Пробата се прехвърля с
вода в 250 cm^3 (ml) мерителна колба, долива се до марката с вода и се разбърква.
6.2. Отпипетирват се 10 cm^3 (ml) от разтвора на пробата и се прехвърлят в 250cm^3 (ml) ерленмайерова колба (т. 5.6). Прибавят се последователно 100 cm^3(ml) разтвор на сярна киселина (т. 4.1), 20 cm^3 (ml) разтвор на калиев йодид (т. 4.5) и три капки разтвор на амониев молибдат (т. 4.6).6.3. Отделеният йод се титрува веднага с разтвор на натриев тиосулфат (т.4.4) и малко преди достигане на еквивалентния пункт се прибавят няколко cm^3(ml) скорбелен разтвор като индикатор (т. 4.7). Отчита се изразходваното количество (V) разтвор на натриев тиосулфат (т. 4.4) в cm^3 (ml).6.4. По начина, описан в т. 6.2 и 6.3, се титрува празна проба, като сезаместват 10 cm^3 (ml) от разтвора на пробата с 10 cm^3 (ml) вода. Отчита сеизразходваното количество разтвор (V_o) на натриев тиосулфат за празната проба в cm^3 (ml).7. ИзчислениеСъдържанието на водороден пероксид в продукта като % (M/M) се изчислява по формулата:

$$\%\ водороден\ прекис = \frac{(V - V_0) \times 1{,}7008 \times 250 \times 100}{M \times 10 \times 1000} = \frac{(V - V_0) \times 4{,}252}{M},$$

където:

M е количеството от анализирания продукт (т. 6.1) в g;

V_o – изразходваното количество разтвор на натриев тиосулфат за титруването на
празната проба (т. 6.4) в cm^3 (ml);

V – изразходваното количество разтвор на натриев тиосулфат за титруването на
пробата (т. 6.3) в cm^3 (ml).

8. Повторяемост*
За продукти, съдържащи около 6 % (M/M) водороден пероксид, разликата междурезултатите от две определения, проведени паралелно върху една и съща проба, не трябва да превишава абсолютната стойност от 0,2 %.*Забележка.* Виж ISO 5725.IX. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НЯКОИ ОКИСЛИТЕЛНИ БАГРИЛА В БОИ ЗА КОСА1. Област на приложениеМетодът се отнася за идентификация и полуколичествено определяне на следните субстанции в бои за коса в течна и кремообразна форма:

Субстанция	Означение
<u>Фенилендиамини</u>	(о-ФДА)
о-фенилендиамин	(м-ФДА)
m-фенилендиамин	(п-ФДА)
p-фенилендиамин	
<u>Метилфенилендиамини</u>	(о-ТДА)
4-метил-1,2-фенилендиамин (толуен-3,4-диамин)	(м-ТДА)
4-метил-1,3-фенилендиамин (толуен-2,4-диамин)	(п-ТДА)
2-метил-1,4-фенилендиамин (толуен-2,5-диамин)	
<u>Диаминофеноли</u>	(ДАФ)

2,4-диаминофенол	
Хидрохинон 1,4-бензендиол	(Х)
α-нафтол	(а-Н)
Пирогалол 1,2,3-трихидроксибензен	(П)
Резорцинол 1,3-дихидроксибензен	(Р)

2. Принцип

Окислителните багрила, съдържащи се в бои за коса в течна и кремообразна форма, се екстрахират с 96 % етанол при pH 10 и се идентифицират с едно- и двупосочна тънкослойна хроматография.

За полуколичествено определяне на тези субстанции хроматограмата на пробите
се сравнява с тази на стандартни субстанции в 4 проявяващи системи (подвижни
фази), получени едновременно и при същите условия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Етанол, безводен.

3.2. Ацетон.

3.3. Етанол, 96 % (V/V).

3.4. Амонячен разтвор, 25 % (d_4^{20}=0,91).

3.5. L(+)-аскорбинова киселина.

3.6. Хлороформ.
3.7. Циклохексан.

3.8. Азот, технически.

3.9. Толуен.

3.10. Бензен.

3.11. н-бутанол.

3.12. Бутан-2-ол.

3.13. Хипофосфорна киселина, 50 % (V/V).

3.14. Диазо реагент:

3.14.1. 3-нитро-1-бензендиазониев хлоробензенсулфонат (стабилизирана сол)

3.14.2. 2-хлоро-4-нитро-1-бензендиазониев нафталенбензоат (стабилизирана сол)

3.15. Сребърен нитрат.
3.16. п-диметиламинобензалдехид.

3.17. 2,5-диметилфенол.

3.18. Ферихлорид хексахидрат.

3.19. Солна киселина, 10 % (V/V).

3.20. Стандартни субстанции.

Стандартните субстанции са посочени в т. 1 Област на приложение.

При аминосъединенията стандартната субстанция трябва да бъде или хидрохлорид
(моно- или ди-), или свободна основа.

3.21. Стандартни разтвори, 0,5 % (M/V).

Приготвя се 0,5 % (M/V) разтвор на всяка стандартна субстанция (т. 3.20).

Претеглят се 50 mg ± 1 mg от стандартната субстанция в мерителна колба от 10 cm^3 (ml).

Добавят се 5 cm^3 (ml) 96 % етанол (т. 3.3) и 250 mg аскорбинова киселина (т. 3.5).
Разтворът се алкализира с амонячен разтвор (т. 3.4) до pH 10 (тест с индикаторна хартия).

Долива се до 10 cm^3 (ml) с 96 % етанол (т. 3.3) и се разбърква.

Разтворите могат да се съхраняват до една седмица на студено и тъмно място.

В някои случаи след добавянето на аскорбинова киселина и амоняк може да се
образува утайка.

Преди работа тези разтвори се оставят да се утаят.

3.22. Системи разтворители за хроматографско разделяне (подвижни фази).

3.22.1. Ацетон : хлороформ : толуен = 35 : 25 : 40 (V/V/V).

3.22.2. Хлороформ : циклохексан : абсолютен етилов алкохол : 25 % амоняк = 80
: 10 : 10 : 1 (V/V/V/V).

3.22.3. Бензен : бутан – 2-ол : вода = 50 : 25 : 25 (V/V/V).

Разклаща се добре след разделяне при стайна температура (20 °C до 25 °C) и се използва горната фаза.

3.22.4. н-бутанол : хлороформ : реагент M = 7 : 70 : 23 (V/V/V).
Разделя се внимателно при стайна температура (20 °C до 25 °C) и се използва долната фаза.

Реагент M:

Амонячен разтвор, 25 % (V/V) – 24 обемни части

Хипофосфорна киселина, 50 % (т. 3.13) – 1 обемна част

Вода – 75 обемни части

Забележка. Подвижните фази, съдържащи амоняк, трябва да се разклащат непосредствено преди употреба.

3.23. Индикаторни спрейове (проявяващи реактиви).

3.23.1. Diaso реагент.

От избрания реагент (т. 3.14) се приготвя непосредствено преди употреба 5 %
(M/V) воден разтвор.

3.23.2. Реагент на Ehrlich.

Разтварят се 2,0 g п-диметиламинобензалдехид (т. 3.16) в 100 cm^3 (ml) воден разтвор на солна киселина 10 % (M/V) (3.19).
3.23.3. 2,5-диметилфенол-ферихлорид хексахидрат.

<u>Разтвор 1:</u> Разтваря се 1,0 g диметилфенол (т. 3.17) в 100 cm^3 (ml) 96 % етанол (т. 3.3).

<u>Разтвор 2:</u> Разтварят се 4,0 g ферихлорид хексахидрат (т. 3.18) в 100 cm^3 (ml)

96 % етанол (т. 3.3).

За проявяване хроматограмата се пръска последователно с разтвор 1 и после с
разтвор 2.

3.23.4. Сребърен нитрат – амонячен разтвор

Към 5 % (M/V) воден разтвор на сребърен нитрат (т. 3.15) се добавя 25 % амоняк (т. 3.4), докато утайката се разтвори. Приготвя се непосредствено преди употреба. Остатъкът от разтвора се изхвърля.

4. Апаратура

4.1. Стандартна апаратура за тънкослойна хроматография.

4.1.1. Пластмасов или стъклен капак с конструкция, която осигурява хроматографската плака да е в азотна атмосфера при проявяване и сушене на петната. Тази предпазна мярка е необходима поради податливостта на някои багрила към окисление.

4.1.2. Микроспринцовка от 10 µl, градуирана през 0,2 µl, с игла с квадратно
сечение или препоръчително дозаторно устройство от 50 µl, монтирано върху
скобата на статива, така че плаката да бъде под азот.

4.1.3. Тънкослойни силикагелни плаки 20x20 cm с дебелина на слоя 0,25 mm (Macherey and Nagel, Silica g-HR или еквивалентни).
4.2. Центрофуга, 4000 rpm.

4.3. Центрофужни епруветки, 10 cm^3 (ml), с полиетиленови капачки на винт или
еквивалентни.

5. Процедура

5.1. Подготовка на пробите

При изстискване на тубата първите 2 – 3 cm се отстраняват. В центрофужна епруветка (т. 4.3), предварително продухана с азот, се поставят 300 mg аскорбинова киселина и 3,0 g кремообразна или хомогенизирана течна боя. Добавя се 25 % амоняк (т. 3.4) на капки до pH 10. Долива се до 10 cm^3 (ml) с 96 % етанол (т. 3.3), хомогенизира се под азот (т. 3.8), центрофугира се 10 min при 4000 rpm. Изследва се горният слой на течната фаза.

5.2. Хроматографски анализ

5.2.1. Нанасяне на разтворите върху плаките

На хроматографската плака (т. 4.1.3) се маркира стартова линия на 1,5 cm от ръба й. Върху 9 точки се нанасят по 1,0 µl от стандартните разтвори в посочения ред:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Р м-ТДА	П α-Н	Х	п-ФДА	ДАФ	п-ТДА	о-ФДА	о-ТДА	м-ФДА

Върху т. 10 и 11 се нанасят по 2,0 µl от разтвора на пробата (т. 5.1).

Нанасянето на стандартите и пробите се извършва под азот (т. 3.8) и плаката се държи под азот до момента на хроматографирането.

5.2.2. Хроматографско разделяне

Хроматографската вана е предварително продухана с азот (т. 3.8) и наситена с
една от четирите подвижни фази (т. 3.22). Плаката се поставя във ваната при стайна температура (20 °C до 25 °C) на тъмно, докато фронтът
достигне 15 cm от стартовата линия, след което се изважда и изсушава под азот
(т. 3.8) при стайна температура.

5.2.3. Проявяване на петната

Плаката се напръсква веднага с един от четирите разтвора, описани в т. 3.23.

5.2.4. Идентифициране

Сравняват се Rf стойностите и цветовете на получените петна от пробата с тези
на стандартните разтвори.

В табл. 1 са представени Rf стойностите и цветовете на петната на всички стандартни субстанции в съответните подвижни фази и използваните проявяващи
реактиви.

По тази методика понякога може да се получи спорна идентификация при сравняване на петната на съответните стандартни субстанции с тези на пробата.

5.2.5. Полуколичествено определяне
Сравнява се визуално интензивността на петната на всяко вещество, идентифицирано съгласно т. 5.2.4 със серия от стандартни разтвори с подходяща
концентрация.

Ако концентрацията на една или повече субстанции в пробата е много
висока,
пробата се разрежда и определението се повтаря.

Таблица 1

Rf стойности и цветове на петната, получени веднага след напръскването

Стандартна субстанция (3.20)	Подвижна фаза Rf стойности				Индикаторни спрейове (проявяващи реактиви) Цветове на получените петна		
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Diaso (3.23.1)	Ehrlich (3.23.2)	Диметил фенол (3.23.3)
о-ФДА	0,62	0,60	0,30	0,57	Бледокафяв	-	
м-ФДА	0,40	0,60	0,47	0,80	Виолетово-кафяв(*)	Жълт	Бледокафяв
п-ФДА	0,20	0,50	0,30	0,48	Кафяв	Светлочервен(*)	Виолетов
о-ТДА	0,60	0,60	0,53	0,60	Кафяв(*)	Бледооранжев	Бледокафяв
м-ТДА	0,40	0,67	0,45	0,60	Червено-кафяв(*)	Жълт	Кафяв
п-ТДА	0,33	0,65	0,37	0,70	Кафяв	Оранжев	Виолетов(*)
ДАФ	0,07	-	0	0,05	Кафяв(*)	Оранжев	Виолетов
Х	0,50	0,35	0,80	0,20	-	Оранжев	Виолетов
α-Н	0,90	0,80	0,90	0,75	Оранжево-кафяв	-	Виолетов(*)
П	0,37	-	0,67	0,05	Кафяв	Много бледовиолетов	Много бледокафяв
Р	0,50	0,37	0,80	0,17	Оранжев	Бледовиолетов	Много бледокафяв

Ако концентрацията на една или повече субстанции в пробата е много
висока,
пробата се разрежда и определението се повтаря.

Забележки:

1. о-ФДА се проявява слабо; трябва да се използва подвижна фаза (т. 3.22.3),
за да се разграничи ясно от о-ТДА.

2. (*) показва най-добро развитие на цвета.

6. Изпитване с двупосочна тънкослойна хроматография

Двупосочната хроматографска процедура изисква употребата на допълнителни
стандарти и реактиви.

6.1. Допълнителни стандартни разтвори и субстанции

6.1.1. β-нафтол (β-Н).

6.1.2. 2-аминофенол (о-АФ).

6.1.3. 3-аминофенол (м-АФ).

6.1.4. 4-аминофенол (п-АФ).
6.1.5. 2-нитро-1,4-фенилендиамин (2-НПФДА).

6.1.6. 4-нитро-1,2-фенилендиамин (4-НОФДА).

Приготвят се 0,5 % (M/V) разтвори на всички допълнителни стандартни субстанции, както е описано в т. 3.21.

6.2. Допълнителна подвижна фаза

6.2.1. Етилацетат : циклохексан : амонячен разтвор (25 %) = 65 : 30 : 0,5 (V/V/V).

6.3. Допълнителна индикаторна система за проявяване на петната

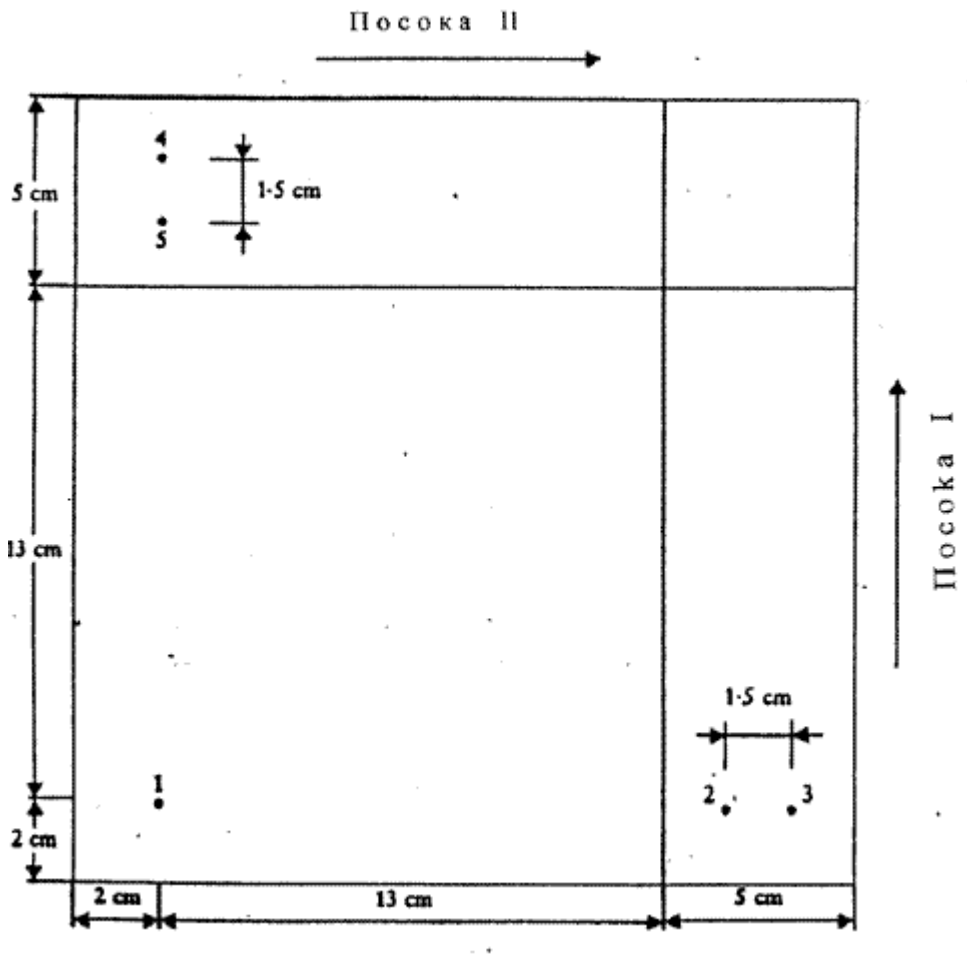
Във ваната за тънкослойна хроматография се поставя стъклен съд с 2,0 g йодни
кристали и ваната се затваря с подходящ капак.

6.4. Хроматографиране

6.4.1. Върху абсорбиращата повърхност на плаката за тънкослойна хроматография
(т. 4.1.3) се начертават две линии, както е показано на фиг. 1.

6.4.2. Под азотна атмосфера (т. 4.1.1) се нанасят от 1 до 4 µl от екстракта на пробата на стартова точка 1 (фиг. 1), която е на 2 cm от двете страни на плаката.

Количеството на нанесения екстракт зависи от интензивността на петната върху
хроматограмите (т. 5.2).



Фиг. 1

6.4.3. Нанасят се на стартови точки 2 и 3 (фиг. 1) окислителните багрила, които са идентифицирани или предстои да се идентифицират чрез т. 5.2 (разстоянието между точките е 1,5 cm). От всички стандартни разтвори се нанасят по 2,0 µl, с изключение на ДАФ – от него трябва да се нанесат 6,0 µl.
Нанасянето се провежда под азот (т. 6.4.2).

6.4.4. Повтаря се операция (т. 6.4.3) за стартови точки 4 и 5 (фиг. 1) – разстояние между точките 1,5 cm, и се оставя плаката под азот до момента на хроматографиране.

6.4.5. Хроматографската вана се продухва с азот (т. 3.8) и се насища с подвижна фаза (т. 3.22.2).

Плаката (т. 6.4.4) се поставя във ваната в първата посока (фиг. 1) на тъмно.

Хроматографирането продължава, докато фронтът на подвижната фаза достигне
маркираната линия върху плаката (приблизително 13 cm).

6.4.6. Плаката се изважда от ваната и се поставя в друга, предварително продухана с азот, където престоява поне 60 min, за да се изпарят разтворителите.

6.4.7. В следваща хроматографска вана, също предварително продухана с азот
(т. 3.8) и наситена с подвижна фаза (т. 6.2), плаката се поставя обърната на 90°.

Хроматографира се във втората посока (също на тъмно), докато фронтът на подвижната фаза достигне начертаната линия върху абсорбиращата повърхност
(фиг. 1), след което се изважда от ваната и се оставя на въздух да се изпарят разтворителите.

6.4.8. Плаката се поставя за 10 min в хроматографската вана с йодни пари (т.6.3). Двупосочната хроматограма се тълкува, като се използват Rf стойностите
и цветът на стандартните субстанции, хроматографирани по същото време. В табл. 2 са посочени цветовете на петната на стандартните субстанции.

Забележка. За да се получи максимално оцветяване на петната, хроматограмата
се оставя на въздух за половин час след проявяване на петната.
6.4.9. Наличието на окислителни багрила, открити в т. 6.4.8, може окончателно
да се потвърди с повторение на операциите, описани в т. 6.4.1 до т. 6.4.8, и добавяне в стартова точка 1, върху количеството нанесена проба (т. 6.4.2), на 1 µl от стандартните разтвори, идентифицирани в т. 6.4.8.

Ако не се открие друго петно, сравнено с получената хроматограма в т. 6.4.8, тълкуването й е правилно.

Таблица 2

Цвят на петната на стандартните субстанции след хроматографиране и проявяване
с йодни пари

Стандартна субстанция	Цвят след проявяване с йодни пари
Р	Бежов
П	Кафяв
α-Н	Виолетов
β-Н	Бледокафяв
Х	Виолетово-кафяв
м-ФДА	Жълто-кафяв
п-ФДА	Виолетово-кафяв
м-ТДА	Тъмнокафяв
п-ТДА	Жълто-кафяв

ДАФ	Тъмнокафяв
о-АФ	Оранжев
м-АФ	Жълто-кафяв
п-АФ	Виолетово-кафяв
2-НПФДА	Кафяв
4- НОФДА	Оранжев

X. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НИТРИТИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на нитрити в козметични продукти, в частност
в кремове и пасти.

2. Принцип

Присъствието на нитрити се установява чрез образуване на цветни производни с
2-аминобензалдехид фенилхидразон (Nitrin R).

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Разредена сярна киселина: 2 cm^3 (ml) концентрирана сярна киселина (d_4^{20}=1,84) се разреждат с 11 cm^3 (ml) дестилирана вода.

3.2. Разредена солна киселина: 2 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (d_4^{20}=1,19) се разреждат с 11 cm^3 (ml) дестилирана вода.

3.3. Метанол.
3.4. Разтвор на 2-аминобензалдехид фенилхидразон (реактив Nitrin R) в метанол.

Претеглят се 2,0 g Nitrin R с точност 0,001 g и се прехвърлят количествено в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). На капки се прибавят 4,3 cm^3 (ml) разредена солна киселина (т. 3.2) и се разклаща. Долива се до марката с метанол и се разбърква, докато разтворът стане напълно бистър. Разтворът се съхранява в тъмна стъклена бутилка (т. 4.3).

4. Апаратура

4.1. Стъклени чаши, 50 cm^3 (ml).

4.2. Мерителна колба, 100 cm^3 (ml).

4.3. Тъмна стъклена бутилка, 125 cm^3 (ml).

4.4. Стъклена плочка, 10 x 10 cm.

4.5. Пластмасова шпатула.

4.6. Филтърна хартия, 10 x 10 cm.

5. Процедура

5.1. Част от пробата за изследване се разстила равномерно върху стъклената плочка (т. 4.4), така че да покрие повърхността с дебелина на слоя не повече от 1 cm.
5.2. Филтърна хартия (т. 4.6) се напоява с дестилирана вода. Разстила се върху пробата и се притиска с пластмасова шпатула (т. 4.5).

5.3. Изчаква се 1 min и в центъра на филтърната хартия се накапват:

5.3.1. две капки разредена сярна киселина (т. 3.1)

5.3.2. две капки реактив на Nitrin R (т. 3.4)

5.4. След 5 до 10 sec филтърната хартия се отстранява и се разглежда на дневна светлина. Присъствието на нитрити се установява от червеникавопурпурно
оцветяване.

Ако съдържанието на нитрити е ниско, след 5 до 15 sec червеникавопурпурното
оцветяване се променя в жълто. Тази промяна се наблюдава едва след 1 до 2 min, когато количеството на нитрити е голямо.

Интензивността на червеникавопурпурното оцветяване и времето, което протича
до промяната му в жълто, може да даде указание за съдържанието на нитрити в
пробата.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на нитрити в козметични продукти.

2. Дефиниция
Съдържанието на нитрити в пробата, определено съгласно този метод, се изразява в % (M/M) натриев нитрит.

3. Принцип

След разреждане с вода и избистряне присъстващите нитрити реагират със сулфаниламид и N-1-нафтилетилендиамин и се измерва оптическата плътност на
полученото цветно съединение при дължина на вълната 538 nm.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Избистрящи реактиви: съхраняват се в хладилник и са устойчиви в продължение на една седмица.

4.1.1. Реактив Carrez I:

Разтварят се 106 g калиев цианоферат (II) ($K_4Fe(CN)_6.3H_2O$) в дестилирана вода
до 1000 cm^3 (ml).

4.1.2. Реактив Carrez II:

В мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се разтварят 219,5 g цинков ацетат ($Zn(CH_3COO)_2.2H_2O$) и 30 cm^3 (ml) ледена оцетна киселина и се долива до марката с дестилирана вода.

10 cm^3 (ml) от този разтвор се разрежда до 500 cm^3 (ml) с дестилирана вода; 1,0 cm^3 (ml) от последния разтвор = 10 µg $NaNO_2$.
4.2. Разтвор на натриев нитрит:

В мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се разтварят 0,500 g натриев нитрит в дестилирана вода и се долива до марката с дестилирана вода. 10 cm^3 (ml) от този разтвор се разреждат до 500 cm^3 (ml) с дестилирана вода; 1 cm^3 (ml) от последния разтвор съдържа 10 µg $NaNO_2$.

4.3. Натриев хидроксид, 1 N

4.4. Сулфаниламид хидрохлорид, 0,2 % (M/V)

В 1000 cm^3 (ml) колба се разтварят 2,0 g сулфаниламид в 800 cm^3 (ml) вода при
нагряване. Охлажда се и се добавят 100 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина
при бъркане. Долива се до марката с дестилирана вода.

4.5. Солна киселина, 5 N

4.6. Реактив N-1-нафтил, приготвен непосредствено преди употреба.

В 100 cm^3 (ml) мерителна колба се разтварят 0,1 g N-1-нафтилетилендиамин дихидрохлорид в дестилирана вода и се долива до марката.

5. Апаратура

5.1. Аналитична везна.

5.2. Мерителни колби от 100, 250, 500 и 1000 cm^3 (ml).
5.3. Градуирани пипети.

5.4. Мерителни цилиндри от 100 cm^3 (ml).

5.5. Нагъната филтърна хартия, свободна от нитрити, диаметър 15 cm.

5.6. Водна баня.

5.7. Спектрофотометър с кювети с дебелина на слоя 1 cm.

5.8. pH-метър.

5.9. Микробюрета от 10 cm^3 (ml).

5.10. Стъклени чаши от 250 cm^3 (ml).

6. Процедура

6.1. Претеглят се около 0,5 g (M) с точност до 0,0001 g от хомогенизираната проба, прехвърля се количествено с топла вода в стъклена чаша от 250 cm^3 (ml)
(т. 5.10) и обемът се довежда приблизително до 150 cm^3 (ml) с топла дестилирана вода. Чашата (т. 5.10) се поставя във водна баня (т. 5.6) при 80 °C за половин час, като се разклаща периодично.

6.2. Охлажда се до стайна температура и последователно при разбъркване се добавят 2 cm^3 (ml) реактив Carrez I (т. 4.11) и 2 cm^3 (ml) реактив Carrez II (т. 4.12).
6.3. Прибавя се разтвор на натриев хидроксид (т. 4.3) за довеждане на pH до 8,3 с pH-метър (т. 5.8). Съдържанието се прехвърля количествено в мерителна
колба от 250 cm^3 (ml) и се долива до марката с дестилирана вода.

6.4. Съдържанието се разбърква и се филтрува през филтърна хартия (т. 5.5).

6.5. С помощта на пипета (т. 5.3) се прехвърля в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) (т. 5.2) не повече от 25 cm^3 (ml) от бистрия филтрат (V). Долива се с дестилирана вода до обем 60 cm^3 (ml).

6.6. След разбъркване се добавят 10,0 cm^3 (ml) разтвор на сулфаниламид

хидрохлорид (т. 4.4) и след това 6,0 cm^3 (ml) 5 N солна киселина (т. 4.5). Разбърква се и се оставя да престои 5 min. Прибавят се 2,0 cm^3 (ml) реактив N-1-нафтил (т. 4.6), разбърква се и се оставя да престои 3 min. Долива се с вода до марката и се разбърква.

6.7. Приготвя се празна проба чрез повтаряне на операции (т. 6.5 и т. 6.6) без прибавяне на реактив N-1-нафтил (т. 4.6).

6.8. Измерва се (т. 5.7) оптическата плътност при 538 nm на разтвора, получен
съгласно т. 6.6 спрямо празната проба (т. 6.7) като контрола.

6.9. По стандартна крива (т. 6.10) се отчита съдържанието на натриев нитрит в
mg/100 cm^3 (ml) разтвор (M_1), което съответства на отчетената оптическа плътност в т. 6.8.

6.10. Изготвя се стандартна крива, като се използва 10 μg/cm^3 (ml) разтвор на натриев нитрит (т. 4.2) за концентрации 0, 20, 40, 60, 80 и 100 μg натриев нитрит на 100 cm^3 (ml).

7. Изчисление

Съдържанието на натриев нитрит в пробата в % (M/M) се изчислява с помощта на
следната формула:

$$\%NaNO_2 = \frac{250}{V} \times M_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{M} = \frac{M_1}{V \times M \times 40},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 6.1) в g;

M_1 – съдържанието на натриев нитрит, определено съгласно т. 6.9 в μg;

V – филтратът, използван за измерването (т. 6.5) в cm^3 (ml).

8. Повторяемост*

При съдържание на натриев нитрит около 0,2 % разликата между резултатите от
две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля абсолютна стойност от 0,005 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XI. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СВОБОДЕН ФОРМАЛДЕХИД

1. Област на приложение

Този метод описва идентификация и два начина за определяне, съобразно присъствието или не, на източници на формалдехид. Той е приложим за всички
козметични продукти.

1.1. Идентификация
1.2. Общо колориметрично определяне с пентан-2,4-дион

Този метод е приложим, когато формалдехидът е използван самостоятелно или с
други консерванти, които не са източници на формалдехид.

Когато това не е изпълнено или резултатите надвишават максимално допустимите
концентрации, трябва да се използва следващият метод за потвърждение.

1.3. Определяне в присъствие на източници на формалдехид.

В посочения по-горе метод (т. 1.2) по време на дериватизацията източниците на
формалдехид се разцепват и това води до твърде завишени резултати (свързан
или полимеризиран формалдехид).

Необходимо е да се отдели свободният формалдехид чрез течна хроматография.

2. Дефиниция

Съдържанието на свободен формалдехид в пробата, определено съгласно този
метод, се изразява в % (M/M).

3. Идентификация

3.1. Принцип

Свободният и свързаният формалдехид в сярнокисела среда променят цвета на
реактива на Schiff в розов или лилав.
3.2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дейонизирана.

3.2.1. Фуксин

3.2.2. Натриев сулфит кристалохидрат ($Na_2SO_3.7H_2O$)

3.2.3. Концентрирана солна киселина (d = 1,19)

3.2.4. Сярна киселина, 1 M

3.2.5. Реактив на Schiff: 0,1 g фуксин (т. 3.2.1) се претегля в чаша и се разтваря в 75 cm^3 (ml) вода при 75 °C. След охлаждане се прибавят 2,5 g натриев сулфит (т. 3.2.2). Долива се до 100 cm^3 (ml). Използва се до две седмици.

3.3. Процедура

3.3.1. Претеглят се 2 g от пробата в стъклена чаша от 10 cm^3 (ml).

3.3.2. Прибавят се две капки сярна киселина (т. 3.2.4) и 2 cm^3 (ml) реактив на Schiff (т. 3.2.5). При използване този реактив трябва да е абсолютно безцветен. Разклаща се и се оставя да престои 5 min.

3.3.3. Ако се наблюдава розово или лилаво оцветяване в рамките на 5 min, формалдехидът присъства в количество, по-голямо от 0,01 %, и трябва да се определи по метода за свободен и свързан формалдехид (т. 4) и ако е необходимо, по метод (т. 5).
4. Общо колориметрично определяне с пентан 2,4-дион

4.1. Принцип

Формалдехидът реагира с пентан-2,4-дион в присъствие на амониев ацетат, като
образува 3,5-диацетил-1,4-дихидротолуидин. Той се екстрахира с бутан-1-ол и
абсорбцията на екстракта се измерва при 410 nm.

4.2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дейонизирана.

4.2.1. Безводен амониев ацетат.

4.2.2. Концентрирана оцетна киселина,
$d^{20}4$ = 1,05.

4.2.3. Пентан-2,4-дион, прясно дестилиран при намалено налягане 25 mm Hg, 25
°C – не трябва да има никаква абсорбция при 410 nm.

4.2.4. Бутан-1-ол.

4.2.5. Солна киселина, 1 М.

4.2.6. Солна киселина, 0,1 М.
4.2.7. Натриев хидроксид, 1 М.

4.2.8. Разтвор на скорбяла, приготвен непосредствено преди употреба, съгласно
Европейската фармакопея (1 g/50 cm^3 (ml) вода), 2-ро издание 1980, част I-VII-I-1.

4.2.9. Формалдехид, 37 % до 40 % (M/V).

4.2.10. Стандартен разтвор на йод, 0,05 М.

4.2.11. Стандартен разтвор на натриев тиосулфат, 0,1 М.

4.2.12. Реактив пентан-2,4-дион:

В мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се разтварят: 150 g амониев ацетат (т. 4.2.1), 2,0 cm^3 (ml) пентан-2,4-дион (т. 4.2.3) и 3,0 cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 4.2.2). Обемът се довежда до марката с вода (pH на разтвора – около 6,4). Този реагент трябва да бъде приготвен непосредствено преди употреба.

4.2.13. Реактив (т. 4.2.12) без пентан-2,4-дион.

4.2.14. Формалдехид-стандарт: основен разтвор

В мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се наливат 5 g формалдехид (т. 4.2.9) и се долива с вода до марката.

Концентрацията на разтвора се определя, както следва:
Вземат се 10 cm^3 (ml), прибавят се 25 cm^3 (ml) от стандартния разтвор на йод (т. 4.2.10) и 10 cm^3 (ml) разтвор на натриев хидроксид (т. 4.2.7). Оставя се да престои 5 min.

Подкиселява се с 11 cm^3 (ml) HCl (т. 4.2.5) и се определя излишъкът от йод със стандартен разтвор на натриев тиосулфат (т. 4.2.11), като се използва разтвор на скорбяла (т. 4.2.8) като индикатор.

1,0 cm^3 (ml) 0,05 m изразходван разтвор на йод (т. 4.2.10) е еквивалентен на 1,5 mg формалдехид.

4.2.15. Формалдехид-стандарт: работен разтвор

Основният разтвор на формалдехид се разрежда последователно 1/20 и 1/100 с
вода.

1,0 cm^3 (ml) от този разтвор съдържа около 1,0 µg формалдехид.

Изчислява се точното съдържание.

4.3. Апаратура

4.3.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.3.2. Филтър за разделяне на фазите, Whatman 1 PS (или еквивалентен).

4.3.3. Центрофуга.
4.3.4. Водна баня, нагласена на 60 °C.

4.3.5. Спектрофотометър.

4.3.6. Стъклени кювети с оптичен път 1,0 cm.

4.4. Процедура

4.4.1. Подготовка на пробата:

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претегля с точност до 0,001 g количество
от пробата (g), съответстващо на предполагаемо съдържание на формалдехид
около 150 µg. Долива се с вода до марката и се разбърква (разтвор C).

(Проверява се дали pH е близко до 6; ако не е, се разрежда с разтвор на солна киселина (т. 4.2.6).

В ерленмайерова колба от 50 cm^3 (ml) се прибавят: 10 cm^3 (ml) от разтвор C, 5
cm^3 (ml) реактив пентан-2,4-дион (т. 4.2.12) и дейонизирана вода до краен обем 30 cm^3 (ml).

4.4.2. Сравнителен разтвор

Възможното влияние, дължащо се на фоновото оцветяване на изпитваната проба,
се отстранява със следния сравнителен разтвор: в ерленмайерова колба от 50 cm^3 (ml) се прибавят: 10 cm^3 (ml) от разтвор C, 5 cm^3 (ml) реактив (т. 4.2.13) и дейонизирана вода до краен обем 30 cm^3 (ml).

4.4.3. Празна проба
В ерленмайерова колба от 50 cm^3 (ml) се прибавят: 5 cm^3 (ml) реактив пентан-2,4-дион (т. 4.2.12) и дейонизирана вода до краен обем 30 cm^3 (ml).

4.4.4. Определяне

4.4.4.1. Смесите от т. 4.4.1, т. 4.4.2 и т. 4.4.3 се разклащат.
Ерленмайеровите колби се потапят във водна баня при 60 °C точно за 10 min. Охлаждат се за 2 min в ледена баня.

4.4.4.2. Прехвърлят се в делителни фунии от 50 cm^3 (ml), които съдържат по 10
cm^3 (ml) бутан-1-ол (т. 4.2.4). Всяка колба се промива с 3 до 5 cm^3 (ml) вода. Сместа се разбърква енергично в продължение на точно 30 sec. Оставя се
да се разслои.

4.4.4.3. Бутан-1-ол – фазата се филтрува в кюветите на спектрофотометъра през
филтър за разделяне на фазите (т. 4.3.2). Може да се използва и центрофугиране (3000 rpm за 5 min).

4.4.4.4. Измерва се абсорбцията A1 на пробата (т. 4.4.1) спрямо стандарния разтвор (т. 4.4.2) при 410 nm.

4.4.4.5. По същия начин се измерва абсорбцията A2 на празната проба (т. 4.4.3) срещу бутан-1-ол.

Забележка. Всички тези операции трябва да бъдат проведени в рамките на 25 min
от момента, в който ерленмайеровите колби са поставени във водната баня при
60 °C.

4.4.5. Стандартна крива

4.4.5.1. В ерленмайерова колба от 50 cm^3 (ml) се прибавят: 5 cm^3 (ml) от разредения стандартен разтвор (т. 4.2.15), 5 cm^3 (ml) реактив пентан-2,4-дион (т. 4.2.12) и дейонизирана вода до краен обем 30 cm^3 (ml).

4.4.5.2. Продължава се, както е описано в т. 4.4.4, и се измерва абсорбцията срещу бутан-1-ол (т. 4.2.4).
4.4.5.3. Процедурата се повтаря с 10, 15, 20 и 25 cm^3 (ml) от разредения стандартен разтвор (т. 4.2.15).4.4.5.4. За получаване на нулевата стойност (съответстваща на оцветяването на реактивите) се процедира както в т. 4.4.4.5.4.4.5.5. Построява се стандартна крива, след като от всяка от абсорбциите, получени в т. 4.4.5.1 и 4.4.5.3, се извади нулевата стойност.Законът на Beer е валиден до 30 µg формалдехид.4.5. Изчисления4.5.1. Изважда се A2 от A1 и от стандартната крива (т. 4.4.5.5) се отчита количеството C на формалдехида в разтвора на пробата (т. 4.4.1) в µg.4.5.2. Изчислява се количеството на формалдехида в пробата (% M/M) с помощта на следната формула:

$$\textit{Съдържание на формалдехид в } \% = \frac{C}{10^3 \times M},$$

където:

M е масата на количеството за изпитване в g;

C – количеството на формалдехида в разтвора на пробата (т. 4.4.1), отчетено от стандартната крива (т. 4.4.5.5) в µg.
4.6. Повторяемост*

За съдържание на формалдехид 0,2 % разликата между две успоредни определения,
проведени с една и съща проба, не трябва да надхвърля 0,005 % за определянето
по колориметричния метод с пентан-2,4-дион.

Ако определянето на свободен формалдехид води до резултати, по-високи от концентрациите, предвидени в Приложение № V на Регламент (ЕО) № 1223/2009, т.
5, например:

а) между 0,05 % и 0,2 %, неозначени в етикета на продукта;

б) по-високи от 0,2 % в продукт, независимо означен или не в етикета на продукта, трябва да бъде приложена процедурата съгласно т. 5, дадена по-долу.

5. Определяне в присъствието на източници на формалдехид

5.1. Принцип

Отделеният формалдехид се превръща в жълто лутидиново производно чрез реакция
с пентан-2,4-дион в реактор след колоната и полученото производно се определя
по абсорбцията при 420 nm.

5.2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация за ВЕТХ.

5.2.1. Вода с качество за ВЕТХ или с еквивалентно качество.
5.2.2. Безводен амониев ацетат.

5.2.3. Концентрирана оцетна киселина.

5.2.4. Пентан-2,4-дион (съхраняван при 4 °C).

5.2.5. Безводен динатриев фосфат.

5.2.6. Ортофосфорна киселина, 85 % (d = 1,7).

5.2.7. Метанол с качество за ВЕТХ.

5.2.8. Дихлорметан.

5.2.9. Формалдехид, 37 до 40 % (W/V).

5.2.10. Натриев хидроксид, 1 M.

5.2.11. Солна киселина, 1 M.

5.2.12. Солна киселина, 0,002 M.
5.2.13. Разтвор на скорбяла, приготвен непосредствено преди употреба съгласно
Европейската фармакопея (виж т. 4.2.8).

5.2.14. Стандартен разтвор на йод, 0,05 M.

5.2.15. Стандартен разтвор на натриев тиосулфат, 0,1 M.

5.2.16. Подвижна фаза: воден разтвор на динатриев фосфат (т. 5.2.5), 0,006 M,
доведен до pH 2,1 с ортофосфорна киселина (т. 5.2.6).

5.2.17. Реактив за следколонна дериватизация: в мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се разтварят: 62,5 g амониев ацетат (т. 5.2.2), 7,5 cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 5.2.3) и 5 cm^3 (ml) пентан-2,4-дион (т. 5.2.4). Долива се до марката с вода (т. 5.2.1). Този реактив се съхранява на тъмно. Време за съхранение: максимум 3 дни при 25 °C. Не трябва да се наблюдават промени в цвета.

5.2.18. Формалдехид-стандарт: основен разтвор

В мерителна колба от 1000 cm^3 (ml) се наливат 10 g формалдехид (т. 5.2.9) и се долива с вода до марката. Концентрацията на разтвора се определя, както следва: вземат се 5 cm^3 (ml) от разтвора, прибавят се 25 cm^3 (ml) от стандартния разтвор на йод (т. 5.2.14) и 10 cm^3 (ml) разтвор на натриев хидроксид (т. 5.2.10). Оставя се да престои 5 min. Подкислява се с 11 cm^3 (ml) HCl (т. 5.2.11) и се титрува излишъкът от стандартния разтвор на йод със
стандартен разтвор на натриев тиосулфат (т. 5.2.15) в присъствие на разтвор на скорбяла (т. 5.2.13) като индикатор. 1 cm^3 (ml) разтвор на йод (т. 5.2.14) е еквивалентен на 1,5 mg формалдехид.

5.2.19. Формалдехид-стандарт: разреден разтвор

Основният разтвор се разрежда с подвижна фаза (т. 5.2.16) до 1/100-на от неговата първоначална концентрация. 1 cm^3 (ml) от този разтвор съдържа около
37 mg формалдехид. Изчислява се точното съдържание.

5.3. Апаратура

5.3.1. Стандартно лабораторно оборудване.
5.3.2. Помпа за BETX, без пулсации.

5.3.3. Помпа без пулсации за ниско налягане за реактивите (или втора BETX помпа).

5.3.4. Инжекционен дозаторен кран с 10 µl капиляра.

5.3.5. Следколонен реактор, състоящ се от следните компоненти:

5.3.5.1. тригърлена колба от 1 dm^3 (l),

5.3.5.2. нагревател за колби от 1 dm^3 (l),

5.3.5.3. две колони Vigreux с минимум 10 тарелки, с въздушно охлаждане,

5.3.5.4. капиляра от неръждаема стомана (за топлообмен) 1,6 mm с вътрешен диаметър 0,23 mm, дължина 400 mm,

5.3.5.5. тефлонова капиляра 1,6 mm с вътрешен диаметър 0,30 mm, дължина 5 m
("Френска плетка"), виж Допълнение 1,

5.3.5.6. един Т-образен съединител без мъртъв обем (Valco или еквивалентен),

5.3.5.7. три съединителя без мъртъв обем,
или: един следколонен модул Applied Biosystems PCRS 520 или еквивалентен,
снабден с реактор от 1 cm^3 (ml).

5.3.6. Мембранен филтър с размер на порите 0,45 µm.

5.3.7. SEP-PAKR C18 cartridge (филтриращ патрон) или еквивалентен.

5.3.8. Готови колони:

5.3.8.1. Bischoff hypersil RP 18 – type NC ref. C 25.46 1805 (5 µ1m, дължина 250 mm, вътрешен диаметър 4,6 mm)

5.3.8.2. Dupont Zorbax ODS (5 µ1m, дължина 250 mm, вътрешен диаметър 4,6 mm)

5.3.8.3. Phase SEP, spherisorb ODS 2 (5 µm, дължина 250 mm, вътрешен диаметър
4,6 mm)

5.3.9. Предколона:

Bischoff K1 hypersil RP 18 – ref. K1 g 6301 1805 (5 µm, дължина 10 mm, или еквивалентна).

5.3.10. Колоната и предколоната са свързани посредством система Ecotube (ref.
A 15020508 Bischoff) или еквивалентна.

5.3.11. Апаратурата (т. 5.3.5) се сглобява, както е показано на блок-схемата в Допълнение 2.
Връзките след дозатора трябва да са възможно най-къси. Стоманената капиляра
между изхода на реактора и входа на детектора е предназначена да охлажда реакционната смес преди измерването и температурата в детектора не е известна, но е постоянна.

5.3.12. Детектор за УВ и видимата област.

5.3.13. Пишещо устройство.

5.3.14. Центрофуга.

5.3.15. Ултразвукова вана.

5.3.16. Вибрационна бъркалка (Vortex или еквивалентна).

5.4. Принцип

5.4.1. Стандартна крива

Тя се получава чрез нанасяне на височините на пиковете като функция от концентрацията на разредения формалдехид-стандарт.

Приготвят се стандартни разтвори чрез разреждане на стандартния разтвор на
формалдехид (т. 5.2.19) с подвижна фаза (т. 5.2.16): 1 cm^3 (ml) разтвор (т. 5.2.19), разреден до 20 cm^3 (ml) (около 185 µg/100 cm^3 (ml), 2 cm^3 (ml) разтвор (т. 5.2.19), разреден до 20 cm^3 (ml) (около 370 µg/100 cm^3 (ml), 5 cm^3 (ml) разтвор (т. 5.2.19), разреден до 25 cm^3 (ml) (около 740 µg/100 cm^3 (ml) и 5 cm^3 (ml) разтвор (т. 5.2.19), разреден до 20 cm^3 (ml) (около 925 µg/100 cm^3 (ml). Стандартните разтвори се съхраняват до 1 h при лабораторна
температура и трябва да бъдат приготвени, непосредствено преди употреба.
Линейността на стандартната крива е добра за концентрации между 1 и 15 µg/cm^3
(ml).

5.4.2. Приготвяне на пробите
5.4.2.1. Емулсии (кремове, база за гримове, очни линии)

В колба със запушалка от 100 cm^3 (ml) се претегля с точност до 0,001 g количество от пробата (M), съответстващо на предполагаемо количество формалдехид от 100 µg. Прибавят се 20 cm^3 (ml) дихлорметан (т. 5.2.8) и 20 cm^3 (ml) солна киселина (т. 5.2.12), точно измерени. Разбърква се с вибрационна бъркалка (т. 5.3.16) и с помощта на ултразвукова вана (т. 5.3.15). Двете фази се разделят чрез центрофугиране (3000 rpm/2 min). Междувременно филтруващият патрон (т. 5.3.7) се промива с 2 cm^3 (ml) метанол
(т. 5.2.7), след което с 5 cm^3 (ml) вода (т. 5.2.1). 4 cm^3 (ml) от водната фаза се пропуска през филтруващия патрон, отделят се първите 2 cm^3 (ml), а останалата фракция се събира.

5.4.2.2. Лосиони, шампоани

В колба със запушалка от 100 cm^3 (ml) се претегля с точност до 0,001 g количество от пробата (M), съответстващо на предполагаемо количество формалдехид от 500 µg. Долива се с подвижна фаза (т. 5.2.16) до 100 cm^3 (ml).
Разтворът се филтрува през филтър (т. 5.3.6) и се инжектира или пропуска през
филтруващия патрон (т. 5.3.7), кондициониран както по-горе (т. 5.4.2.1).
Всички разтвори трябва да се инжектират веднага след приготвянето им.

5.4.3. Хроматографски условия:

5.4.3.1. Скорост на потока на подвижната фаза – 1 cm^3 (ml)/min,

5.4.3.2. Скорост на потока на реагента – 0,5 cm^3 (ml)/min,

5.4.3.3. Обща скорост на потока на изхода на детектора – 1,5 cm^3 (ml)/min,

5.4.3.4. Инжектиран обем – 10 µl1,

5.4.3.5. Температура на елуиране – в случай на трудно разделяне колоната се потапя в баня с топящ се лед; изчаква се температурата да се стабилизира (15 – 20 min),

5.4.3.6. Температура на следколонния реактор – 100 °C,
5.4.3.7. Детектор - 420 nm.Забележка. Цялата хроматографска система и възелът след колоната трябва да садобре промити с вода след използване (т. 5.2.1). Когато системата не сеизползва повече от два дни, тогава промиването с вода трябва да се последваот промиване с метанол (т. 5.2.7). Преди рекондициониране на системата през нея се пропуска вода, за да се избегне кристализация.5.5. ИзчисленияЕмулсии (т. 5.4.2.1):Съдържание на формалдехид в % (M/M):

$$\frac{C \times 10^{-6} \times 100}{5 \times M} = \frac{C \times 10^{-4}}{5 \times M}$$

Лосиони, шампоани:В този случай формулата става:

$$\frac{C \times 10^{-6} \times 100}{M} = \frac{C \times 10^{-4}}{M},$$

където:

M е масата на анализираната проба (т. 5.4.2.1) в g;

C – концентрацията на формалдехида, отчетена от стандартната крива (т. 5.4.1)
в µg/100 cm^3 (ml).

5.6. Повторяемост*

За съдържание на формалдехид 0,05 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля 0,001 %.

За съдържание на формалдехид 0,2 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля 0,005 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

ДОПЪЛНЕНИЕ 1

ИНСТРУКЦИИ ЗА "ФРЕНСКА ПЛЕТКА"

Необходими принадлежности

1. Дървена бобина: външен диаметър 5 cm с централен канал с диаметър 1,5 cm.
Забиват се четири стоманени пирона (както е показано на фиг. 1 и 2).
Разстоянието между два пирона трябва да е 1,8 cm и те трябва да са забити на
0,5 cm от отвора на канала,

2. Твърда игла (тип кука за плетене) за правене на бримки с тефлонова капиляра,

3. 1,6 mm тефлонова капиляра с дължина 5 m и вътрешен диаметър 0,3 mm.

Процедура
За започване на "Френската плетка" тефлоновата капиляра трябва да се прокара
през централния канал на бобината от горния към долния край (около 10 cm от
капилярата да се показват от долния край на бобината, като така се дава възможност веригата да се издърпва по време на процеса на "плетене"); след

това капилярата се увива последователно около четирите пирона, както е показано на фиг. 3.

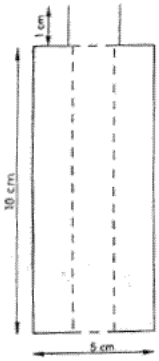
Горната и долната част на "Френската плетка" могат да са защитени с метални
пръстени и затягащи винтове; трябва да се внимава да не се пречупи тефлоновата капиляра при силно издърпване. Капилярата се увива втори път около пирона и се правят "бримките", както следва:

Долната част на капилярата се прехвърля върху горната с помощта на куката (виж фиг. 4). Този процес се повтаря за всеки пирон подред (1, 2, 3, 4 в посока, обратна на часовниковата стрелка) до получаване на 5 m или друга желана дължина на плетката.

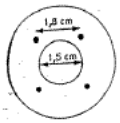
Оставят се около 10 cm от капилярата за затваряне на веригата.

Капилярата се промушва през всяка от четирите бримки и леко се издърпва, за
да се затвори краят на веригата.

Забележка. "Френска плетка" за следколонни реактори се продава на пазара (Supelco).



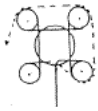
Фигура 1



Фигура 2

Първа капиляра

Фигура 3



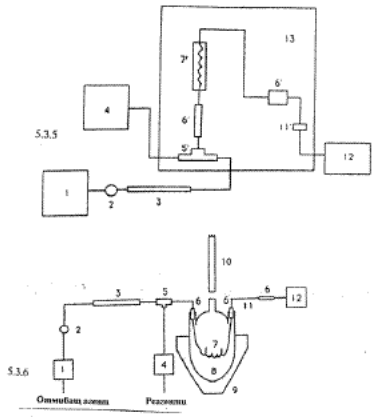
Втора капиляра

За получаване на „бримката“ вдигнете долната капиляра (непрекъснатата линия) върху втората капиляра (пунктирната линия).

Фигура 4

Фигура 5

ДОПЪЛНЕНИЕ 2



1. HPLC – помпа
2. Инжектор
3. Колони с предколона
4. Помпа за реагенти
5. Т-разклонителя без мъртва обем
5'. Т – разклонителя (Vortex)
6-6'. Съединителя без мъртав обем
7. "Френска плетка"
7'. Реактор
8. Тригърлена колба с кипяща вода
9. Нагревател на колбата
10. Хладник
11. Стоманена топлообменна капиляра
11'. Топлообменник
12. UV-VIS - детектор
13. Следколонен модул PCRS

XII. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РЕЗОРЦИНОЛ В ШАМПОАНИ И ЛОСИОНИ ЗА КОСА

1. Област на приложение

Методът се отнася за газхроматографско определяне на резорцинол в шампоани и лосиони за коса. Методът е подходящ за концентрации в пробата от 0,1 % до 2,0 % (M/M).

2. Принцип

Резорцинол и 3,5-дихидрокситолуен (5-метилрезорцинол), добавени като вътрешен стандарт, се разделят от пробата чрез тънкослойна хроматография. Двете съединения се изолират чрез изстъргване на техните петна от плаката за тънкослойна хроматография и се екстрахират с метанол. След това екстрахираните съединения се изсушават, силилират и определят чрез газова хроматография.

3. Дефиниция

Съдържанието на резорцинол в пробата, определено по този метод, се изразява в % (M/M).

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Солна киселина, 25 % (V/V).

4.2. Метанол.
4.3. Етанол, 96 % (V/V).

4.4. Готови плаки за тънкослойна хроматография (пластмасови или алуминиеви) със силикагел с флуоресцентен индикатор. Дезактивират се, както следва: обикновени плаки с покритие от силикагел се напръскват с вода, докато повърхността им стане лъскава. Напръсканите плаки се оставят да изсъхнат на въздух при стайна температура в продължение на един до три часа.

Забележка. Ако плаките не са дезактивирани, може да има загуби на резорцинол поради необратимата му адсорбция върху силикагела.

4.5. Подвижна фаза: ацетон: хлороформ:оцетна киселина = 20:75:5 (V/V/V).

4.6. Стандартен разтвор на резорцинол: 400 mg резорцинол се разтварят в 100
cm^3 (ml) 96 % етанол (т. 4.3).

1 cm^3 (ml) съответства на 4000 µg резорцинол.

4.7. Разтвор на вътрешен стандарт: разтварят се 400 mg 3,5-дихидрокситолуен
(ДХТ) в 100 cm^3 (ml) 96 % етанол (т. 4.3) (1 cm^3 (ml) съответства на 4000 µg ДХТ).

4.8. Стандартна смес: смесват се 10 cm^3 (ml) разтвор (т. 4.6) и 10 cm^3 (ml) разтвор (т. 4.7) в мерителна колба от 100 cm^3 (ml), долива се до марката с етанол (т. 4.3) и се разбърква (1 cm^3 от него съответства на 400 µg резорцинол и 400 µg ДХТ).

4.9. Силилиращи агенти:

4.9.1. N,O-бис-(триметилсилил)-трифлуорацетамид (БСТФАА).

4.9.2. Хексаметилдисилазан (ХМДС).
4.9.3. Триметилхлорсилан (ТМХС).

5. Апаратура

5.1. Стандартно оборудване за тънкослойна и газова хроматография.

5.2. Стъклария.

6. Процедура

6.1. Приготвяне на пробата.

6.1.1. В стъклена чаша от 150 cm^3 (ml) се претегля проба за анализ, с точност до 0,001 g, която съдържа приблизително 20 до 50 mg резорцинол.

6.1.2. Подкислява се със солна киселина (т. 4.1), докато сместа стане кисела (необходими са около 2 до 4 cm^3 (ml), прибавят се 10 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешния стандарт (т. 4.7) и се разбърква. Прехвърля се в мерителна колба от
100 cm^3 (ml) с етанол (т. 4.3), долива се до марката с етанол и се разбърква.

6.1.3. Нанасят се 250 µl от разтвора (т. 6.1.2) върху плаката с дезактивиран силикагел (т. 4.4) като непрекъсната линия с дължина около 8 cm. Внимава се линията да е възможно тънка.

6.1.4. Нанасят се 250 µl от стандартната смес (т. 4.8) на същата плака по

същия начин (т. 6.1.3).

6.1.5. На две точки от стартовата линия се накапват по 5 µl от всеки от стандартните разтвори (т. 4.6 и т. 4.7), за да се улесни локализирането след проявяването на плаката.
6.1.6. Хроматограмата се развива в ненаситена вана, заредена с подвижна фаза
(т. 4.5). След достигане на фронта (12 cm), за около 45 min, плаката се изважда и изсушава на въздух. Локализира се зоната резорцинол/ДХТ на късовълнова УВ светлина (254 nm). Двата компонента имат приблизително еднакви
Rf стойности. Ивиците се отбелязват с молив на 2 mm разстояние от тяхната външна тъмна гранична линия. Тези зони се изстъргват и адсорбентът от всяка
ивица се събира в шише от 10 cm^3 (ml).

6.1.7. Адсорбентът, съдържащ пробата, и адсорбентът, съдържащ стандартната
смес, се екстрахират по следния начин: прибавят се 2 cm^3 (ml) метанол (т.
4.2) и се екстрахира 1 h при непрекъснато бъркане. Сместа се филтрува и екстракцията се повтаря за още 15 min с 2 cm^3 (ml) метанол.6.1.8. Екстрактите се обединяват и разтворителят се изпарява чрез изсушаванеза една нощ във вакуумексикатор, зареден с подходящ сушител. Не се прилага никакво загряване.6.1.9. Остатъците (т. 6.1.8) се силилират, както е посочено в т. 6.1.9.1 или в т. 6.1.9.2.6.1.9.1. С помощта на микроспринцовка се прибавят 200 µl БСТФАА (т. 4.9.1) исместа се оставя да престои в затворен съд в продължение на 12 h при стайна температура.6.1.9.2. С помощта на микроспринцовка се прибавят последователно 200 µl ХМДС(т. 4.9.2) и 100 µl ТМХС (т. 4.9.3) и сместа се загрява в продължение на 30 min при to= 60 °C в затворен съд. Сместа се охлажда.6.2. Газова хроматография.6.2.1. Хроматографски условия.Колоната трябва да има разделителна способност R, равна или по-добра от 1,5:

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

където:
r_1 и r_2 са времената на задържане на двата пика в min;

w_1 и w_2 – ширините на същите пикове при половината от височината в mm;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

Подходящи са следните газхроматографски условия:

Колона	материал дължина вътрешен диаметър пълнеж	неръждаема стомана 200 cm около 3 mm 10 % OV-17 върху Chromosorb WAW, 100 mesh

а) пламъчнойонизационен детектор:

температури:

колона – 185 °C (изотермичен режим)

детектор – 250 °C

инжектор – 250 °C

б) газносител – азот:

поток – 45 cm^3 (ml)/min.

Потокът на водорода и въздуха се съобразява съгл. инструкцията към апарата.

6.2.2. Инжектират се 1 до 3 µl от разтворите, получени съгласно т. 6.1.9. За всеки разтвор (т. 6.1.9) се правят по 5 инжектирания, измерват се площите на пиковете, данните се осредняват и се изчислява отношението между площите на
пиковете:

S = площта на пика на резорцинола/площта на пика на ДХТ.

7. Изчисление
Концентрацията на резорцинол в пробата се изчислява по следната формула:

$$\%\ резорцинол = \frac{4}{M} \times \frac{S_{проба}}{S_{стандартна\ смес}},$$

където:

M е количество на пробата (т. 6.1.1) в g;

$S_{проба}$ – средното съотношение на площите на пиковете съгласно т. 6.2.2 за разтвора на пробата;

$S_{стандартна\ смес}$ – средното съотношение на площите на пиковете съгласно т. 6.2.2 за стандартната смес.

8. Повторяемост*

При съдържание на резорцинол около 0,5 % разликата между резултатите от две
успоредни определяния, проведени с една и съща проба, не трябва да надхвърля
абсолютна стойност 0,025 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XIII. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МЕТАНОЛ ВЪВ ВРЪЗКА С ЕТАНОЛ И ПРОПАН-2-ОЛ

1. Област на приложение
Методът се отнася за газхроматографско определяне на метанол във всички козметични продукти (включително аерозоли).

Могат да се определят относителни количества до 10 %.

2. Дефиниция

Количеството метанол, определено по този метод, се изразява в % (M/M) на метанола във връзка с етанол или пропан-2-ол.

3. Принцип

Определянето се извършва чрез газова хроматография.

4. Реактиви

Използват се реактиви с квалификация "за газова хроматография".

4.1. Метанол.

4.2. Етанол.

4.3. Пропан-2-ол.
4.4. Хлороформ, свободен от алкохоли чрез промиване с вода.

5. Апаратура

5.1. Газхроматограф с детектори:

5.1.1. Катарометричен детектор за аерозолни проби.

5.1.2. Пламъчнойонизационен детектор за неаерозолни проби.

5.2. Мерителни колби, 100 cm^3(ml).

5.3. Пипети от 2 cm^3 (ml), 20 cm^3 (ml), от 0 до 1 cm^3 (ml)

5.4. Микроспринцовки от 0 до 100 µl и от 0 до 5 µl и газови спринцовки (само
за аерозолни проби – виж процедурата за вземане на проби, съгл. т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване, фиг. 5)

6. Процедура

6.1. Подготовка на пробите

6.1.1. Проби от аерозолни продукти се приготвят в съответствие с т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване и след това се анализират хроматографски при условията съгл. т. 6.2.1.
6.1.2. Проби от неаерозолни продукти се приготвят в съответствие с т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване, като се разреждат с вода до
съдържание на етанол или пропан-2-ол в пробата около 1 – 2 % и след това се
анализират газхроматографски при условията от т. 6.2.2.

6.2. Газхроматографски анализ

6.2.1. За аерозолни проби

6.2.1.1. Детектор – катарометър

6.2.1.2. Колоната с 10 % Hallcomid M18 върху Chromosorb WAW 100 до 200 mesh
или еквивалентна. Колоната трябва да има разделителна способност (R), равна
или по-голяма от 1,5.

Разделителната способност се изчислява по формулата:

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

където:

r_1 и r_2 са времената на задържане на двата пика в min;

w_1 и w_2 – ширините на същите пикове при половината от височината в mm;

d' – скорост на хроматограмата в mm/min.
6.2.1.3. Условия на газхроматографското определяне:

а) колона: материал – неръждаема стомана

дължина – 3,5 m;

диаметър – 3,0 mm;

б) катарометричен мост – 150 mA;

в) газносител – хелий;

налягане – 2,5 бара;

скорост на потока – 45 cm^3/min;

г) температура на инжектора – 150 °C;

д) температура на детектора – 150 °C;

е) температура на колоната – 65 °C.
Измерванията на пиковите площи могат да се подобрят чрез електронно интегриране.

6.2.2. За неаерозолни проби:

6.2.2.1. Детектор – пламъчнойонизационен.

6.2.2.2. Колона с Chromosorb 105 или Porapak QS. Колоната трябва да има разделителна способност (R), равна или по-голяма от 1,5.

Разделителната способност се изчислява по формулата:

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

където:

r_1 и r_2 са времена на задържане на двата пика в min;

w_1 и w_2 – ширините на същите пикове при половината от височината в mm;

d' – скорост на хроматограмата в mm/min.

6.2.2.3. Условия на газхроматографското определяне:
а) колона: материал – неръждаема стомана

дължина – 2,0 m;

диаметър – 3,0 mm;

б) чувствителност на електрометъра – 8 x 10^{-10}A;

в) газоносител – азот:

налягане – 2,1 бара;

скорост на потока – 40 cm^3/min;

г) помощен (допълнителен) газ – водород

налягане – 1,5 бара;

скорост на потока – 20 cm^3/min;

д) температура на инжектора – 150 °C;
е) температура на детектора – 230 °C;

ж) температура на колоната – 120 до 130 °C.

7. Стандартна крива

7.1. За газхроматографска процедура (т. 6.2.1) (колона Hallcomid M18) се използват стандартни смеси, посочени в табл. 1.

В мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се отмерват по 20 cm^3 (ml) етанол и се добавя метанол, както е посочено в табл. 1.

Точното количество на метанола се определя чрез претегляне на пипетата преди
и след всяко дозиране.

Таблица 1

Съдържание на метанол в пробата (M/M %)	Метанол cm^3 (ml)	Етанол или пропан-2-ол cm^3 (ml)	Хлороформ cm^3 (ml), добавен до обем
Приблизително 2,5 %	0,5	20	100
Приблизително 5,0 %	1,0	20	100
Приблизително 7,5 %	1,5	20	100
Приблизително 10,0 %	2,0	20	100

От стандартните смеси се инжектират от 2 до 3 µl и хроматографският анализ се
провежда съгласно условията от т. 6.2.1.

Изчисляват се съотношенията на пиковите площи (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол) на всяка смес. Начертава се стандартна крива при координати:

X-ос: % метанол във връзка с етанол или пропан-2-ол.

Y-ос: съотношение на пиковите площи (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол).

7.2. За газхроматографска процедура (т. 6.2.2) (Porapak QS или Chromosorb 105) се използват стандартни смеси, посочени в табл. 2.

Тези смеси се приготвят чрез измерване с микроспринцовка и пипета.

Точното
количество се измерва чрез непосредствено претегляне на пипетата след всяко
добавяне.

Таблица 2

Съдържание на метанол в пробата (M/M %)	Метанол (µl)	Етанол или пропан-2-ол cm^3(ml)	Вода cm^3 (ml), добавена до обем
Приблизително 2,5 %	50	2	100
Приблизително 5,0 %	100	2	100
Приблизително 7,5 %	150	2	100
Приблизително 10,0 %	200	2	100

Инжектират се 2 до 3 µl в хроматографа, като се използват условията от т. 6.2.2.

Изчисляват се съотношенията на пиковите площи (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол) на всяка смес. Начертава се стандартна графика:

X-ос: % метанол във връзка с етанол или пропан-2-ол.

Y-ос: съотношение на пиковите площи (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол).

7.3. Стандартната крива трябва да има линеен характер.

8. Повторяемост*

За 5 % съдържание на метанол, във връзка с етанол или пропан-2-ол, разликата
в резултатите от две паралелни определяния, извършени с една и съща проба, не
трябва да надвишават 0,25 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XIV. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ДИХЛОРМЕТАН И 1,1,1-ТРИХЛОРЕТАН

1. Област на приложение

Методът се отнася за определянето на дихлорметан (метиленхлорид) и 1,1,1-трихлоретан (метилхлороформ) във всички козметични продукти, които вероятно могат да съдържат тези разтворители.
2. Дефиниция

Съдържанието на дихлорметан и 1,1,1-трихлоретан в пробата, определени по този
метод, се изразяват в % (M/M).

3. Принцип

Определянето се извършва чрез газова хроматография с хлороформ като вътрешен
стандарт.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация за "газова хроматография".

4.1. Хлороформ ($CHCl_3$).

4.2. Тетрахлорметан (CCl_4) .

4.3. Дихлорметан (CH_2Cl_2).

4.4. 1,1,1-трихлоретан (CH_3CCl_3).

4.5. Ацетон.
4.6. Азот.

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Газхроматограф с катарометър.

5.3. Бутилка за прехвърляне, 50 – 100 cm^3 (ml) (виж т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване, т. 5.2)

5.4. Спринцовка за газ под налягане, 25 или 50 µl (виж т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване, т. 5.3.2.2).

6. Процедура

6.1. Проба, която не е под налягане: в конична колба със запушалка се претегля проба с точност 0,001 g. Прибавя се точно претеглено количество хлороформ (т. 4.1) като вътрешен стандарт, еквивалентно на предполагаемото
количество дихлорметан или 1,1,1-трихлоретан, съдържащо се в пробата. Разбърква се добре.

6.2. Проба под налягане: използва се методът за вземане на проби, описан в т.

II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване, но със следните уточнения:

6.2.1. След прехвърляне на пробата в бутилката за прехвърляне (т. 5.3) в нея се въвежда като вътрешен стандарт определен обем хлороформ (т. 4.1), еквивалентен на предполагаемото количество дихлорметан или 1,1,1-трихлоретан,
съдържащ се в пробата. Разбърква се добре. Мъртвият обем на вентила се промива с 0,5 cm^3 (ml) тетрахлорметан (т. 4.2). След изсушаване по разликата се определя точната маса на прибавения вътрешен стандарт.

6.2.2. След напълване на спринцовката с проба накрайникът на спринцовката се
продухва с азот (4.6), така че да няма остатъци преди инжектиране в хроматографа.
6.2.3. След вземане на всяка проба повърхността на вентила и съдът за прехвърляне трябва да се промият няколко пъти с ацетон (т. 4.5) (използвайки,
както се изисква, спринцовка за подкожни инжекции) и след това се подсушават
напълно с азот (т. 4.6).

6.2.4. За всеки анализ се правят измервания с използване на две различни бутилки за прехвърляне и се правят по пет измервания за бутилка.

7. Хроматографски условия

7.1. Предколона

Тръба – неръждаема стомана.

Дължина – 300 mm.

Диаметър – 3 или 6 mm.

Пълнеж – същия материал, както в аналитичната колона.

7.2. Колона

Стационарната фаза е приготвена от Hallcomid M18 върху Chromosorb.

Колоната трябва да показва разделяне R, равно или по-голямо от 1,5, като:

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

където:

r_1 и r_2 са времена на задържане на двата пика;

W_1 и W_2 – широчините на същите пикове при половината от височината;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

Като примери следните колони дават желаните резултати:

Колона	I	II
Материал	Стоманена тръба	Стоманена тръба
Дължина	350 cm	400 cm
Диаметър	3 mm	6 mm
Носител		
Chromosorb	WAW	WAW-ДМЦС-HP
Ситов анализ	100 – 120 mesh	60 – 80 mesh
Стационарна фаза	Hallcomid M18, 10 %	Hallcomid M18, 20 %

Температурните условия могат да се различават в зависимост от апарата. За горните примери те са нагласени, както следва:

Колона	I	II
Температури		
Колона	65 °C	75 °C
Инжектор	150 °C	125 °C
Детектор	150 °C	200 °C
Газносител		
Дебит на потока от хелий	45 cm^3 (ml)/min	60 cm^3 (ml)/min
Налягане на входа	2,5 bar	2 bar
Инжектирана проба	15 µl	15 µl

8. Смес за определяне на корекционните коефициенти

В конична колба със запушалка се приготвя следната точно претеглена смес:

Дихлорметан (т. 4.3), 30 % (M/M).

1,1,1-трихлоретан (т. 4.4), 35 % (M/M).

Хлороформ (т. 4.1), 35 % (M/M).

9. Изчисления

9.1. Изчисляване на корекционния коефициент на вещество "p" спрямо вещество

"a", избрано като вътрешен стандарт:

Нека първото вещество е "p", за което:

kp е неговият корекционен коефициент;

Mp – неговата маса в сместа;

Ap – площта на неговия пик.
Нека второто вещество е "a", за което:

ka е неговият корекционен коефициент (приравнява се на 1);

Ma – неговата маса в сместа;

Aa – площта на неговия пик.

Тогава:

$$\kappa_p = \frac{M_p \times A_a}{M_a \times A_p} .$$

Като пример бяха получени следните корекционни коефициенти (за хлороформа k =
1):

Дихлорметан: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

1,1,1-трихлоретан: $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2. Изчисляване на % (M/M) на дихлорметан и 1,1,1-трихлоретан, присъстващи в
анализираната проба

Нека:
Ma е масата на въведения хлороформ в g;

Ms – масата на анализираната проба в g;

Aa – площта на пика на хлороформа;

A1 – площта на пика на дихлорметана;

A2 – площта на пика на 1,1,1-трихлоретана.

Тогава:

$$\%\,(M/M)\,CH_2Cl_2 = \frac{M_a \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times M_s},$$

$$\%\,(M/M)\,CH_3CCl_3 = \frac{M_a \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_a \times M_s}.$$

10. Повторяемост*

За съдържание на дихлорметан и/или 1,1,1-трихлоретан от 25 % (M/M) разликата
между резултатите от две успоредни определяния, извършени на една съща проба,
не трябва да превишава по абсолютна стойност 2,5 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XV. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХИНОЛИН-8-ОЛ И БИС (8-ХИДРОКСИХИНОЛИНИЕВ)
СУЛФАТ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентификация и количествено определяне на хинолин-8-ол
и неговия сулфат.

2. Дефиниция

Съдържанието на хинолин-8-ол и бис (8-хидроксихинолиниев) сулфат в пробата,
определени по този метод, се изразява в % (M/M) като хинолин-8-ол.

3. Принцип

3.1. Идентификация

Идентификация чрез тънкослойна хроматография.

3.2. Определяне

Определянето се провежда чрез спектрофотометриране на комплекса, получен при
реакция с Fehling разтвор, при 410 nm.

4. Реактиви
Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Хинолин-8-ол.

4.2. Бензен.

Поради неговата токсичност трябва да се внимава много при работата с бензен.

4.3. Хлороформ.

4.4. Натриев хидроксид, 50 % (M/M).

4.5. Меден сулфат пентахидрат.

4.6. Калиево-натриев тартарат.

4.7. Солна киселина, 1 M.

4.8. Сярна киселина, 0,5 M.

4.9. Натриев хидроксид, 1 M.
4.10. Етанол.

4.11. Бутан-1-ол.

4.12. Ледена оцетна киселина.

4.13. Солна киселина, 0,1 M.

4.14. Целит 545 или еквивалентен.

4.15. Стандартни разтвори.

4.15.1. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят 0,1 g хинолин-8-ол (т. 4.1) с точност 0,001 g. Разтваря се в малко сярна киселина (т. 4.8). Долива се до марката със сярна киселина (т. 4.8) и се разбърква.

4.15.2. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят 0,1 g хинолин-8-ол (т. 4.1) с точност 0,001 g. Разтваря се в етанол (т. 4.10). Долива се до марката с етанол (т. 4.10) и се разбърква.

4.16. Fehling разтвор

Разтвор А

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят 7 g меден сулфат пентахидрат
(т. 4.5). Разтваря се в малко вода. Долива се до марката с вода и се разбърква.
Разтвор Б

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят 35 g калиево-натриев тартарат
(т. 4.6). Разтваря се в 50 cm^3 (ml) вода. Прибавят се 20 cm^3 (ml) натриев хидроксид (т. 4.4). Долива се до марката с вода и се разбърква.

Непосредствено преди работа с пипета се вземат 10 cm^3 (ml) от разтвор А и 10
cm^3 (ml) от разтвор Б и се поставят в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Долива
се до марката и се разбърква.

4.17. Подвижни фази за тънкослойна хроматография:

I. Бутан-1-ол (т. 4.11) : оцетна киселина (т. 4.12): вода = 80:20:20 (V/V/V).

II. Хлороформ (т. 4.13):оцетна киселина (т. 4.12) = 95:5 (V/V).

4.18. 2,6-дихлор-4-(хлоримино)циклохекса-2,5-диенон, 1 % (M/V) разтвор в етанол (т. 4.10).

4.19. Натриев карбонат, 1 % (M/V).

4.20. Етанол (4.10), 30 % (V/V).

4.21. Динатриев дихидрогенетилендиаминтетраацетат, 5 % (M/V).

4.22. Буферен разтвор, pH 7.
В мерителна колба от 1 dm^3 (l) се претеглят 27 g безводен калиев дихидрогенортофосфат и 70 g дикалиев хидрогенортофосфаттрихидрат. Долива се с
вода до марката.

4.23. Готови плаки за тънкослойна хроматография.

Готови плаки за тънкослойна хроматография с дебелина 0,25 mm (Kieselgel 60
"Merck" или еквивалентни). Преди употреба се напръскват с 10 cm^3 (ml) реактив
(т. 4.21) и се сушат при 80 °C.

5. Апаратура

5.1. 100 cm^3 (ml) облодънна колба с гърло на шлиф.

5.2. Мерителни колби.

5.3. Градуирани пипети, 10 и 5 cm^3 (ml).

5.4. Фол-пипети, 20, 15, 10 и 5 cm^3 (ml).

5.5. Делителни фунии 100, 50 и 25 cm^3 (ml).

5.6. Нагъната филтърна хартия с диаметър 90 mm.

5.7. Ротационен изпарител.
5.8. Обратен хладник с шлиф.

5.9. Спектрофотометър.

5.10. Кювети с дебелина на слоя 10 mm.

5.11. Бъркалка с нагряване.

5.12. Стъклена хроматографска колона с размери: дължина 160 mm и диаметър 8
mm, с тампон от стъклен памук в долния край и адаптер за прилагане на налягане в горния край.

6. Процедура

6.1. Идентификация

6.1.1. Течни проби

6.1.1.1. Довежда се pH на част от пробата за изпитване до 7, след което от нея се нанасят 5 и 10 µl върху стартовата линия на предварително третираната
плака за тънкослойна хроматография (т. 4.23).

6.1.1.2. Накапват се 10 и 30 µl от стандартния разтвор (т. 4.15.2) на още две точки на стартовата линия, след което плаката се поставя в една от двете подвижни фази (т. 4.17).

6.1.1.3. Когато фронтът на разтворителя се придвижи на 15 cm, плаката се суши
при 110 °C (за 15 min). Петната на хинолин-8-ол флуоресцират в жълт цвят при УВ светлина (366 nm).
6.1.1.4. Плаката се напръсква с разтвор на натриев карбонат (т. 4.19). Изсушава се и се напръсква с разтвор на
2,6-дихлор-4-(хлоримино)-циклохекса-2,5-диенон (т. 4.18). Хинолин-8-олът се
проявява като синьо петно.

6.1.2. Твърди проби или кремове

6.1.2.1. 1 g от пробата се диспергира в 5 cm^3 (ml) буферен разтвор (т. 4.22) и се разклаща. След това се прехвърля с 10 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3) в

делителна фуния и се разклаща. След отделяне на хлороформения слой водният
слой се екстрахира още два пъти с по 10 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3). Обединените и филтрувани хлороформени екстракти се изпаряват почти до сухо в
облодънна колба от 100 cm^3 (ml) (т. 5.1) на ротационен изпарител (т. 5.7). Остатъкът се разтваря в 2 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3) и от получения разтвор се нанасят 10 и 30 µl върху плака за тънкослойна хроматография със силикагел
(т. 4.23) съгласно метода, описан в т. 6.1.1.1.

6.1.2.2. Нанасят се 10 и 30 µl от стандартния разтвор (т. 4.15.2) на плаката и се продължава по начина, описан от т. 6.1.1.2 до т. 6.1.1.4.

6.2. Определяне

6.2.1. Течни проби

6.2.1.1. В облодънна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят 5 g от пробата с точност 0,001 g, прибавят се 5 cm^3 (ml) разтвор на сярна киселина (т. 4.8) и сместа се изпарява почти до сухо при понижено налягане и температура 50 °C.

6.2.1.2. Остатъкът се разтваря в 20 cm^3 (ml) топла вода. Прехвърля се в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Промива се три пъти с по 20 cm^3 (ml) вода. Долива се до марката с вода и се разбърква.

6.2.1.3. С пипета се вземат 5 cm^3 (ml) от разтвора и се поставят в делителна фуния от 50 cm^3 (ml) (т. 5.5). Прибавят се 10 cm^3 (ml) Fehling разтвор (т. 4.16). Медният комплекс на хинолин-8-ола [оксин мед (ISO)] се екстрахира три
пъти с по 8 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3).

6.2.1.4. В мерителна колба от 25 cm^3 (ml) (т. 5.2) се събират обединените и филтрирани хлороформени извлеци. Колбата се долива до марката с хлороформ (т.
4.3) и се разклаща. Измерва се оптическата плътност на оцветения в жълт цвят
разтвор срещу хлороформ при 410 nm.

6.2.2. Твърди проби или кремове
6.2.2.1. В облодънна колба от 100 cm^3 (ml) (т. 5.1) се претеглят 0,500 g от пробата с точност 0,001 g. Прибавят се 30 cm^3 (ml) бензен (т. 4.2) и 20 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.7). Съдържанието на колбата кипи 30 min на обратен
хладник при разбъркване.

6.2.2.2. Съдържанието на колбата се прехвърля в делителна фуния от 100 cm^3 (ml) (т. 5.5). Промива се с 5 cm^3 (ml) 1 N солна киселина (т. 4.7). Водната

фаза се прехвърля в облодънната колба (т. 5.1), а бензеновият слой се промива
с 5 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.7).

6.2.2.3. В случай че се получи емулсия, която затруднява по-нататъшната обработка, 0,500 g от пробата се смесва с 2 g целит 545 (т. 4.14) за получаване на свободно сипещ се прах. Сместа се прехвърля на малки порции в
стъклена хроматографска колона (т. 5.12).

След всяко прибавяне пълнежът на колоната се набива. След като цялата смес се
прехвърли в колоната, тя се елуира със солна киселина (т. 4.13), така че 10 cm^3 (ml) елуат да се получат за около 10 min (ако е необходимо, елуирането може да се проведе под слабо налягане от азот). По време на елуирането трябва
да е сигурно, че над пълнежа на колоната винаги има известно количество солна
киселина. Първите 10 cm^3 (ml) от елуата се обработват по-нататък, както е описано в т. 6.2.2.4.

6.2.2.4. Събраните водни фази (т. 6.2.2.2) или елуатът (т. 6.2.2.3) се изпаряват почти до сухо на ротационен вакуумизпарител.

6.2.2.5. Остатъкът се разтваря в 6 cm^3 (ml) разтвор на натриев хидроксид (т. 4.9). Прибавят се 20 cm^3 (ml) Fehling разтвор (т. 4.16) и съдържанието се прехвърля от колбата в делителна фуния от 50 cm^3 (ml) (т. 5.5). Колбата се промива с 8 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3). Разклаща се и хлороформеният слой се
филтрува в мерителна колба от 50 cm^3 (ml) (т. 5.2).

6.2.2.6. Екстракцията се повтаря три пъти с по 8 cm^3 (ml) хлороформ (т. 4.3). Хлороформените фази се филтруват и се събират в мерителната колба от 50 cm^3
(ml). Допълва се до марката с хлороформ (т. 4.3) и се разклаща. Измерва се оптическата плътност на оцветения в жълт цвят разтвор при 410 nm спрямо хлороформ (т. 4.3).

7. Стандартна крива

В четири облодънни колби от 100 cm^3 (ml) (т. 5.1), всяка от които съдържа 3 cm^3 (ml) 30 % разтвор на етанол (т. 4.20), се поставят с пипета 5, 10, 15 и 20 cm^3 (ml) порции от стандартния разтвор (т. 4.15.1), съответстващи на 5, 10, 15 и 20 mg хинолин-8-ол. Процедира се, както е описано в т. 6.2.1.

8. Изчисления

8.1. Течни проби

Съдържание на хинолин-8-ол $$\% (M/M) = \frac{a}{M} \times 100,$$

където:

а е хинолин-8-ол в mg, отчетено от стандартната крива (т. 7);

М – масата на изпитваната проба (т. 6.2.1.1) в mg.

8.2. Твърди проби или кремове

Съдържание на хинолин-8-ол $$\% (M/M) = \frac{2a}{M} \times 100,$$

където:

а е хинолин-8-ол в mg, отчетено от стандартната крива (т. 7);

М – масата на изпитваната проба (т. 6.2.2.1) в mg.

9. Повторяемост*

За съдържание на хинолин-8-ол от около 0,3 % разликата между резултатите от
две успоредни изпитвания, проведени с една и съща проба, не трябва да надхвърля по абсолютна стойност 0,02 %.
**Забележка.* Виж ISO 5725.

XVI. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АМОНЯК

1. Област на приложение

Определяне на свободен амоняк в козметични продукти.

2. Дефиниция

Съдържанието на амоняк в анализираната проба, определено по този метод, е
изразено в % (M/M).

3. Принцип

Към разредената във водно-метанолова среда анализирана проба се добавя разтвор на бариев хлорид. Утайката, която може да се образува, се филтрува или центрофугира. Така по време на парната дестилация се избягва загубата

на
амоняк от някои амониеви соли, като карбонат и бикарбонат (хидроген карбонат)
и тези на мастните киселини, с изключение на амониев ацетат. Амонякът се отделя от филтрата с парна дестилация. Определя се потенциометрично или чрез
друго титруване.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Метанол
4.2. Бариев хлорид дихидрат, 25 % (M/V)

4.3. Ортоборна киселина, 4 % (M/V)

4.4. Сярна киселина, 0,25 M

4.5. Антиразпенваща течност

4.6. Натриева основа, 0,5 M

4.7. Индикатор при обратно титруване: смесват се 5 cm^3 (ml) 0,1 % (M/V) разтвор на метилрот в етанол с 2 cm^3 (ml) 0,1 % (M/V) воден разтвор на метиленовосиньо.

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване

5.2. Центрофуга с добре затварящи се епруветки от 100 cm^3 (ml)

5.3. Дестилационен апарат

5.4. Потенциометър
5.5. Измерващ стъклен електрод и сравнителен каломелов електрод.

6. Процедура

6.1. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претегля с точност 0,001 g проба (M), съответстваща на 150 mg максимално количество амоняк.

6.2. Прибавят се 10 cm^3 (ml) вода, 10 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1) и 10 cm^3 (ml) разтвор на бариев хлорид (т. 4.2). Долива се до 100 cm^3 (ml) с метанол (т. 4.1).

6.3. Разбърква се и се оставя за една нощ в хладилник (5 °C).

6.4. Все още студеният разтвор се филтрува или се центрофугира за 10 min в епруветки (т. 5.2), за да се получи бистър филтрат.

6.5. В парния дестилатор (т. 5.3) последователно се отпепетирват 40 cm^3 (ml) от този разтвор и 0,5 cm^3 (ml) антиразпенваща течност (т. 4.5).

6.6. Дестилирането продължава, докато се събере приблизително 200 cm^3 (ml)
дестилат в бехерова чаша от 250 cm^3 (ml), съдържаща 10 cm^3 (ml) стандартна сярна киселина (т. 4.4) и 0,1 cm^3 (ml) индикатор (т. 4.7).

6.7. Излишъкът от киселина се титрува със стандартен разтвор на натриева основа (т. 4.6).

6.8. Забележка. При потенциометричното определяне дестилирането се извършва,
като за приемник на дестилата се използва бехерова чаша от 250 cm^3 (ml), съдържаща 25 cm^3 (ml) ортоборна киселина (т. 4.3). Дестилирането продължава,
докато се събере 200 cm^3 (ml) дестилат. Титрува се с разтвора на сярна киселина (т. 4.4), като се записва кривата на неутрализация (кривата на титруване).

7. Изчисления
7.1. Изчисления в случай на обратно титруване (остатъчно титруване)

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

където:

V1 е обемът натриева основа (т. 4.6), изразходван при титруването в cm^3 (ml);

M_1 – неговата моларност (т. 4.6);

M_2 – моларност на разтвора на сярната киселина (т. 4.4);

M – масата на анализираната проба (т. 6.1) в mg.

7.2. Изчисления в случай на директно потенциометрично титруване

$$\text{амоняк } \%\ (M/M) = \frac{V_2\times M_2\times 17\times 100}{0{,}4M} = \frac{4250\ V_2M_2}{M},$$

където:

V_2 е обемът разтвор на сярна киселина, изразходван при титруването в cm^3 (ml);
M_2 – моларността на разтвора на сярната киселина, използвана при титруването
(т. 4.4);

M – масата на анализираната проба в mg.

8. Повторяемост*

При съдържание на амоняк около 6 % разликата между резултатите на две паралелно извършени определения на една и съща проба не трябва да надвишава
абсолютната стойност от 0,6 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XVII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НИТРОМЕТАН

1. Област на приложение

Този метод се отнася за идентификация и определяне на нитрометан до около 0,3
% в козметични продукти в аерозолни опаковки.

2. Дефиниция

Съдържанието на нитрометан, определено по този метод, се изразява в % (M/M)
нитрометан в цялото съдържание на аерозолната опаковка.

3. Принцип
Нитрометанът се идентифицира чрез цветна реакция. Нитрометанът се определя
газхроматографски след добавяне на вътрешен стандарт.

4. Идентификация

4.1. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1.1. Натриев хидроксид, 0,5 M разтвор.

4.1.2. Реактив на Folin

Разтварят се 0,1 g натриев 3,4-дихидро-3,4-диоксонафтален-1-сулфонат във вода

и се разрежда до 100 cm^3 (ml).

4.2. Процедура

Към 1 cm^3 (ml) от пробата се прибавят 10 cm^3 (ml) от т. 4.1.1 и 1 cm^3 (ml) от т. 4.1.2. Виолетово оцветяване показва наличието на нитрометан.

5. Определяне

5.1. Реактиви
Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография".

5.1.1. Хлороформ (вътрешен стандарт 1).

5.1.2. 2,4-диметилхептан (вътрешен стандарт 2).

5.1.3. Етанол, 95 %.

5.1.4. Нитрометан.

5.1.5. Разтвор на хлороформ (вътрешен стандарт).

В тарирана мерителна колба от 25 cm^3 (ml) се претеглят около 0,65 g хлороформ
с точност 0,001 g (т. 5.1.1). Долива се до 25 cm^3 (ml) с 95 % етанол (т. 5.1.3). Претегля се и се изчислява съдържанието на хлороформ в този разтвор в
% (M/M).

5.1.6. Разтвор на 2,4-диметилхептан (вътрешен стандарт).

Приготвя се по същия начин както разтвора на хлороформ, като се претеглят 0,27 mg 2,4-диметилхептан с точност 0,001 g (т. 5.1.2) в мерителна колба от 25 cm^3 (ml).

5.2. Апаратура

5.2.1. Газхроматограф с пламъчнойонизационен детектор.
5.2.2. Апаратура за вземане на проби от аерозолни опаковки (бутилка за прехвърляне, микроспринцовки и др.) съгласно т. II. Лабораторно приготвяне на
пробите за изпитване.

5.2.3. Стандартно лабораторно оборудване.

5.3. Процедура

5.3.1. Приготвяне на пробата

В тарирана 100 cm^3 (ml) бутилка за прехвърляне, почистена и вакуумирана съгласно начина, описан в т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване (т. 5.3), се поставят около 5 cm^3 (ml) от разтворите на вътрешен стандарт (т. 5.1.5 или т. 5.1.6). Използва се стъклена спринцовка от 10 или 20 cm^3 (ml) без игла, приспособена към бутилката за прехвърляне, следвайки процедурата, описана в т. II. Лабораторно приготвяне на пробите за изпитване
(т. 5). Претегля се отново, за да се определи поставеното количество. Използвайки същата процедура, в бутилката се прехвърлят около 50 g от съдържанието на пробата в аерозолната опаковка. Отново се претегля, за да се
определи количеството на прехвърлената проба. Разбърква се добре.

Инжектират се около 10 µl с посочената микроспринцовка (т. 5.2.2). Правят се
5 инжектирания.

5.3.2. Приготвяне на стандарта

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се претеглят с точност 0,001 g около 0,5 g нитрометан (т. 5.1.4), 0,5 g хлороформ (т. 5.1.1) или 0,21 g
2,4-диметилхептан (т. 5.1.2). Долива се до марката с 95 % етанол (т. 5.1.3). Разбърква се добре. В мерителна колба от 20 cm^3 (ml) се поставят 5 cm^3 (ml) от този разтвор. Долива се до марката с 95 % етанол (т. 5.1.3).

Инжектират се около 10 µl с посочената микроспринцовка (т. 5.2.2). Правят се
5 инжектирания.

5.3.3. Газхроматографски условия

5.3.3.1. Колона
Състои се от две части: първата – с пълнеж от дидецилфталат върху gas Chrom
Q, а втората – Ucon 50 HB 280X върху gas Chrom Q. Приготвената комбинирана
колона трябва да дава разделяне R, равно или по-добро от 1,5, като:

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

където:

r_1 и r_2 са времената на задържане на двата пика в min;

W_1 и W_2 – широчините на същите пикове при половината от височината в

mm;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

Като пример следните две части дават желаното разделяне:

Колона А:

Материал – неръждаема стомана.

Дължина – 1,5 m.

Диаметър – 3 mm.
Пълнеж – 20 % дидецилфталат върху gas Chrom Q (100 – 120 mesh).

Колона Б:

Материал: неръждаема стомана.

Дължина – 1,5 m.

Диаметър – 3 mm.

Пълнеж – 20 % Ucon 50 HB 280X върху gas Chrom Q (100 – 120 mesh).

5.3.3.2. Детектор

Подходяща чувствителност за електрометъра на пламъчнойонизационния
детектор е
8 10-10А.

5.3.3.3. Температурни условия

Подходящи са следните условия:

Инжектор: 150 °C.
Детектор: 150 °C.

Колона: между 50 и 80 °C в зависимост от използваните колони и апарата.

5.3.4. Подаване на газове

Газоносител: азот.

Налягане: 2,1 bar.

Дебит на потока: 40 cm^3 (ml)/min.

Захранване на детектора: както е посочено от производителя на детектора.

6. Изчисления

6.1. Корекционен коефициент на нитрометан, изчислен спрямо използвания вътрешен стандарт

Ако с "n" се означи нитрометанът,

нека:
kn е неговият корекционен коефициент;

M/n – неговата маса в сместа в g;

S/n – площта на неговия пик.

Ако с "c" се означи вътрешният стандарт, хлороформ или 2,4-диметилхептан,

нека:

M/c е неговата маса в сместа в g;

S/c – площта на неговия пик,

тогава:

$$\kappa_n = \frac{M'_n}{M'_c} \times \frac{S'_c}{S'_n}$$

(kn е функция от апарата).

6.2. Концентрация на нитрометан в пробата

Ако с "n" се означи нитрометанът,
нека:

kn е неговият корекционен коефициент;

Sn – площта на неговия пик.

Ако с "c" се означи вътрешният стандарт, хлороформ или 2,4-диметилхептан,

нека:

Mc е неговата маса в сместа в g;

Sc – площта на неговия пик;

M – масата на прехвърления аерозол в g,

тогава % (M/M) на нитрометана в пробата е:

$$\frac{M_c}{M} \times \frac{K_n \times S_n}{S_c} \times 100.$$

7. Повторяемост*
За съдържание на нитрометан от около 0,3 % (M/M) разликата между две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,03 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XVIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА МЕРКАПТООЦЕТНА КИСЕЛИНА В ПРОДУКТИ ЗА
КЪДРЕНЕ И ИЗПРАВЯНЕ НА КОСАТА И ДЕПИЛАТОАРИ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентификация и определяне на меркаптооцетна киселина в
продукти за кърдене и изправяне на косата и депилатоари, в които могат да присъстват и други редуциращи агенти.

2. Дефиниция

Съдържанието на меркаптооцетна киселина в пробата, определено съгласно този
метод, се изразява в % (M/M) меркаптооцетна киселина.

3. Принцип

Меркаптооцетната киселина се идентифицира чрез капков анализ и тънкослойна
хроматография и се определя чрез йодометрия или газхроматография.

4. Идентификация

4.1. Идентификация чрез капков анализ
4.1.1. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1.1.1. Индикаторна хартия с оловен диацетат.

4.1.1.2. Разтвор на солна киселина 1:1 (V/V).

4.1.2. Процедура

4.1.2.1. Идентификация на меркаптооцетна киселина чрез цветна реакция с индикаторна хартия с оловен диацетат.

Една капка от пробата за анализ се поставя върху индикаторна хартия с оловен
диацетат (т. 4.1.1.1). Ако се появи интензивно жълто оцветяване, вероятно присъства меркаптооцетна киселина.

Чувствителност: 0,5 %.

4.1.2.2. Характеризиране на неорганични сулфиди чрез образуване на сероводород при подкисляване.

В епруветка се поставят няколко mg от пробата за анализ. Прибавят се 2 cm^3 (ml) дестилирана вода и 1 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.1.1.2). Отделеният сероводород, който се познава по миризмата, образува черна утайка от оловен
сулфид върху индикаторна хартия с оловен диацетат (т. 4.1.1.1).

Чувствителност: 50 ppm.
4.1.2.3. Характеризиране на сулфити чрез образуване на серен диоксид при подкисляване.

Постъпва се, както е описано в т. 4.1.2.2. Довежда се до кипене. Серният диоксид се разпознава по неговия мирис и чрез редукционните му свойства, например по отношение към перманганатни йони.

4.2. Идентификация с тънкослойна хроматография

4.2.1. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.2.1.1. Меркаптооцетна киселина (тиогликолова киселина), 98 % минимална чистота, определена йодометрично.

4.2.1.2. 2,2'-дитиоди (оцетна) киселина, 99 % минимална чистота, определена йодометрично.

4.2.1.3. 2-меркаптопропионова киселина (тиомлечна киселина), 95 % минимална
чистота, определена йодометрично.

4.2.1.4. 3-меркаптопропионова киселина, 98 % минимална чистота, определена
йодометрично.

4.2.1.5. 3-меркаптопропан-1,2-диол (1-тиоглицерол), 98 % минимална чистота,
определена йодометрично.

4.2.1.6. Готови плаки за тънкослойна хроматография със силикагел, дебелина на
слоя 0,25 mm.
4.2.1.7. Готови плаки за тънкослойна хроматография с алуминиев оксид, merck
F_{254} или еквивалентни.

4.2.1.8. Солна киселина, концентрирана,
d_4^{20} = 1,19 g/cm^3 (ml).

4.2.1.9. Етилацетат.

4.2.1.10. Хлороформ.

4.2.1.11. Диизопропилов етер.

4.2.1.12. Тетрахлорметан.

4.2.1.13. Ледена оцетна киселина.

4.2.1.14. Калиев йодид, 1 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.15. Платинов тетрахлорид, 0,1 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.16. Подвижни фази

4.2.1.16.1. Етилацетат (т. 4.2.1.9) : хлороформ (т. 4.2.1.10) : диизопропилов етер (т. 4.2.1.11) : оцетна киселина (т. 4.2.1.13) = 20 : 20 : 10 : 10 (V/V/V/V).
4.2.1.16.2. Хлороформ (т. 4.2.1.10) : оцетна киселина (т. 4.2.1.13) = 90 : 20 (V/V).

4.2.1.17. Реактиви за проявяване на петната

4.2.1.17.1. Непосредствено преди употреба се смесват равни обеми от разтвор
(т. 4.2.1.14) и разтвор (т. 4.2.1.15).

4.2.1.17.2. Разтвор на бром, 5 % (M/V): 5 g бром се разтварят в 100 cm^3 (ml) тетрахлорметан (т. 4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Разтвор на флуоресцеин, 0,1 % (M/V): 100 mg флуоресцеин се разтварят в 100 cm^3 (ml) етанол.

4.2.1.17.4. Хексаамониев хептамолибдат, 10 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.18. Стандартни разтвори

4.2.1.18.1. Меркаптооцетна киселина (т. 4.2.1.1), 0,4 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.18.2. 2,2'-дитиоди (оцетна киселина) (т. 4.2.1.2), 0,4 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.18.3. 2-меркаптопропионова киселина (т. 4.2.1.3), 0,4 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.1.18.4. 3-меркаптопропионова киселина (т. 4.2.1.4), 0,4 % (M/V) разтвор във вода.
4.2.1.18.5. 3-меркаптопропан-1,2-диол (т. 4.2.1.5), 0,4 % (M/V) разтвор във вода.

4.2.2. Апаратура

Стандартна апаратура за тънкослойна хроматография.

4.2.3. Процедура

4.2.3.1. Подготовка на пробите

Пробата се подкислява с няколко капки солна киселина (т. 4.2.1.8) до pH 1 и ако е необходимо, се филтрува.

В някои случаи може да се препоръча разреждане на пробата. Ако се процедира
по този начин, подкисляването със солна киселина се извършва преди разреждането.

4.2.3.2. Хроматографиране

Върху плаката се нанася 1 µl от разтвора на пробата (т. 4.2.3.1) и по 1 µl от всеки от сравнителните разтвори (т. 4.2.1.18). Внимателно се изсушава на слаб
ток от азот и хроматограмата се развива в подвижната фаза (т. 4.2.1.16.1 или т. 4.2.1.16.2). Плаката се изсушава възможно най-бързо, за да се избегне окислението на тиолите.

4.2.3.3. Проявяване на петната

Плаката се напръсква с един от трите реактива (т. 4.2.1.17.1, т. 4.2.1.17.3 или т. 4.2.1.17.4). Ако плаката се напръска с реактив (т. 4.2.1.17.3), след това се обработва с бромни пари (например във вана, съдържаща малка чаша с

реактив т. 4.2.1.17.2), докато петната станат видими. Оцветяването с реактива за напръскване (т. 4.2.1.17.4) ще бъде задоволително само ако времето за изсушаване на слоя не надхвърля 30 min.
4.2.3.4. Интерпретация

Сравняват се Rf стойностите и цветът на петната на стандартните разтвори и тези на пробата. Средните Rf стойности, дадени по-долу, са за груба ориентация и имат само сравнителна стойност. Те зависят от:

а) степента на активност на тънкия слой по време на хроматографирането;

б) температурата на хроматографската вана.

Примерни Rf стойности, получени на слой силикагел

	Подвижни фази	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Меркаптооцетна киселина	0,25	0,80
2-меркаптопропионова киселина	0,40	0,95
2,2’-дитиоди (оцетна) киселина	0,00	0,35
3-меркаптопропионова киселина	0,45	0,95
3-меркаптопропан-1,2-диол	0,45	0,35

5. Определяне

Определянето винаги трябва да започва с йодометричния метод.

Забележка. Определянето на меркаптооцетна киселина трябва да бъде проведено
на неизползван продукт от прясно отворени опаковки, за да се предотврати окислението.

5.1. Йодометрично определяне

5.1.1. Принцип

Определянето се осъществява чрез окисление на "–SH" групата с йод в кисела
среда съгласно уравнението:

$2HOOC–CH_2SH + J_2 \rightarrow (HOOC–CH_2–S)2 + 2J^- + 2H^+$

5.1.2. Реактиви

Йод, 0,05 М стандартен разтвор.

5.1.3. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване.
5.1.4. Процедура

Претегля се 0,5 до 1 g от пробата с точност 0,001 g в конична колба от 150 cm^3 (ml) със запушалка, съдържаща 50 cm^3 (ml) дестилирана вода. Прибавят се 5
cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.1.1.2) (pH на разтвора – около 0) и се титрува с разтвор на йод (т. 5.1.2) до поява на жълто оцветяване. Ако е необходимо, се използва индикатор (например разтвор на скорбяла или тетрахлорметан).

5.1.5. Изчисления

Съдържанието на меркаптооцетната киселина се изчислява по формулата:

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

където:

M е масата на пробата за анализ в g;

n – използваният обем от разтвор на йод в cm^3 (ml).

5.1.6. Забележки:

Ако резултатът, изчислен като меркаптооцетна киселина, е 0,1 % или повече под
разрешената максимална концентрация, тогава не е необходимо да се провеждат
по-нататъшни определяния.

Ако резултатът е равен или е над разрешения максимум на концентрацията и идентификацията е показала присъствие на няколко редуциращи агента, тогава е
необходимо да се проведе газхроматографско определяне.
5.2. Газова хроматография

5.2.1. Принцип

Меркаптооцетната киселина се отделя от другите съставки на продукта чрез утаяване с разтвор на кадмиев диацетат. След метилиране с диазометан, приготвен in situ или предварително в разтвор на диетилов етер, метиловото производно на меркаптооцетната киселина се определя чрез газотечна хроматография при използване на метилоктаноат като вътрешен стандарт.

5.2.2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография", а

водата – бидестилирана.

5.2.2.1. Меркаптооцетна киселина, 98 %.

5.2.2.2. Солна киселина, d_4^{20} = 1,19 g/cm^3 (ml).

5.2.2.3. Метанол.

5.2.2.4. Кадмиев диацетат дихидрат, 10 % (M/V).

5.2.2.5. Метилоктаноат, 2 % (M/V) разтвор в метанол.

5.2.2.6. Ацетатен буферен разтвор (pH 5):
Натриев ацетат трихидрат, 77 g.

Ледена оцетна киселина, 27,5 g.

Деминерализирана вода за получаване на краен обем от 1 l.

5.2.2.7. Солна киселина, 3 M разтвор в метанол (т. 5.2.2.3), приготвен непосредствено преди употреба.

5.2.2.8. 1-метил-3-нитро-1-нитрозогуанидин.

5.2.2.9. Натриев хидроксид, 5 M разтвор.

5.2.2.10. Йод, 0,05 M стандартен разтвор.

5.2.2.11. Диетилов етер.

5.2.2.12. Разтвор на диазометан, приготвен от
н-метил-н-нитрозотолуен-4-сулфонамид (Fieser, Reagents for Organic Synthesis
(Wiley), 1967)

Полученият разтвор съдържа около 1,5 g диазометан в 100 cm^3 (ml) диетилов етер. Тъй като диазометанът е токсичен и твърде нестабилен газ, всички експерименти трябва да се провеждат в мощна камина и да се избягва използването на стъклария на шлиф (има специални комплекти за тази цел).

5.2.3. Апаратура
5.2.3.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2.3.2. Апарат за получаване на диазометан за метилиране in situ (виж Fales, H.M., Jaouni, T.M. and Babashak, J.F., Analyt. Chem. 1973, 45, 2302).

5.2.3.3. Апаратура за предварително получаване на диазометан (Fieser).

5.2.4. Приготвяне на пробата

В центрофужна епруветка от 50 cm^3 (ml) се претегля достатъчно количество от
пробата с точност 0,001 g, което да съдържа предполагаемо количество от 0,05
до 0,07 g меркаптооцетна киселина.

Подкислява се с няколко капки солна киселина (т. 5.2.2.2), за да се получи pH около 3.

Прибавят се 5 cm^3 (ml) деминерализирана вода и 10 cm^3 (ml) ацетатен буферен
разтвор (т. 5.2.2.6).

Проверява се дали pH е около 5 с хартиен pH индикатор. След това се прибавят
5 cm^3 (ml) разтвор на кадмиев диацетат (т. 5.2.2.4).

Изчаква се 10 min и след това се центрофугира поне 15 min при 4000 rpm. Отстранява се бистрата течност, която може да съдържа неразтворими мазнини (в
случай на кремообразни продукти). Тези мазнини не трябва да се бъркат с тиолите, които се събират като компактна маса на дъното на епруветката. Проверява се да няма утаяване при прибавяне на няколко капки разтвор на кадмиев диацетат (т. 5.2.2.4) към бистрата течност.

Ако при предварителната идентификация не е открито присъствие на редуциращи
агенти, различни от тиолите, йодометрично се проверява дали присъстващите в
бистрата течност тиоли не надхвърлят 6 до 8 % от първоначалното количество.

В центрофужната епруветка, съдържаща утайката, се поставят 10 cm^3 (ml) метанол (т. 5.2.2.3) и утайката се диспергира фино чрез разбъркване със стъклена пръчка. Отново се центрофугира поне 15 min при 4000 rpm. Бистрата
течност се отлива и се проверява за отсъствие на тиоли.
Утайката се промива втори път по същия начин.

В същата епруветка се добавят:

а) 2 cm^3 (ml) разтвор на метилоктаноат (т. 5.2.2.5);

б) 5 cm^3 (ml) солна киселина в метанол (т. 5.2.2.7).

Тиолите се разтварят напълно (малко неразтворимо вещество от пълнителя може
да остане). Това е разтвор "C".

С аликвотна част от този разтвор се проверява йодометрично дали съдържанието
на тиоли е поне 90 % от това, получено по т. 5.1.

5.2.5. Метилиране

Метилирането се провежда или чрез процедура in situ (т. 5.2.5.1), или с предварително приготвен разтвор на диазометан (т. 5.2.5.2).

5.2.5.1. Метилиране in situ.

В апарата за метилиране (т. 5.2.3.2), съдържащ 1 cm^3 (ml) етер (т. 5.2.2.11), се въвеждат 50 µl разтвор "C" и се метилира по методика (т. 5.2.3.2) с около 300 mg 1-метил-3-нитро-1-нитрозогуанидин (т. 5.2.2.8). След 15 min (етерният
разтвор трябва да е жълт, което показва излишък от диазометан) разтворът на пробата се прехвърля в шишенце от 2 cm^3 (ml) с херметична запушалка. Оставя
се в хладилник за една нощ. Едновременно се метилират две проби.

5.2.5.2. Метилиране с предварително приготвен разтвор на диазометан.
В колба със запушалка от 5 cm^3 (ml) се поставя 1 cm^3 (ml) разтвор на диазометан (т. 5.2.2.12) и след това 50 µl разтвор "C". Оставя се за една нощ в хладилник.

5.2.6. Приготвяне на стандарта

Приготвя се стандартен разтвор от меркаптооцетна киселина (т. 5.2.2.1) с позната концентрация, съдържащ около 0,06 g чиста меркаптооцетна киселина (т.
5.2.2.1) в 2 cm^3 (ml).

Това е разтвор "E".

Утаява се, проверява се и се метилира, както е описано в т. 5.2.4 и т. 5.2.5.

5.2.7. Газхроматографски условия

5.2.7.1. Колона

Тип – неръждаема стомана.

Дължина – 2 m.

Диаметър – 3 mm.

5.2.7.2. Пълнеж 20 % дидецилфталат/Chromosorb WAW, 80 до 100 mesh.
5.2.7.3. Детектор

Пламъчнойонизационен. Подходяща чувствителност за електрометъра на пламъчнойонизационния детектор е 8 x 10^{-10} A.

5.2.7.4. Газове

Газносител – азот.

Налягане – 2,2 bar.

Дебит на потока – 35 cm^3 (ml)/min.

Допълнителен газ – водород.

Налягане – 1,8 bar.

Дебит на потока – 15 cm^3 (ml)/min.

Захранване на детектора – както е посочено от производителите на апарата.

5.2.7.5. Температурни условия
Инжектор – 200 °C

Детектор – 200 °C

Колона – 90 °C.

5.2.7.6. Скорост на хартията на самописеца: 5 mm/min.

5.2.7.7. Количество за инжектиране: 3 µl. Правят се пет инжектирания.

5.2.7.8. Хроматографските условия са дадени като указание. Те осигуряват разделяне R, равно или по-добро от 1,5, като:

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

където:

r_1 и r_2 са времена на задържане в min;

W_1 и W_2 – широчини на пиковете при половината от височините им в mm;

d' – скорост на хартията в mm/min.
Препоръчва се хроматографирането да завърши с повишаване на температурата от

90 до 150 °C при скорост 10 °C/min, за да се елиминира възможността
за влияние на лабилните вещества при следващите хроматографирания.

5.2.8. Изчисления

5.2.8.1. Коефициент на пропорционалност на меркаптооцетната киселина.
Той е
изчислен по отношение на метилоктаноат на базата на стандартна смес.

Ако с "t" се означи меркаптооцетната киселина,

нека:

kt е нейният корекционен коефициент;

M't – нейната маса в сместа в g;

S't – площта на нейния пик.

Ако с "c" се означи метилоктаноатът,

нека:

M'c е неговата маса в сместа в mg;
S'c – площта на неговия пик,

тогава:

$$\kappa_t = \frac{M'}{M'_c} \times \frac{S'_c}{S'_t} .$$

Този коефициент варира според използваната апаратура.

5.2.8.2. Концентрация на меркаптооцетната киселина в пробата.

Ако с "t" се означи меркаптооцетната киселина,

нека:

kt е нейният корекционен коефициент;

St – площта на нейния пик.

Ако с "c" се означи метилоктаноатът,

нека:
Mc е неговата маса в сместа в mg;

Sc – площта на неговия пик;

M – масата на първоначалната проба за изпитване в mg,

тогава % (M/M) на меркаптооцетната киселина в пробата е:

$$\frac{M_c}{M} \times \frac{\kappa_t \times S_t}{S_c} \times 100.$$

7. Повторяемост*

За съдържание на меркаптооцетна киселина от 8 % (M/M) разликата между две
успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,8 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XIX. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЕКСАХЛОРОФЕН

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение
Методът е подходящ за всички козметични продукти.

2. Принцип

Хексахлорофенът се екстрахира с етилацетат и се идентифицира чрез тънкослойна
хроматография.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Сярна киселина, 4 M.

3.2. Целит AW.

3.3. Етилацетат.

3.4. Подвижна фаза: бензен, съдържащ 1 % (V/V) ледена оцетна киселина.

3.5. Реактив за проявяване на петната I:

Разтвор на родамин B: разтварят се 0,1 g родамин B в смес от 150 cm^3 (ml) диетилов етер, 70 cm^3 (ml) абсолютен етанол и 16 cm^3 (ml) вода.
3.6. Реактив за проявяване на петната II:

Разтвор на 2,6-дибром-4-(хлоримино)циклохекса-2,5-диенон: разтварят се 0,4 g
2,6-дибром-4-(хлоримино)циклохекса-2,5-диенон в 100 cm^3 (ml) метанол, приготвен непосредствено преди употреба.

Разтвор на натриев карбонат: разтварят се 10 g натриев карбонат в 100 cm^3 (ml) деминерализирана вода.

3.7. Стандартен разтвор:

Хексахлорофен, 0,05 % (M/V) разтвор в етилацетат.

4. Апаратура

4.1. Плаки за тънкослойна хроматография Kieselgel F_{254}, 20 x 20 cm или еквивалентни.

4.2. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

4.3. Термостатирана при 26 °C водна баня, в която се слага хроматографската вана.

5. Приготвяне на пробата за изпитване

5.1. Смесват се добре 1 g от хомогенизираната проба с 1 g целит AW (т. 3.2) и 1 cm^3 (ml) сярна киселина (т. 3.1).
5.2. Суши се 2 h при 100 °C.

5.3. Охлажда се и сухият остатък се стрива на фин прах.

5.4. Екстрахира се двукратно с по 10 cm^3 (ml) етилацетат (т. 3.3), центрофугира се след всяка екстракция и етилацетатните слоеве се обединяват.

5.5. Изпарява се при 60 °C.

5.6. Остатъкът се разтваря в 2 cm^3 (ml) етилацетат (т. 3.3).

6. Процедура

6.1. Върху плаката за тънкослойна хроматография се нанасят 2 µl от разтвора на пробата за изпитване и 2 µl от сравнителния разтвор.

6.2. Хроматографската вана се насища с подвижната фаза (т. 3.4).

6.3. Плаката за тънкослойна хроматография се поставя във ваната и хроматограмата се развива, докато фронтът на разтворителя се придвижи на 15
cm.

6.4. Плаката се изважда и се суши в сушилня с вентилатор при около 105 °C.

6.5. Проявяване на петната
Петната от хексахлорофена се оцветяват, както е посочено в т. 6.5.1 или в т. 6.5.2.

6.5.1. Плаката се напръсква равномерно с проявяващ реактив I (т. 3.5). След 30 min плаката се разглежда на УВ лампа при λ=254 nm.

6.5.2. Плаката се напръсква равномерно с разтвор на 2,6-дибром-4-(хлоримино)
циклохекса-2,5-диенон – проявяващ реактив II (т. 3.6). След това плаката се напръсква с разтвор на натриев карбонат (т. 3.6). Плаката се суши 10 min при стайна температура, след което се разглежда на дневна светлина.

7. Интерпретация

7.1. Проявяващ реактив I (т. 3.5):

Хексахлорофенът се наблюдава като синкаво петно на жълто-оранжев флуоресциращ
фон и има Rf стойност около 0,5.

7.2. Проявяващ реактив II (т. 3.6):

Хексахлорофенът се наблюдава като небесносиньо до тюркоазено петно на бял фон
и има Rf стойност около 0,5.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Този метод е приложим за всички козметични продукти.
2. Дефиниция

Съдържанието на хексахлорофен в пробата, определено по този метод, се изразява като % (M/M) хексахлорофен.

3. Принцип

След превръщане в метилово производно хексахлорофенът се определя чрез газова

хроматография с електронулавящ детектор.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография".

4.1. Етилацетат.

4.2. н-метил-н-нитрозо-п-толуенсулфонамид (diazald).

4.3. Диетилов етер.

4.4. Метанол.

4.5. 2-(2-етоксиетокси)етанол (карбитол).
4.6. Мравчена киселина.

4.7. Калиев хидроксид, 50 % (M/M) воден разтвор. Приготвя се непосредствено
преди употреба.

4.8. Хексан за спектроскопия.

4.9. Бромхлорофен (стандарт № 1).

4.10. 4,4',6,6'-тетрахлор-2,2'-тиодифенол (стандарт № 2).

4.11. 2,4,4'-трихлор-2-хидроксидифенилов етер (стандарт № 3).

4.12. Ацетон.

4.13. Сярна киселина, 4 M.

4.14. Целит AW.

4.15. Мравчена киселина/етилацетат, 10 % (V/V) разтвор.

4.16. Хексахлорофен.
5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Миниапарат за получаване на диазометан (Analyt. Chem., 1973, 45, 2302-2).

5.3. Газов хроматограф с електронулавящ детектор, с Ni^{63}-източник.

6. Процедура

6.1. Приготвяне на стандартен разтвор

Стандартът се подбира така, че да не взаимодейства с никое вещество, съдържащо се в пълнителя на анализирания продукт. Обикновено най-подходящ е
стандарт № 1 (т. 4.9).

6.1.1. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят с точност 0,001 g около 50 mg от стандарти № 1, 2 или 3 (т. 4.9, т. 4.10 или т. 4.11) и 0,05 g хексахлорофен (т. 4.16) от 100 cm^3 (ml). Долива се до марката с етилацетат (т. 4.1) (разтвор А). 10 cm^3 (ml) от разтвор А се разрежда до 100 cm^3 (ml) с етилацетат (т. 4.1) (разтвор Б).

6.1.2. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят с точност 0,001 g около 0,05 g от стандарти № 1, 2 или 3 (т. 4.9, т. 4.10 или т. 4.11). Долива се до марката с етилацетат (т. 4.1) (разтвор В).

6.2. Приготвяне на пробата*

Претегля се 1 g от хомогенизираната проба с точност 0,001 g и се смесва напълно с 1 cm^3 (ml) сярна киселина (т. 4.13), 15 cm^3 (ml) ацетон (т. 4.12) и 8 g целит AW (т. 4.14). Сместа се суши до въздушно сухо състояние на парна баня за 30 min, след което се суши за 1 h и 30 min в сушилня с вентилатор. Охлажда се, остатъкът се стрива на фин прах и се прехвърля в стъклена колона.
Елуира се с етилацетат (т. 4.1) и се събират 100 cm^3 (ml). Прибавят се 2 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешния стандарт (разтвор Б) (т. 6.1.2).
**Забележка.* Поради широката гама на типовете продукти, които могат да задържат хексахлорофен, важно е да се провери чрез тази процедура извличането
на хексахлорофена от пробата, преди да се отчитат резултати. Ако извличането
е лошо, трябва да се направят модификации като смяна на разтворителя (бензен
вместо етилацетат) и други със съгласието на заинтересованите страни.

6.3. Метилиране на пробата

Апаратчето и всички реактиви за получаване на диазометан се охлаждат до 0° – 4 °C в продължение на 2 h. Във външното отделение на
апаратчето се поставят 1,2 cm^3 (ml) от разтвора, получен в т. 6.2, и 0,1 cm^3 (ml) метанол (т. 4.4). В централния резервоар се поставят около 0,2 g диазалд (т. 4.2) и се разтваря чрез добавяне на 1 cm^3 (ml) карбитол (т. 4.5) и 1 cm^3 (ml) диетилов етер (т. 4.3).

Апаратчето се сглобява, потапя се наполовина в ледена баня при 0 °C и в централния резервоар се впръсква със спринцовка 1 cm^3 (ml) охладен разтвор на
калиев хидроксид (т. 4.7). Трябва да се провери дали полученото жълто

оцветяване от образуващия се диазометан е трайно. Ако жълтото оцветяване не е
трайно, метилирането се повтаря с нови 0,2 g диазалд (т. 4.2)**.

Апаратчето се изважда от банята след 15 min, след което се оставя затворено 12 h при стайна температура. Апаратчето се отваря, излишъкът от диазометан
реагира с прибавените няколко капки разтвор на мравчена киселина в етилацетат
(т. 4.15) и органичният разтвор се прехвърля в мерителна колба от 25 cm^3 (ml). Долива се до марката с хексан (т. 4.8).

1,5 µl от този разтвор се инжектира в хроматографа.

***Забележка.* Трайността на жълтото оцветяване е указание за излишък на диазометан, който е необходим, за да се осигури пълно метилиране на пробата.

6.4. Метилиране на стандарта.

Апаратчето и всички реактиви за получаване на диазометан се охлаждат до 0° – 4 °C в продължение на 2 h. Във външното отделение на апаратчето се поставят:

0,2 cm^3 (ml) разтвор B (т. 6.1.1),

1 cm^3 (ml) етилацетат (т. 4.1),
0,1 cm^3 (ml) метанол (т. 4.4).

Метилирането продължава, както е описано в т. 6.3.

1 µl от получения разтвор се инжектира в хроматографа.

7. Газова хроматография

Колоната трябва да дава разделяне R, равно или по-добро от 1,5,

като:

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

където:

r_1 и r_2 са времената на задържане в min;

W_1 и W_2 – широчините на пиковете при половината от височините им в mm;

d' е скоростта на хартията в mm/min.
Като подходящи са установени следните условия на хроматографиране:

Колона – неръждаема стомана.

Дължина – 1,7 m.

Диаметър – 3 mm.

Носител – Chromosorb WAW – 80 до 100 mesh.

Стационарна фаза – 10 % OV 17.

Температури:

Колона – 280 °C,

Инжектор – 280 °C,

Детектор – 280 °C.

Газ носител – азот, свободен от кислород.
Налягане – 2,3 bar.

Дебит на потока – 30 cm^3 (ml)/min.

8. Изчисления

8.1. Корекционен коефициент на хексахлорофена

Изчислява се спрямо избрания стандарт във връзка със стандартната смес.

Нека:

h е хексахлорофен;

kh – неговият корекционен коефициент;

M'h – неговата маса в сместа в g;

A'h – площта на неговия пик;

s – избраният стандарт;
M' – неговата маса в сместа в g;

A's – площта на неговия пик,

тогава:

$$\kappa_h = \frac{M'_h}{M'_s} \times \frac{A'_s}{A'_h} \ .$$

8.2. Количество на хексахлорофена в пробата

Нека:

h е хексахлорофен;

kh – неговият корекционен коефициент;

Ah – площта на неговия пик;

s – избраният стандарт;

Ms – неговата маса в сместа в g;
As – площта на неговия пик;

M – масата на взетата проба в g,

тогава % (M/M) на хексахлорофена в пробата е:

$$\frac{M_s \times k_h \times A_h \times 100}{M \times A_s} \ .$$

9. Повторяемост ***

За съдържание на хексахлорофен 0,1 % (M/M), разликата между две успоредни
определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност
0,005 % (M/M).

****Забележка.* Виж ISO 5725.

XX. КОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НАТРИЕВ ТОЗИЛХЛОРАМИД (ХЛОРАМИН–Т)

1. Област на приложение

Методът се отнася за количествено определяне чрез тънкослойна хроматография
на натриев тозилхлорамид (хлорамин-Т) в козметични продукти.

2. Дефиниция
Съдържанието на хлорамин-Т в пробата, определено по този метод, се изразява
като % (M/M)

3. Принцип

Хлорамин-Т се хидролизира напълно до 4-толуенсулфонамид чрез кипене със солна
киселина.

Количеството на образувания 4-толуенсулфонамид се определя фотоденситометрично чрез тънкослойна хроматография.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Натриев тозилхлорамид (хлорамин-Т).

4.2. Стандартен разтвор на 4-толуенсулфонамид: 0,05g 4-толуенсулфонамид в 100
cm^3 (ml) етанол (т. 4.5).

4.3. Солна киселина, 37,7 % (M/M), d_4^{20} = 1,18 g/cm^3 (ml).

4.4. Диетилов етер.

4.5. Етанол, 96 % (V/V).
4.6. Подвижна фаза

4.6.1. 1-бутанол : етанол (4.5) : вода =40 : 4 : 9 (V/V/V) или

4.6.2. хлороформ : ацетон = 6 : 4 (V/V).

4.7. Готови плаки за тънкослойна хроматография със силикагел 60, без флуоресцентен индикатор.

4.8. Калиев перманганат.

4.9. Солна киселина, 15 % (M/M).

4.10. Реактив за напръскване: 2-толуидин, 1 % (M/V) разтвор в етанол (т. 4.5).

5. Апаратура

5.1. Стандартна лабораторна апаратура.

5.2. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

5.3. Фотоденситометър.

6. Процедура

6.1. Хидролиза

В облодънна колба от 50 cm^3 (ml) се претегля около 1 g от пробата (M) с точност 0,001 g. Прибавят се 5 cm^3 (ml) вода и 5 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.3) и се кипи на обратен хладник в продължение на 1 h. Топлата суспензия веднага се прехвърля с вода в мерителна колба от 50 cm^3 (ml). Оставя се да се охлади и се долива до марката с вода. Центрофугира се минимум 5 min при 3000
rpm и се филтрува бистрата течност.

6.2. Екстракция

6.2.1. Вземат се 30 cm^3 (ml) от филтрата и се екстрахира три пъти с по 15 cm^3 (ml) диетилов етер (т. 4.4). Ако е необходимо, етерните фази се сушат и се обединяват в мерителна колба от 50 cm^3 (ml). Долива се до марката с диетилов
етер.

6.2.2. Вземат се 25 cm^3 (ml) от изсушения етерен екстракт и се изпарява до сухо с ток от азот. Остатъкът се разтваря в 1 cm^3 (ml) етанол (т. 4.5).

6.3. Тънкослойна хроматография

6.3.1. Върху плаката за тънкослойна хроматография (т. 4.7) се нанасят 20 µl1 от етанолния остатък (т. 6.2) и същевременно 8, 12, 16 и 20 µl от стандартния разтвор на 4-толуенсулфонамид (т. 4.2).

6.3.2. Хроматограмата се развива, докато фронтът на разтворителя достигне 15
cm с подвижната фаза (т. 4.6.1 или т. 4.6.2).

6.3.3. След пълно изпаряване на подвижната фаза плаката се поставя за 2 – 3 min в атмосфера на хлорни пари, които се получават чрез заливане на 2 g калиев перманганат (т. 4.8) със 100 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.9) в затворен съд. Излишъкът от хлор се отстранява чрез загряване на плаката до 100 °C за 5 min. След това плаката се напръсква с реактив (т. 4.10).

6.4. Измерване
След около 1 h се измерват виолетовите петна с помощта на фотоденситометър
при λ=525 nm.

6.5. Построяване на стандартната крива.

На графика на ординатата се нанасят стойностите на максималната височина на
пиковете в mm, установени за четирите петна на 4-толуенсулфонамида, на абсцисата – съответните количества на 4-толуенсулфонамида (т.е. съответно 4,
6, 8 и 10 μg на петно).

7. Забележка

Методиката може да се контролира чрез използване на 0,1 или 0,2 % (M/V) разтвори на хлорамин-Т (т. 4.1), обработени по същия начин както пробата (т.
6).

8. Изчисления

Съдържанието на хлорамин-Т в пробата, изразено в % (M/M), се изчислява, както
следва:

$$\%(M/M)\ натриев\ тозилхлорамид = \frac{1{,}33 \times a}{60 \times M},$$

където:

1,33 е фактор за превръщане на 4-толуенсулфонамид в хлорамин-Т;

a – количеството на 4-толуенсулфонамид в пробата в μg, отчетено по стандартната крива;
M – масата на взетата проба в g.

9. Повторяемост *

За съдържание на хлорамин-Т около 0,2 % (M/M) разликата между две успоредни
определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност
0,03 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXI. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ОБЩ ФЛУОР В ПАСТИ ЗА ЗЪБИ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на общ флуор в пасти за зъби при количества

на флуор не повече от 0,25 %.

2. Дефиниция

Количеството флуор в пробата, определено по този метод, се изразява в % (M/M).

3. Принцип

Определянето се извършва чрез газова хроматография. Флуорът от флуорсъдържащи
съединения се превръща в кисела среда с хлортриетилсилан (TECS) в триетилфлуорсилан (TEFS) и същевременно се екстрахира с ксилен, съдържащ като
вътрешен стандарт циклохексан.
4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография".

4.1. Натриев флуорид, изсушен при 120 °C до постоянна маса.

4.2. Вода, бидестилирана.

4.3. Солна киселина , d_4^{20}=1,19g/cm^3 (ml).

4.4. Циклохексан (CH).

4.5. Ксилен, който не дава върху хроматограмата пикове, разположени преди пика на разтворителя, когато последният се хроматографира при същите условия
като пробата (т. 6.1). Ако е необходимо, се пречиства чрез дестилация (т. 5.8).

4.6. Хлортриетилсилан (TECS merck или с еквивалентна чистота).

4.7. Стандартни разтвори на флуор.

4.7.1. Изходен стандартен разтвор, 0,250 mg F-/cm^3 (ml).

Претеглят се точно 138,1 mg натриев флуорид (т. 4.7) с точност 0,001 g и се разтварят във вода (т. 4.2). Разтворът се прехвърля количествено в мерителна колба от 250 cm^3 (ml) (т. 5.5). Долива се до марката с вода (т. 4.2) и се разбърква.
4.7.2. Разреден стандартен разтвор 0,050 mg F-/cm^3 (ml).

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) (т. 5.5) се прехвърлят с помощта на пипета 20 cm^3 (ml) от изходния разтвор (т. 4.7.1). Долива се до марката с вода и се разбърква.

4.8. Разтвор на вътрешен стандарт:

Смесват се 1 cm^3 (ml) циклохексан (т. 4.4) и 5 cm^3 (ml) ксилен (т. 4.5).

4.9. Хлортриетилсилан – разтвор на вътрешен стандарт:

В мерителна епруветка от 10 cm^3 (ml) се поставят с пипета (т. 5.7) 0,6 cm^3 (ml) от TECS (т. 4.6) и 0,12 cm^3 (ml) от разтвор на вътрешен стандарт (т. 4.8). Долива се до марката с ксилен (т. 4.5) и се разбърква. Разтворът трябва да бъде приготвен непосредствено преди употреба.

4.10. Перхлорна киселина, 70 % (M/V).

4.11. Перхлорна киселина, 20 % (M/V).

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Газов хроматограф с пламъчно-йонизационен детектор.
5.3. Хомогенизатор или подобен апарат.

5.4. Клатачна машина (Buhler), тип SMB1 или еквивалентна.

5.5. Полипропиленови мерителни колби, 100 и 250 cm^3 (ml).

5.6. Центрофужни епруветки (стъклени), 20 cm^3 (ml) със запушалки на винт и
тефлоново уплътнение, тип Sovirel 611-56 или еквивалентни. Епруветките и запушалките се почистват чрез потапяне в перхлорна киселина (т. 4.11), последвано от петкратно изплакване с вода (т. 4.2) и изсушаване при 100 °C.

5.7. Автоматични пипети с обхват от 50 до 200 µl с накрайници за еднократна употреба.

5.8. Апаратура за дестилация с дестилационна приставка Schneider с три кълба
или еквивалентна колона Vigreux.

6. Процедура

6.1. Подготовка на пробата

6.1.1. Избира се неотваряна туба с паста за зъби, разрязва се и цялото съдържание се изстисква в пластмасов съд. Разбърква се добре и се съхранява
така, че да не настъпи влошаване на качеството.

6.1.2. В центрофужна епруветка (т. 5.6) се претеглят точно 150 mg (M) от пробата, добавят се 5 cm^3 (ml) вода (т. 4.2) и се хомогенизира (т. 5.3).

6.1.3. Добавя се 1 cm^3 (ml) ксилол (т. 4.5).
6.1.4. Прибавят се на капки 5 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.3) и се хомогенизира (т. 5.3).

6.1.5. В центрофужна епруветка (т. 5.6) с помощта на пипета се прибавят 0,5 cm^3 (ml) от разтвор (т. 4.9), състоящ се от хлортриетилсилан и разтвор на вътрешен стандарт.

6.1.6. Епруветката се затваря с капачка на винт (т. 5.6) и се разклаща в продължение на 45 min в клатачна машина (т. 5.4) при 150 удара (разклащания)
за min.

6.1.7. Центрофугира се за 10 min при скорост, при която се получава ясно разделяне на фазите. Епруветката се отваря, отделя се органичният слой. 3 µl
от органичната фаза се инжектира в колоната на газовия хроматограф (т. 5.2).

Забележка. Елуирането на всички компоненти продължава около 20 min.

6.1.8. Инжектирането се повтаря, изчислява се съотношението на средната площ
на пиковете (A_{TEFS}/A_{CH}) и от стандартната крива (т. 6.3) се отчита съответното количество флуор в mg (M1).

6.1.9. Общото съдържание на флуор в пробата се изчислява в % спрямо масата на
флуора, както е отбелязано в т. 7.

6.2. Хроматографски условия

6.2.1. Колона: от неръждаема стомана

Дължина – 1,8 m

Диаметър – 3,0 mm
Носител – Gaschrom Q 80-100 mesh

Неподвижна фаза – силиконово масло DC 200 или еквивалентно, 20 %.

Колоната се кондиционира при 100 °C за около 12 h (поток на газа носител (азот), 25 cm^3/min). Процедурата се повтаря през 12 h.

След всяко четвърто или пето инжектиране колоната се рекондиционира чрез загряване до 100 °C за 30 min.

Температури на:

Колона – 70 °C

Инжектор – 150 °C

Детектор – 250 °C

Газ носител – азот

Скорост на газа носител – 35 cm^3 (ml)/min.

6.3. Построяване на стандартна крива
6.3.1. В серия от 6 центрофужни епруветки (т. 5.6) се поставят с пипети по 0, 1, 2, 3, 4 и 5 cm^3 (ml) от разредения стандартен разтвор на флуор (т. 4.7.2). Обемът на всяка епруветка се довежда до 5 cm^3 (ml) с вода (т. 4.2).

6.3.2. По-нататък се извършва процедура, описана от т. 6.1.3 до т. 6.1.6 включително.

6.3.3. Инжектират се по 3 µl от органичната фаза в газовия хроматограф (т. 5.2).

6.3.4. Инжектирането се повтаря и се изчислява средното съотношение на пиковете (A_{TEFS}/A_{CH}).

6.3.5. Начертава се стандартната крива, корелираща с масата на флуора (mg) в
стандартния разтвор (т. 6.3.1) и съотношението на площите на пиковете (A_{TEFS}/A_{CH}), изчислени съгласно т. 6.3.4. Точките върху графиката се свързват помежду си с най-подходящата права линия, получена чрез използване на регресионен анализ.

7. Изчисления

Общото съдържание на флуор в пробата в % (M/M) F се изчислява по формулата:

$$\%F = \frac{M_1}{M} \times 100\% ,$$

където:

M е претеглената проба за анализ (т. 6.1.2) в mg;

M1 – количеството флуор, отчетено от стандартната крива (т. 6.1.8) в mg.
8. Повторяемост *

За съдържанието на флуор около 0,15 % (M/M), разликата между резултатите от
две паралелно проведени определения на една и съща мостра не трябва да надвишава абсолютната стойност от 0,012 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ОРГАНОЖИВАЧНИ СЪЕДИНЕНИЯ. ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Методът се отнася за идентификация и определяне на органоживачни съединения,
използвани като консерванти в козметични продукти за очи. Приложима е за тиомерсал (INN) (натриев 2-(етилмеркуритио)бензоат) и фенилмеркури и неговите
соли.

А. ИДЕНТИФИЦИРАНЕ

1. Принцип

Органоживачните съединения образуват комплекс с 1,5-дифенил-3-тиокарбазон.
След екстракция на дитизоната с тетрахлорметан се провежда тънкослойна хроматография върху силикагел. Петната на дитизонатите имат оранжев цвят.

2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ", а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

2.1. Сярна киселина, 25 % (V/V).
2.2. 1,5-дифенил-3-тиокарбазон (дитизон): 0,8 mg в 100 cm^3 (ml) тетрахлорметан (т. 2.4).

2.3. Азот.

2.4. Тетрахлорметан.

2.5. Подвижна фаза: хексан : ацетон = 90 : 10 (V/V).

2.6. Стандартен разтвор, 0,001 % във вода на:

натриев 2-(етилмеркуритио) бензоат,

етилмеркурихлорид или метилмеркурихлорид,

фенилмеркуринитрат или фенилмеркуриацетат, меркури дихлорид или меркури
диацетат.

2.7. Готови плаки за тънкослойна хроматография със силикагел (например merck$_{5721}$ или еквивалентни).

2.8. Натриев хлорид.

3. Апаратура
3.1. Стандартно лабораторно оборудване.

3.2. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

3.3. Филтър за разделяне на фазите.

4. Процедура

4.1. Екстракция

4.1.1. 1 g от пробата се разрежда чрез титруване с 20 cm^3 (ml) дестилирана вода в центрофужна епруветка. Постига се максимално диспергиране и се загрява
до 60 °C на водна баня. Прибавят се 4 g натриев хлорид (т. 2.8).
Разклаща се. Оставя се да се охлади.

4.1.2. Центрофугира се поне 20 min при 4500 rpm, за да се отдели по-голямата
част от твърдата фаза от течността. Филтрува се в делителна фуния и се добавят 0,25 cm^3 (ml) разтвор на сярна киселина (т. 2.1).

4.1.3. Екстрахира се няколко пъти с 2 или 3 cm^3 (ml) разтвор на дитизон (т. 2.2), докато при последната екстракция органичната фаза остава зелена.

4.1.4. Последователно се филтрува всяка органична фаза през филтъра за разделяне на фазите (т. 3.3).

4.1.5. Изпарява се до сухо с ток от азот.

4.1.6. Разтваря се с 0,5 cm^3 (ml) тетрахлорметан (т. 2.4). Този разтвор се третира веднага, както е посочено в т. 4.2.1.
4.2. Разделяне и идентификация

4.2.1. 50 µl от получения в т. 4.1.6 тетрахлорметанов разтвор се нанасят незабавно върху плаката със силикагел (т. 2.7). Едновременно с това се обработват 10 cm^3 (ml) от стандартния разтвор (т. 2.6), както е посочено в т. 4.1, и върху същата плака се нанасят 50 µl от разтвора, получен в т. 4.1.6.

4.2.2. Плаката се поставя в подвижната фаза (т. 2.5) и хроматограмата се

развива, докато фронтът достигне 15 cm височина. Органоживачните съединения
се идентифицират като оцветени петна, чийто цвят е стабилен, ако веднага след
изпаряване на разтворителите слоят се покрие със стъклена пластина.

Получават се примерно следните Rf стойности:

	Rf	Цвят
Тиомерсал	0,33	оранжев
Етилмеркурихлорид	0,29	оранжев
Метилмекурихлорид	0,29	оранжев
Фенилмеркуриеви соли	0,21	оранжев
Меркури соли	0,10	оранжев
Меркури диацетат	0,10	оранжев
1,5-дифенил-3-тиокарбазон	0,09	розов

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Дефиниция

Съдържанието на органоживачни съединения, определено по този метод, се изразява като % (M/M) живак в пробата.

2. Принцип

Методът се състои в измерване количеството на присъстващия общ живак. Поради
това е необходимо първо да се установи, че в пробата не присъства живак в неорганично състояние и да се идентифицират органоживачните производни, съдържащи се в пробата. След минерализация освободеният живак се измерва чрез
безпламъкова атомно-абсорбционна спектрометрия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а).

3.1. Концентрирана азотна киселина, d_4^{20} = 1,41 g/cm^3 (ml)

3.2. Концентрирана сярна киселина, d_4^{20} = 1,84 g/cm^3 (ml)

3.3. Бидестилирана вода

3.4. Калиев перманганат, 7 % (M/V)
3.5. Хидроксиламин хидрохлорид, 1,5 % (M/V)

3.6. Дикалиев пероксодисулфат, 5 % (M/V)

3.7. Калаен дихлорид, 10 % (M/V)

3.8. Концентрирана солна киселина, d_4^{20} = 1,18 g/cm^3 (ml)

3.9. Стъклена вата, импрегнирана с паладиев дихлорид, 1 % (M/M).

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Апарат за безпламъково атомноабсорбционно определяне на живак (техника
на студените пари), включително необходимата стъклария. Оптичен път на кюветата – минимум 10 cm.

5. Процедура

Вземат се обичайните предпазни мерки за анализ на следи от живак.

5.1. Разлагане на пробата
5.1.1. Претеглят се 0,15 g от пробата (M) с точност 0,001 g. Прибавят се 10 cm^3 (ml) азотна киселина (т. 3.1) и се оставя да се разлага 3 h в херметично затворена колба на водна баня при 55 °C, като се разклаща често. Едновременно се разработва и празна проба на реактивите.

5.1.2. След охлаждане се прибавят 10 cm^3 (ml) сярна киселина (т. 3.2) и се връща на водната баня при 55 °C за 30 min.

5.1.3. Колбата се поставя в ледена баня и внимателно се прибавят 20 cm^3 (ml) вода (т. 3.3).

5.1.4. На порции се прибавят по 2 cm^3 (ml) от 7 % калиев перманганат (т. 3.4), докато разтворът остане оцветен. Връща се във водната баня при 55 °C за 15 min.

5.1.5. Прибавят се 4 cm^3 (ml) разтвор на дикалиев пероксидисулфат (т. 3.6). Продължава се загряването на водна баня при 55 °C за 30 min.

5.1.6. Оставя се да се охлади и съдържанието на колбата се прехвърля в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Колбата се промива с 5 cm^3 (ml) хидроксиламинхидрохлорид (т. 3.5) и след това се промива 4 пъти с по 10 cm^3
(ml) вода (т. 3.3). Полученият разтвор трябва да бъде напълно безцветен. Долива се до марката с вода (т. 3.3).

5.2. Определяне

5.2.1. 10 cm^3 (ml) от разтвора за изпитване (т. 5.1.6) се поставят в стъкления съд за определяне на студени пари живак (т. 4.2). Разрежда се със

100 cm^3 (ml) вода (т. 3.3) и последователно се прибавят 5 cm^3 (ml) сярна киселина (т. 3.2) и 5 cm^3 (ml) калаен дихлорид (т. 3.7). Разбърква се след всяко добавяне. Изчакват се 30 sec, за да се редуцират всички живачни йони до
метално състояние, и се отчита резултатът (n).

5.2.2. Поставя се известно количество стъклен памук, импрегниран с паладиев
дихлорид (т. 3.9) между съда за редукция на живака и проточната кювета на инструмента (т. 4.2). Повтаря се процедурата по т. 5.2.1 и се записва резултатът. Ако резултатът не е нула, минерализацията е непълна и анализът трябва да се повтори.

6. Изчисления

Нека:
M е масата на пробата за изпитване в mg;

n е количеството живак, отчетено на апарата в µg.

Количеството живак, изразено като % (M/M) живак, се изчислява по формулата:

$$\%\,живак = \frac{n}{M}\,.$$

7. Забележки

7.1. За подобряване на минерализацията може да се започне с разреждане на пробата.

7.2. Ако се предполага абсорбция на живак от субстрата, трябва да се проведе
количествено определяне по метода на стандартните добавки.

8. Повторяемост *

За съдържание на живак около 0,007 % разликата между две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност
0,00035 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXIII. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АЛКАЛНИ И АЛКАЛОЗЕМНИ СУЛФИДИ
1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на сулфиди, присъстващи в козметични

продукти. Присъствието на тиоли и други редуциращи агенти (включително сулфити) не пречи.

2. Дефиниция

Концентрацията на сулфиди, определена по този метод, се изразява в % (M/M)
сяра.

3. Принцип

След подкисляване на средата сероводородът се увлича с ток от азот и се свързва под формата на кадмиев сулфид. Последният се филтрува, промива и след
това се определя йодометрично.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

4.1. Концентрирана солна киселина, d_4^{20} = 1,19 g/cm^3 (ml).

4.2. Натриев тиосулфат, 0,1 M стандартен разтвор.

4.3. Йод, 0,05 M стандартен разтвор.
4.4. Динатриев сулфид.

4.5. Кадмиев диацетат.

4.6. Концентриран разтвор на амоняк, d_4^{20} = 0,90 g/cm^3 (ml).

4.7. Амонячен разтвор на кадмиев диацетат: разтварят се 10 g кадмиев диацетат
в около 50 cm^3 (ml) вода. Добавя се амоняк (т. 4.6), докато първоначално получената утайка отново се разтвори (примерно около 20 cm^3 (ml). Долива се с
вода до общ обем 100 cm^3 (ml).

4.8. Азот.

4.9. Амоняк, 1 M.

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Облодънна тригърлена колба на шлиф от 100 cm^3 (ml).

5.3. Две конични колби от 100 cm^3 (ml) на шлиф, снабдени с приставка, съдържаща потапяща се тръба за подвеждане на газ и странична тръба за неговото отвеждане.

5.4. Фуния с дълга опашка.

6. Процедура

6.1. Увличане и фиксиране на сероводорода

6.1.1. Работи се с опаковка на продукта, която не е била отваряна преди това. В тригърлена колба (т. 5.2) се претегля с точност 0,001 g такава маса (M) от продукта, изразена в g, която да съответства на не повече от 30 mg сулфидни йони. Прибавят се 60 cm^3 (ml) вода и няколко капки пеногасител.

6.1.2. Във всяка от двете конични колби (т. 5.3) се поставят по 50 cm^3 (ml) от разтвор (т. 4.7).

6.1.3. Към облодънната колба (т. 5.2) се присъединяват: фуния с кран, потапяща се в течността тръба и тръба за отвеждане на газа. Отвеждащата тръба
се свързва с конични колби, свързани последователно, с помощта на тръби от PVC.

Забележка. Посочената апаратура трябва да се провери за липса на утечки по следния начин: симулирайки условията на изпитването, изпитваният продукт се
замества с 10 cm^3 (ml) разтвор на натриев сулфид (приготвен от т. 4.4), който съдържа "X" mg сулфид (определен йодометрично). Нека "Y" mg е сулфидът, определен в края на тази операция. Разликата между количество "X" и количество "Y" не трябва да е повече от 3 %.

6.1.4. В продължение на 15 min през облодънната колба (т. 5.2) се продухва азот (т. 4.8) със скорост 2 мехурчета/sec, за да се измести съдържащия се в нея въздух.

6.1.5. Облодънната колба се нагрява до 85 ± 5 °C.

6.1.6. Спира се подаването на азот (т. 4.8) и през фунията се прибавят капка по капка 40 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.1).

6.1.7. Когато е прибавена почти всичката киселина, се пуска отново токът от азот (т. 4.8), като във фунията се оставя минимален слой течност, за да се избегне излитане на сероводород.

6.1.8. Нагряването се прекратява след 30 min. Колбата (т. 5.2) се оставя да се охлади, като подаването на азот продължава поне още 1 h и 30 min.

6.2. Титруване

6.2.1. Кадмиевият сулфид се филтрува през фуния с дълга опашка (т. 5.4).

6.2.2. Коничните колби (т. 5.3) се промиват първо с амонячен разтвор (т. 4.9), който се излива върху филтъра. След това се промиват с дестилирана вода, която се използва за промиване на утайката върху филтъра.

6.2.3. Промиването на утайката завършва с още 100 cm^3 (ml) вода.

6.2.4. Хартиеният филтър се поставя в първата конична колба, която съдържа утайката. Добавят се 25 cm^3 (ml) (n1) разтвор на йод (т. 4.3), около 20 cm^3 (ml) солна киселина (т. 4.1) и 50 cm^3 (ml) дестилирана вода.

6.2.5. Определя се излишъкът на йод, като се титрува с разтвор на натриев тиосулфат (n2) (т. 4.2).

7. Изчисления

Съдържанието на сулфиди в пробата, изразено като сяра в % (M/M), се изчислява
по следната формула:

$$\%\ сяра = \frac{32(n_1x_1 - n_2x_2)}{20M},$$

където:

n_1 е използваният стандартен разтвор на йод (т. 4.3) в cm^3 (ml);
x_1 – моларността на този разтвор;

n_2 – стандартният разтвор на натриев тиосулфат (т. 4.2) в cm^3 (ml);

x_2 – моларността на този разтвор;

M – масата на пробата за изпитване в g.

8. Повторяемост *

За съдържание на сулфиди около 2 % (M/M) разликата между две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност
0,2 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXIV. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ГЛИЦЕРОЛ 1-(4-АМИНОБЕНЗОАТ)

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за откриване на α-моноглицерил 4-аминобензоат (глицерол 1-(4-аминобензоат). Определя се и етил-4-аминобензоат (бензокаин
INN), който може да присъства като онечистване.
2. Принцип

Идентификацията се извършва чрез тънкослойна хроматография на силикагел с
флуоресцентен индикатор и откриване на свободна първична аминогрупа чрез
образуване на диазо багрило върху плаката.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Смес от разтворители: циклохексан : пропан-2-ол : стабилизиран дихлорметан = 48:64:9 (V/V/V).

3.2. Подвижна фаза: петролеев етер (40-60) : бензен : ацетон : разтвор на амониев хидроксид (min 25 % NH_3) = 35:35:35:1 (V/V/V/V).

3.3. Реактив за проявяване:

а) натриев нитрит: 1 g в 100 cm^3 (ml) 1 M солна киселина (приготвя се непосредствено преди употреба);

б) 2-нафтол: 0,2 g в 100 cm^3 (ml) 1 M калиев хидроксид.

3.4. Стандартни разтвори:

3.4.1. α-моноглицерил 4-аминобензоат: 0,05 g в 100 cm^3 (ml) смесен разтворител т. 3.1;
3.4.2. етил 4-аминобензоат: 0,05 g в 100 cm^3 (ml) смесен разтворител (т. 3.1).

3.5. Плаки със силикагел 60 F_{254} с дебелина на слоя 0,25 mm, 20 x 20 cm.

4. Апаратура

4.1. Стандартна апаратура за тънкослойна хроматография.

4.2. Ултразвукова вана.

4.3. Филтър Millipore FH 0,5 µ1m или еквивалентен.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

В мерителна колба от 10 cm^3 (ml) се претеглят 1,5 g с точност 0,001 g от изпитвания продукт. Долива се до марката с разтворител (т. 3.1). Колбата се затваря и се оставя поне един час при стайна температура в ултразвукова вана
(т. 4.2). Филтрува се през филтър Millipore (т. 4.3) и филтратът се използва за хроматографиране.

5.2. Тънкослойна хроматография

Върху плаката (т. 3.5) се нанасят по 10 µl от разтвора на пробата (т. 5.1) и стандартните разтвори (т. 3.4).
Хроматограмата се развива до 15 cm височина във вана, предварително наситена
с подвижната фаза (т. 3.2). Изсушава се при стайна температура.

5.3. Проявяване на петната

5.3.1. Плаката се наблюдава на УВ светлина с дължина на вълната 254 nm.

5.3.2. Напълно изсушената плака се напръсква с реактив по т. 3.3 (а).

Подсушава се при стайна температура за 1 min и веднага се напръсква с реактив
по т. 3.3 (б).

Плаката се изсушава в сушилня при 60 °C. Появяват се оранжеви петна на а-моноглицерил 4-аминобензоат с Rf-0,07 и на етил 4-аминобензоат с Rf-0,55.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на α-моноглицерил 4-аминобензоат. Определя се също и етил 4-аминобензоат. Не може да се определя съдържание,
по-голямо от 5 % (M/M) α-моноглицерил 4-аминобензоат и 1 % (M/M) етил 4-аминобензоат.

2. Дефиниция

Съдържанието на α-моноглицерил 4-аминобензоат и етил 4-аминобензоат, определени по този метод, се изразяват в % (M/M) от масата на пробата.
3. Принцип

Изпитваният продукт се суспендира в метанол и след подходяща обработка на
пробата се определя чрез високоефективна течна хроматография (ВЕТХ).

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация за "ВЕТХ", а водата – бидестилирана.

4.1. Метанол.

4.2. Калиев дихидрогенортофосфат (KH_2PO_4).

4.3. Цинков диацетат ($Zn(CH_3COO)2.2H_2O$).

4.4. Оцетна киселина (d_4^{20} = 1,05).

4.5. Тетракалиев хексацианоферат ($K_4(Fe(CN)_6).3H_2O$).

4.6. Етил 4-хидроксибензоат.

4.7. α-моноглицерил 4-аминобензоат.
4.8. Етил 4-аминобензоат.

4.9. Разтвор на фосфатен буфер, 0,02 M: Разтварят се 2,72 g калиев дихидрогенортофосфат (т. 4.2) в един литър вода.

4.10. Подвижна фаза: фосфатен буфер (т. 4.9) : метанол (4.1) = 61:39 (V/V).

Съставът на подвижната фаза може да бъде променен, така че да се постигне разделяне R ≥ 1,5.

$$R = 2\frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2},$$

където:

R_1 и R_2 са времената на задържане на пиковете в min;

W_1 и W_2 – широчините на пиковете при половината на височината им в mm;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

4.11. Основен разтвор на α-моноглицерил 4-аминобензоат: претегля се около 0,04 g с точност 0,001 g α-моноглицерил 4-аминобензоат и се поставят в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Разтварят се в 40 cm^3 (ml)

метанол (т. 4.1). Долива се до марката с буферен разтвор (т. 4.9) и се разбърква.

4.12. Основен разтвор на етил 4-аминобензоат: претегля се около 0,04 g с точност 0,001 g етил 4-аминобензоат и се поставят в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Разтваря се в 40 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1). Долива се до марката с буферен разтвор (т. 4.9) и се разбърква.
4.13. Разтвор на вътрешен стандарт: претегля се около 0,05 g с точност 0,001 g
етил 4-хидроксибензоат (т. 4.6) и се поставя в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Разтваря се в 40 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1). Долива се до марката с буферен разтвор (т. 4.9) и се разбърква.

4.14. Стандартни разтвори: приготвят се четири стандартни разтвора чрез прибавяне в 100 cm^3 (ml) подвижна фаза (т. 4.10) на горните разтвори съгласно
следната таблица:

Стандартни разтвори	α-моноглицерил 4-аминобензоат		Етил 4-аминобензоат		Етил 4-хидроксибензоат	
	(µg/cm^3 (ml)*	cm^3 (ml) (4.11)	(µg/cm^3 (ml)*	cm^3 (ml) (4.12)	(µg/cm^3 (ml)*	cm^3 (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

(*) Тези стойности са дадени за сведение и съответстват на точните маси от т. 4.11, т. 4.12 и т. 4.13.

Забележка. Тези разтвори могат да бъдат приготвени по различен начин.

4.15. Разтвор на Carrez I: 26,5 g тетракалиев хексацианоферат (т. 4.5) се разтваря във вода и обемът се довежда до 250 cm^3 (ml).

4.16. Разтвор на Carrez II: 54,9 g цинков диацетат (т. 4.3) и 7,5 cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 4.4) се разтварят във вода и обемът се довежда до 250 cm^3
(ml).

4.17. Lichrosorb RP-18 на merck или еквивалентен със среден размер на частиците 5 µ1m.

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. BETX апарат, снабден с UV детектор с променлива дължина на вълната и термостат, нагласен на 45° C.

5.3. Колона от неръждаема стомана: дължина – 25 cm; вътрешен диаметър – 4,6
mm; пълнеж – Lichrosorb RP-18 (т. 4.17).

5.4. Ултразвукова вана.

6. Процедура
6.1. Приготвяне на пробата

6.1.1. Претегля се около 1,0 g от пробата с точност 0,001 g в стъклена чаша от 100 cm^3 (ml) и се прибавят 10 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1).

6.1.2. Чашата се поставя в ултразвукова вана (т. 5.4) за 20 min за получаване на суспензия. Така получената суспензия се прехвърля количествено в мерителна
колба от 100 cm^3 (ml), използвайки не повече от 75 cm^3 (ml) подвижна фаза (т.
4.10). Последователно се прибавят 1,0 cm^3 (ml) разтвор на Carrez I (т. 4.15) и 1,0 cm^3 (ml) разтвор на Carrez II (т. 4.16), като се разбърква след всяко прибавяне. Долива се до марката с подвижна фаза (т. 4.10), разбърква се отново и се филтрува през нагънат хартиен филтър.

6.1.3. В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се прехвърлят с пипета 3,0 cm^3 (ml) от получения в т. 6.1.2 филтрат и 5 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешен стандарт
(т. 4.13). Долива се до марката с подвижната фаза (т. 4.10) и се разбърква. Така полученият разтвор се използва за провеждане на хроматографския анализ
съгласно т. 6.2.

6.2. Хроматографиране

6.2.1. Скоростта на потока на подвижната фаза (т. 4.10) се нагласява на 1,2 cm^3 (ml)/min, а температурата на колоната на 45 °C.

6.2.2. Детекторът (т. 5.2) се настройва на 274 nm.

6.2.3. С микроспринцовка в хроматографа се дозират най-малко два пъти 20 µl
от разтвора (т. 6.1.3) и се измерват площите на пиковете.

6.3. Стандартна крива

6.3.1. Инжектират се 20 µl от всеки стандартен разтвор (т. 4.14) и се измерват площите на пиковете.

6.3.2. За всяка концентрация се изчислява отношението между площите на пиковете на α-моноглицерил 4-аминобензоата и площите на пиковете на

вътрешния стандарт. На графиката тези отношения се нанасят по абсцисата, а по
ординатата се нанасят отношенията на съответните маси.
6.3.3. По същия начин се процедира и за етил 4-хидроксибензоата.

7. Изчисления

7.1. От стандартната крива, получена съгласно т. 6.3, се отчитат съотношенията на масите (RP_1, RP_2), съответстващи на отношенията между площите на пиковете, изчислени в т. 6.2.3,

където:

RP_1 е масата на α-моноглицерил 4-аминобензоат към масата на етил 4-хидроксибезоата в g;

RP_2 – масата на етил 4-аминобензоата към масата на етил 4-хидроксибензоата в
g.

7.2. От получените отношения на масите се изчислява съдържанието на α-моноглицерил 4-аминобензоат и етил 4-аминобензоат, изразено в % (M/M), съгласно формулите:

$$\text{Rp \% (M/M) α-моноглицерил 4-аминобензоат} = RP_1 \times \frac{M'}{6M};$$

$$\text{Rp \% (M/M) етил 4-аминобензоат} = RP_2 \times \frac{M'}{6M},$$

където:

M' е количеството на етил 4-хидроксибензоат (вътрешен стандарт), т. 4.12
в g;
M – количеството на пробата (т. 6.1.1) в g.

8. Повторяемост *

За съдържание на α-моноглицерил 4-аминобензоат от 5 % (M/M) разликата между резултатите от две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да превишава по абсолютна стойност 0,25 % (M/M).

За съдържание на етил 4-аминобензоат от 1 % (M/M) разликата между резултатите
от две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да
превишава по абсолютна стойност 0,1 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

9. Забележки

9.1. Преди провеждане на анализите се проверява дали пробата съдържа вещества, които се застъпват с пика на вътрешния стандарт (етил 4-хидроксибензоат) на хроматограмата.

9.2. За да се провери отсъствието на всякакво застъпване, определянето се повтаря при променено относително съотношение на метанола в подвижната фаза с
10 %.

XXV. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЛОРБУТАНОЛ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на хлорбутанол (INN) до максимална концентрация от 0,5 % (M/M) във всички козметични продукти с изключение на
аерозолите.
2. Дефиниция

Съдържанието на хлорбутанол, определено по този метод, се изразява в % (M/M)
на пробата.

3. Принцип

След подходяща обработка на продукта, който ще се анализира, определянето се
провежда с газова хроматография, като се използва 2,2,2-трихлоретанол за вътрешен стандарт.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография".

4.1. Хлорбутанол (1,1,1-трихлор-2-метилпропан-2-ол).

4.2. 2,2,2-трихлоретанол.

4.3. Абсолютен етанол.

4.4. Стандартен разтвор на хлорбутанол: 0,025 g в 100 cm^3 (ml) етанол (т. 4.3) (M/V).

4.5. Стандартен разтвор на 2,2,2-трихлоретанол: 4 mg в 100 cm^3 (ml) етанол (т. 4.3) (M/V).
5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Газ хроматограф с електронулавящ детектор, Ni^{63}.

6. Процедура

6.1. Приготвяне на пробата

Претеглят се между 0,1 и 0,3 g от пробата с точност 0,001 g (M). Поставят се в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Разтваря се в етанол (т. 4.3), прибавя се 1 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешен стандарт (т. 4.5) и се долива до марката с етанол (т. 4.3).

6.2. Газ хроматографски условия

6.2.1. Работните условия трябва да дават разделяне R ≥ 1,5.

$$R = 2\frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2} ,$$

където:

R_1 и R_2 са времената на задържане на пиковете в min;
W_1 и W_2 – широчините на пиковете при половината на височината им в mm;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

6.2.2. Като пример следните работни условия дават желаното разделяне:

Колона	I	II
Материал	стъкло	неръждаема стомана
Дължина	1,80 m	3 m
Диаметър	3 mm	3 mm
Стационарна фаза	10 % Carbowax 20M TPA върху gaschrom Q 80 – 100 mesh	5 % OV 17 върху Chromosorb WAW DMCS 80 – 100 mesh
Кондициониране	2 до 3 дни при 190 °C	
Температура:		
– инжектор	200 °C	150 °C
– колона	150 °C	100 °C
– детектор	200 °C	150 °C
Газ носител	азот	аргон/метан = 95:5 (V/V)
Скорост на потока	35 cm^3 (ml)/min	35 cm^3 (ml)/min

6.3. Стандартна крива

В пет мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставя по 1 cm^3 (ml) от стандартния
разтвор (т. 4.5) и съответно 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 и 0,6 cm^3 (ml) от разтвор по т. 4.4, доливат се до марката с етанол (т. 4.3) и се разбъркват. В хроматографа се инжектира по 1 µl от всеки от тези разтвори съобразно работните условия, описани в т. 6.2.2, и се построява стандартна крива, като на абцисата се нанася отношението на масата на хлорбутанола към масата на 2,2,2-трихлоретанола, а на ординатата – отношението между съответните площи
на пиковете.

6.4. Инжектира се 1 µl от разтвора, получен в т. 6.1, и се процедира съгласно условията, описани в т. 6.2.2.

7. Изчисления

7.1. От стандартната крива (т. 6.3) се отчита количеството "a" на хлорбутанола в разтвор т. 6.1, изразено в µg.

7.2. Съдържанието на хлорбутанол в пробата се изчислява съгласно формулата:

$$\%\ \text{хлорбутанол (M/M)} = \frac{a \times 10^2}{M \times 10^6} = \frac{a}{M \times 10^4}\ .$$

8. Повторяемост *

За съдържание на хлорбутанол от 0,5 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една съща проба, не трябва да превишава по абсолютна стойност 0,01 % (M/M).

Забележка. Ако резултатът е равен или надвишава максимално допустимата концентрация, е необходимо да се провери за отсъствие на пречещи вещества.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXVI. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХИНИН

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за откриване на хинин в шампоани и лосиони за коса.

2. Принцип

Идентификацията се извършва чрез тънкослойна хроматография върху силикагел.
Хининът се доказва чрез неговата синя флуоресценция в кисела среда при 360
nm.

За допълнително потвърждение може да се използва изчезването на флуоресценцията при насищане с бромни пари. При насищане на същата плака с
амонячни пари петната се появяват повторно с жълтеникава флуоресценция.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Плаки със силикагел без флуоресцентен индикатор, дебелина на слоя 0,25
mm, 20 x 20 cm.

3.2. Подвижна фаза: толуен : диетилов етер : дихлорметан : диетиламин = 20:20:20:8 (V/V/V/V).
3.3. Метанол.

3.4. Сярна киселина, 96 % (d_4^{20} = 1,84).

3.5. Диетилов етер.

3.6. Реактив за проявяване на петната: внимателно се добавят 5 cm^3 (ml) сярна
киселина (т. 3.4) към 95 cm^3 (ml) диетилов етер в охладен съд.

3.7. Бром.

3.8. Разтвор на амониев хидроксид, 28 % (d_4^{20} = 0,90).

3.9. Хинин, безводен.

3.10. Стандартен разтвор: претеглят се около 0,1 g безводен хинин (т. 3.9) с точност 0,001 g и се разтварят в мерителна колба до 100 cm^3 (ml) с метанол (т. 3.3).

4. Апаратура

4.1. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

4.2. Ултразвукова вана.
4.3. Филтър millipore, FH 0,5 µ1m или еквивалентен, с подходящо оборудване

за
филтруване.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претегля точно такова количество от пробата, което да съдържа около 100 mg хинин, разтваря се и се долива до марката с метанол (т. 3.3).

Колбата се запушва и се поставя за 1 h в ултразвуковата вана (т. 4.2) при стайна температура. Филтрува се (т. 4.3) и филтратът се използва за хроматография.

5.2. Тънкослойна хроматография

Върху плака със силикагел (т. 3.1) се нанасят 1,0 µl от стандартния разтвор (т. 3.10) и 1,0 µl от разтвора на пробата (т. 5.1). Хроматограмата се развива, докато фронтът на разтворителите достигне 15 cm, като се използва подвижна фаза (т. 3.2) в предварително наситена вана.

5.3. Проявяване на петната

5.3.1. Плаката се изсушава на стайна температура.

5.3.2. Напръсква се с реактив по т. 3.6.

5.3.3. Плаката се оставя да изсъхне 1 h при стайна температура.
5.3.4. Наблюдава се на УВ светлина с дължина на вълната 360 nm. Хининът се
вижда като петно с интензивна синя флуоресценция.

Като пример на таблицата по-долу са дадени Rf стойностите в същата подвижна
фаза на главните алкалоиди, свързани с хинина:

Алкалоид	R_f
Хинин	0,20
Хинидин	0,29
Цинхонин	0,33
Цинхонидин	0,27
Хидрохонидин	0,17

5.3.5. За допълнително потвърждение на присъствието на хинин плаката се насища около 1 h с бромни пари (т. 3.7). Флуоресценцията изчезва. Когато същата плака се насити с амонячни пари (т. 3.8), петната отново се появяват с кафяв цвят и когато плаката отново се разгледа на УВ светлина при 360 nm,

може да се наблюдава жълтеникава флуоресценция.

Откриваем минимум: 0,1 μg хинин.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определянето на хинин. Може да бъде използван за определяне на максимално допустимата концентрация от 0,5 % (M/M) в шампоани и
0,2 % в лосиони за коса.

2. Дефиниция

Съдържанието на хинин, определено по този метод, се изразява в % (M/M) на
продукта.

3. Принцип

След подходяща обработка на продукта, който ще се анализира, определянето се
извършва чрез високоефективна течна хроматография (ВЕТХ).

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.
4.1. Ацетонитрил.

4.2. Калиев дихидрогенортофосфат (KH_2PO_4).

4.3. Ортофосфорна киселина, 85 % (d_4^{20}=1,7).

4.4. Тетраметиламониев бромид.

4.5. Хинин, безводен.

4.6. Метанол.

4.7. Разтвор на ортофосфорна киселина, 0,1 M: претеглят се 11,53 g ортофосфорна киселина (т. 4.3) и се разтварят в 1000 cm^3 (ml) вода в мерителна колба.

4.8. Разтвор на калиев дихидрогенортофосфат, 0,1 M: претеглят се 13,6 g калиев дихидрогенортофосфат (т. 4.2) и се разтварят в 1000 cm^3 (ml) вода в мерителна колба.

4.9. Разтвор на тетраметиламониев бромид: разтварят се 15,40 g тетраметиламониев бромид (т. 4.4) в 1000 cm^3 (ml) вода в мерителна колба.

4.10. Подвижна фаза: ортофосфорна киселина (т. 4.7) : калиев дихидрогенортофосфат (т. 4.8) : тетраметиламониев бромид (т. 4.9) : вода : ацетонитрил (т. 4.1) = 10:50:100:340:90 (V/V/V/V/V).

Съставът на подвижната фаза може да бъде променен, така че да се постигне разделяне R ≥ 1,5.

$$R = 2\frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2},$$

където:

R_1 и R_2 са времената на задържане на пиковете в min;

W_1 и W_2 – широчините на пиковете при половината на височините им в mm;

d' – скоростта на хартията в mm/min.

4.11. Силикагел, обработен с октадецилсилан, 10 µ1m.

4.12. Стандартни разтвори: претеглят се около 0,005; 0,01; 0,015 и 0,02 g безводен хинин (т. 4.5) с точност 0,001g и се поставят съответно в мерителни колби от 100 cm^3 (ml). Долива се до марката с метанол (т. 4.6) и съдържанието
на колбите се разклаща до разтваряне на хинина. Всяка проба се филтрува през
0,5 µ1m филтър.

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Ултразвукова вана.

5.3. Течен хроматограф с УВ детектор с променлива дължина на вълната.
5.4. Колона: дължина – 25 cm, вътрешен диаметър – 4,6 mm, пълнеж – силикагел
(т. 4.11).

5.5. Филтър millipore, FH 0,5 µ1m или еквивалентен, с подходящо оборудване за
филтруване.

6. Процедура

6.1. Приготвяне на пробата

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претегля проба с точност 0,001 g, която съдържа около 0,01 g безводен хинин. Прибавят се 20 cm^3 (ml) метанол и колбата се поставя в ултразвукова вана (т. 5.2) за 20 min. Долива се до марката с метанол (т. 4.6). Разтворът се разбърква и след това се филтрува (т. 5.5).

6.2. Хроматографиране

Скорост на потока: 1,0 cm^3 (ml)/min.

Дължина на вълната на детектора (т. 5.3): 332 nm.

Обем на дозиране: 10 µl филтруван разтвор (т. 6.1).

Измерване: площ на пика.

6.3. Стандартна крива
Най-малко три пъти се дозират 10 µl от всеки стандартен разтвор (т. 4.12), измерва се площта на пиковете и се изчислява средната площ за всяка концентрация.

Построява се стандартната крива и се проверява нейната линейност.

7. Изчисления

7.1. От стандартната крива (т. 6.3) се определя количеството в µg на безводен хинин, присъстващ в дозирания обем (т. 6.2).

7.2. Концентрацията на безводен хинин в пробата, изразена като % (M/M), се получава по следната формула:

$$\%\,(M/M)\ безводен\ хинин = \frac{B}{M},$$

където:

B е количеството безводен хинин, определено в 10 µl филтруван разтвор (т. 6.1) в µg;

M – масата на пробата (т. 6.1) в g.

8. Повторяемост *

За съдържание на безводен хинин от 0,5 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да превишава 0,02 % (M/M).

За съдържание на безводен хинин от 0,2 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да превишава 0,01 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXVII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НЕОРГАНИЧНИ СУЛФИТИ И ХИДРОГЕНСУЛФИТИ

ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Методът се отнася за идентификация и определяне на неорганични сулфити и
хидрогенсулфити в козметични продукти. Той е приложим само за продукти, които
имат водна или алкохолна фаза, и за концентрации до 0,2 % серен диоксид.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Принцип

Пробата се нагрява в солна киселина и отделеният серен диоксид се идентифицира или по неговия мирис, или по действието му върху индикаторна
хартия.

2. Реактиви

Всички реактиви са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

2.1. Солна киселина, 4 M.
2.2. Индикаторна хартия с калиев йодат и скорбяла или друга подходяща.

3. Апаратура

3.1. Стандартно лабораторно оборудване.

3.2. Колба от 25 cm^3 (ml), снабдена с къс обратен хладник.

4. Процедура

4.1. Около 2,5 g от пробата се поставят в колба (т. 3.2) с 10 cm^3 (ml) солна киселина (т. 2.1).

4.2. Разбърква се и се нагрява до кипене.

4.3. Изпитва се за отделяне на серен диоксид или по миризмата, или с

индикаторна хартия (т. 2.2).

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Дефиниция

Съдържанието на сулфити или хидрогенсулфити в пробата, определени по този
метод, се изразява в % (M/M) като серен диоксид.
2. Принцип

Отделеният серен диоксид след подкисляване на пробата се дестилира в разтвор
на водороден пероксид. Образуваната сярна киселина се титрува със стандартен
разтвор на натриев хидроксид.

3. Реактиви

Всички реактиви са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Водороден пероксид, 0,2 % (M/V). Приготвя се непосредствено преди анализа.

3.2. Ортофосфорна киселина (d_4^{25} = 1,75).

3.3. Метанол.

3.4. Натриев хидроксид, 0,01 M стандартен разтвор.

3.5. Азот.

3.6. Индикатор: смес 1:1 (V/V) от метилово червено, 0,03 % (M/V) в етанол и метиленово синьо, 0,05 % (M/V) в етанол. Разтворът се филтрува.

4. Апаратура
4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Дестилационна апаратура (виж фигурата).

5. Процедура

5.1. Претегля се около 2,5 g от пробата с точност 0,001g в дестилационната колба A (виж фигурата).

5.2. Прибавят се 60 cm^3 (ml) вода и 50 cm^3 (ml) метанол (т. 3.3) и се разбърква.

5.3. В дестилационния приемник D (виж фигурата) се поставят 10 cm^3 (ml) водороден пероксид (т. 3.1), 60 cm^3 (ml) вода и няколко капки индикатор (т. 3.6). Прибавят се няколко капки натриев хидроксид (т. 3.4), докато индикаторът промени цвета си в зелен.

5.4. За промивния съд E (виж фигурата) се повтаря процедурата по т. 5.3.

5.5. Апаратурата се сглобява и се нагласява потокът от азот (т. 3.5) на около 60 мехурчета в min.

5.6. Посредством фунията в дестилационната колба A се прибавят 15 cm^3 (ml)
ортофосфорна киселина (т. 3.2).

5.7. Нагрява се бързо до кипене и след това се поддържа слабо кипене за общо
30 min.

5.8. Отделя се дестилационният приемник D. Тръбата се промива и след това се
титрува с разтвор на натриев хидроксид (т. 3.4) до промяна на индикатора (т. 3.6) в зелено.

6. Изчисления

Съдържанието на сулфит или хидрогенсулфит се изчислява като % (M/M) в пробата
чрез израза:

$$\%(M/M)\,серен\ диоксид = \frac{3{,}2\,M'\,V}{M},$$

където:

M' е моларната концентрация на разтвора на натриевия хидроксид (т. 3.4);

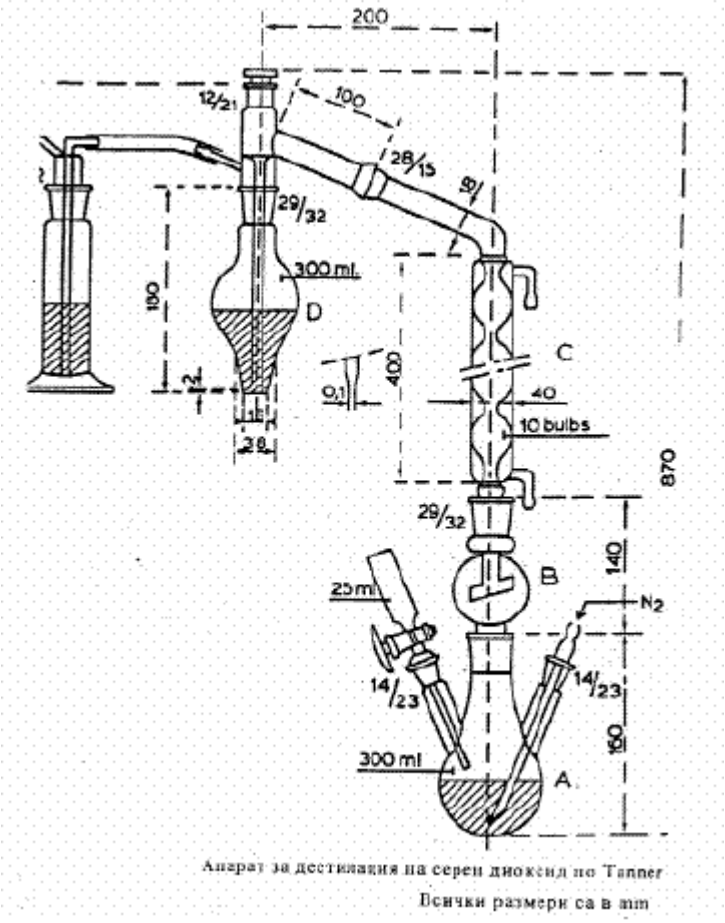
V – обемът на натриевия хидроксид (т. 3.4), използван при титруването (т. 5.8) в cm^3 (ml);

M – масата на пробата (т. 5.1) в g.

7. Повторяемост*

За съдържание на серен диоксид от 0,2 % (M/M), разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една съща проба, не трябва да превишава 0,006 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.



XXVIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЛОРАТИ НА АЛКАЛНИ МЕТАЛИ

ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Методът се отнася за идентификация и определяне на хлорати в пасти за зъби и
други козметични продукти.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Принцип

Хлоратите се отделят от другите халогенати чрез тънкослойна хроматография и
се идентифицират чрез окисление на йодид до йод.

2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

2.1. Стандартни разтвори: водни разтвори на калиев хлорат, бромат и йодат, 0,2 % (M/V), приготвени непосредствено преди употреба.

2.2. Подвижна фаза: разтвор на амоняк, 28 % (M/V) : ацетон : бутанол = 60:130:30 (V/V/V).

2.3. Калиев йодид, воден разтвор, 5 % (M/V).
2.4. Разтвор на скорбяла, 1 до 5 % (M/V).

2.5. Солна киселина, 1 M.

2.6. Готови плаки за тънкослойна хроматография със слой целулоза 0,25 mm.

3. Апаратура

Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

4. Процедура

4.1. Около 1 g от пробата се екстрахира с вода, филтрува се и се разрежда до около 25 cm^3 (ml).

4.2. Върху плаката (т. 2.6) се нанасят 2 µl от разтвор (т. 4.1) и по 2 µl от стандартните разтвори (т. 2.1).

4.3. Плаката се поставя в хроматографската вана и се развива възходящо до 3/4
от височината на плаката (т. 2.6) с подвижната фаза по т. 2.2.

4.4. Плаката се изважда от ваната и се оставя да се изпари разтворителят. (Забележка. Това може да отнеме до 2 h.)

4.5. Плаката се напръсква с калиев йодид (т. 2.3) и се оставя да се изсуши за около 5 min.
4.6. Плаката се напръсква с разтвор на скорбяла (т. 2.4) и се оставя да се изсуши за около 5 min.

4.7. Плаката се напръсква със солна киселина (т. 2.5).

5. Оценка на хроматограмата

Ако присъства хлорат, се наблюдава синьо петно (възможно е петното да бъде
кафяво), което се появява след 30 min с Rf стойност приблизително 0,7 – 0,8.

Халогенати	Rf
Йодат	0 до 0,2
Бромат	0,5 до 0,6

Хлорат	0,7 до 0,8

Трябва да се отбележи, че броматите и йодатите реагират веднага.

Да се внимава да не се объркат петната на броматите и хлоратите.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Дефиниция

Съдържанието на хлорат, определено по този метод, се изразява като % (M/M)
хлорат.

2. Принцип

Хлоратът се редуцира с цинков прах в кисела среда. Образуваният хлорид се измерва чрез потенциометрично титруване с разтвор на сребърен нитрат. Такова
определяне, извършено преди редукцията, дава възможност да се установи възможно присъствие на халогениди.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Оцетна киселина, 80 % (M/M).

3.2. Цинков прах.
3.3. Стандартен разтвор 0,1 M.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Потенциометър, снабден със сребърен индикаторен електрод.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

Претегля се около 2 g от пробата с точност 0,001 g (M) в центрофужна епруветка. Прибавят се около 15 cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 3.1) и внимателно се разбърква. Изчакват се 30 min и се центрофугира 15 min при 2000
rpm. Бистрият филтрат се прехвърля в мерителна колба от 50 cm^3 (ml). Центрофугирането се повтаря още два пъти, като към остатъка се прибавят по 15

cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 3.1). Разтворите, съдържащи хлората, се събират в същата мерителна колба. Долива се до марката с оцетна киселина (т. 3.1).

5.2. Редуциране на хлоратите

Вземат се 20 cm^3 (ml) от разтвор 5 l и се прибавя 0,6 g цинков прах (т. 3.2). Сместа се довежда до кипене в колба, снабдена с обратен хладник. Кипи се в продължение на 30 min, охлажда се и се филтрува. Колбата се изплаква с вода.
Промивните води след филтруване се прибавят към първия филтрат.

5.3. Определяне на хлориди

20 cm^3 (ml) от разтвор по т. 5.2 се титрува със сребърен нитрат (т. 3.3), като се използва потенциометър (т. 4.2). По същия начин се титруват 20 cm^3 (ml) от разтвор по т. 5.1 със сребърен нитрат (т. 3.3).
Забележка. Ако продуктът съдържа бромни или йодни производни, които могат да
дадат бромиди и йодиди при редукцията, кривата на титруване ще има няколко
инфлексни точки. В такъв случай обемът на титруващия разтвор (т. 3.3), съответстващ на хлоридите, се получава като разлика между предпоследната и
последната инфлексна точка.

6. Изчисления

Съдържанието на хлорати в пробата % (M/M) се изчислява по формулата:

$$Хлорат\ (ClO_3^-)\ \%M/M = \frac{20{,}9\ (V - V')\ M'}{M},$$

където:

V е обемът на разтвора на сребърен нитрат (т. 3.3), използван за титруване на разтвор по т. 5.2 в cm^3 (ml);

V' – обемът на разтвора на сребърен нитрат (т. 3.3), използван за титруване на разтвор по т. 5.1 в cm^3 (ml);

M' – моларността на стандартния разтвор на сребърен нитрат (т. 3.3);

M – масата на пробата в g.

7. Повторяемост *

За съдържание на хлорат от 3 до 5 % разликата между резултатите от две

успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да превишава
0,07 % (M/M).
**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXIX. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА НАТРИЕВ ЙОДАТ. ОБЛАСТ НА ПРИЛОЖЕНИЕ

Методът се отнася за идентификация и определяне на натриев йодат в козметични
продукти.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Принцип

Натриевият йодат се отделя от другите халогенати чрез тънкослойна хроматография и се идентифицира чрез окисление на йодид до йод.

2. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

2.1. Стандартни разтвори: водни разтвори на калиев хлорат, бромат и йодат, 0,2 % (M/V), приготвени непосредствено преди употреба.

2.2. Подвижна фаза: разтвор на амоняк, 28 % (M/V) : ацетон : бутанол = 60:130:30 (V/V/V).

2.3. Калиев йодид, 5 % (M/V).
2.4. Разтвор на скорбяла, 1 до 5 % (M/V).

2.5. Солна киселина, 1 M.

3. Апаратура

3.1. Готови плаки за тънкослойна хроматография със слой целулоза 0,25 mm.

3.2. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

4. Процедура

4.1. Около 1 g от пробата се екстрахира с вода, филтрува се и се разрежда до около 10 cm^3 (ml).

4.2. На стартовата линия върху плаката се нанасят 2 µl от този разтвор и по 2 µl от всеки от трите стандартни разтвора (т. 2.1).

4.3. Плаката се поставя в хроматографската вана и се развива възходящо до 3/4
от височината на плаката с подвижната фаза (т. 2.2).

4.4. Плаката се изважда от ваната и се оставя да се изпари разтворителят при стайна температура. (Забележка. Това може да отнеме до 2 h.)

4.5. Плаката се напръсква с калиев йодид (т. 2.3) и се оставя да се изсуши за около 5 min.
4.6. Плаката се напръсква с разтвор на скорбяла (т. 2.4) и се оставя да изсъхне за около 5 min.

4.7. Накрая се напръсква със солна киселина (т. 2.5).

5. Оценка на хроматограмата

При наличие на йодат се наблюдава синьо петно (цветът може да бъде кафяв или
да стане кафяв при престояване) с Rf стойност приблизително от 0 до 0,2.

Трябва да се отбележи, че броматите дават веднага положителна реакция при Rf
приблизително от 0,5 до 0,6, а хлоратите – след около 30 min при Rf от 0,7 до 0,8.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Дефиниция

Съдържанието на натриев йодат, определено по този метод, се изразява като %
(M/M) натриев йодат.

2. Принцип

Натриевият йодат се разтваря във вода и се определя чрез високоефективна течна хроматография с използване на последователно свързани колони с C_{18} обърната фаза и анионобменна колона.

3. Реактиви
Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.

3.1. Солна киселина, 4 M.

3.2. Натриев сулфит, 5 % (M/V).

3.3. Основен разтвор на натриев йодат.

Приготвя се основен разтвор, който съдържа 50 mg натриев йодат в 100 cm^3 (ml)
вода.

3.4. Калиев дихидрогенортофосфат.

3.5. Динатриев хидрогенортофосфат.$2H_2O$.

3.6. Подвижна фаза за ВЕТХ: разтварят се 3,88 g калиев дихидрогенортофосфат
(т. 3.4) и 1,19 g динатриев хидрогенортофосфат. 2H2O (т. 3.5) в 1dm^3 (l)
вода. pH на получения разтвор трябва да бъде 6,2.

3.7. Хартиен универсален индикатор, pH 1-11.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.
4.2. Кръгове филтърна хартия с диаметър 11 cm, Schleicher and Schull № 575 или еквивалентна.

4.3. Високоефективен течен хроматограф с детектор с променлива дължина на
вълната.

4.4. Колони: дължина – 12 cm, вътрешен диаметър – 4,6 mm, брой – две, свързани последователно; първа колона – NucleosilR [5] C18 или еквивалентна; втора колона – Vydac™ 301-SB или еквивалентна.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

5.1.1. Течни проби (шампоани)

Претегля се около 1 g от пробата за изпитване с точност 0,001g в стъклена градуирана епруветка със запушалка или в мерителна колба от 10 cm^3 (ml). Долива се до марката с вода и се разбърква. Ако е необходимо, разтворът се филтрува.

Определя се съдържанието на йодат в разтвора чрез ВЕТХ, по начина, описан в
т. 5.2.

5.1.2. Твърди проби (сапуни)

Внимателно се отделя част от пробата и се претегля около 1,0 g с точност 0,001 g в стъклен мерителен цилиндър от 100 cm^3 (ml) със запушалка. Напълва

се до 50 cm^3 (ml) с вода и се разбърква енергично в продължение на една min.
Центрофугира се и се филтрува през филтърна хартия (т. 4.2) или сместа се оставя да престои една нощ.

Желеобразният разтвор се разклаща енергично и се филтрува през филтърна хартия (т. 4.2).
Определя се съдържанието на йодат в разтвора чрез ВЕТХ по начина, описан в т. 5.2.

5.2. Хроматография

Скорост на потока – 1 cm^3 (ml)/min.

Дължина на вълната на детектора (т. 4.3) – 210 nm.

Обем за дозиране – 10 µ1l.

Измерване – площ на пика.

5.3. Стандартна крива

В мерителни колби от 50 cm^3 (ml) се поставят с пипета съответно 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 и 20,0 cm^3 (ml) от основния разтвор на натриев йодат (т. 3.3).
Доливат се до марката и се разбъркват. Така получените разтвори съдържат съответно 0,01; 0,02; 0,05; 0,10 и 0,20 mg/cm^3 (ml) натриев йодат.

В течния хроматограф (т. 4.3) се дозират по 10 µl от всеки стандартен разтвор на йодат и се получава хроматограма. Определя се площта на пика на йодата и
се построява стандартна крива от площите на пиковете спрямо концентрациите на
натриевия йодат.

6. Изчисления

Съдържанието на натриев йодат в % (M/M) се изчислява по формулата:

$$\%(M/M)\,\text{натриев йодат} = \frac{V \times c}{10M},$$

където:

M е масата на пробата в g;

V – общият обем на пробата, получен съгласно т. 5.2 в cm^3 (ml);

c – концентрацията на натриевия йодат, отчетена от стандартната крива (т.

5.3) в mg/cm^3 (ml).

7. Повторяемост *

За съдържание на натриев йодат от 0,1 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да превишава 0,002 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Потвърждаване

8.1. Принцип

В подкислен разтвор на козметичния продукт йодатът ($IO3^-$) се редуцира до йодид (I^-) със сулфит и полученият разтвор се изследва с ВЕТХ. Ако пикът, който има време на задържане, отговарящо на времето на задържане на йодата,
изчезне след третиране със сулфит, то твърде вероятно е оригиналният пик да
се дължи на йодат.
8.2. Процедура

От разтвора на пробата, получен, както е описано в т. 5.1, се вземат с пипета 5 cm^3 (ml) и се поставят в конична колба.

pH на разтвора се довежда до стойност 3 или по-ниска със солна киселина (т. 3.1); използва се хартиен универсален индикатор (т. 3.7).

Прибавят се 3 капки разтвор на натриев сулфит (т. 3.2) и се разбърква.

Дозират се 10 µl от получения разтвор в течния хроматограф (т. 4.3).

Сравнява се тази хроматограма с хроматограмата, получена, както е описано в
т. 5 за същата проба.

XXX. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СРЕБЪРЕН НИТРАТ В КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентификацията на сребърен нитрат като сребро във водни
козметични продукти.

2. Принцип
Среброто се идентифицира като характерна бяла утайка, образувана с хлорни йони.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Солна киселина, 2 М.

3.2. Амоняк: концентриран разтвор на амониев хидроксид (d_{20} = 0,88 g/cm^3 (ml)
се разрежда с равен обем вода и се разбърква.

3.3. Азотна киселина, 2 М.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Центрофуга.

5. Процедура

5.1. Към около 1 g от пробата в центрофужна епруветка се добавя на капки 2 М
разтвор на солна киселина (т. 3.1) до пълно утаяване; разбърква се и се центрофугира.
5.2. Отстранява се бистрият разтвор и утайката се промива еднократно с пет капки студена вода. Промивната вода се изхвърля.

5.3. В центрофужната епруветка се добавя количество вода, равно на обема на
утайката. Нагрява се до кипене при разбъркване.

5.4. Горещата смес се центрофугира; отстранява се бистрият разтвор.

5.5. Към утайката се прибавят няколко капки амонячен разтвор (т. 3.2); разбърква се и се центрофугира.

5.6. Една капка от бистрия разтвор се поставя върху стъклена плочка и към нея
се прибавят няколко капки азотна киселина (т. 3.3).

5.7. Бяла утайка показва наличието на сребро.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Този метод се отнася за определяне на сребърен нитрат като сребро в козметични продукти, предназначени за оцветяване на мигли и вежди.

2. Принцип

Среброто в продукта се определя чрез атомноабсорбционна спектрометрия.
3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – бидестилирана.

3.1. Азотна киселина, 0,02 M.

3.2. Стандартни разтвори на сребро.

3.2.1. Основен стандартен разтвор на сребро, 1000 μg/cm^3 (ml) в 0,5 M разтвор
на азотна киселина (Spectrosol или еквивалентен).

3.2.2. Работен стандартен разтвор на сребро, 100 μg/cm^3 (ml); с пипета се прехвърлят 10 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на сребро (т. 3.2.1) в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Долива се до марката с 0,02 M разтвор на азотна киселина (т. 3.1) и се разбърква. Този стандартен разтвор трябва да е приготвен непосредствено преди употреба и да се съхранява в бутилка от тъмно
стъкло.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Атомноабсорбционен спектрометър със сребърна лампа (кухокатодна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата
Претегля се около 0,1 g (M) с точност 0,001 g от хомогенна проба на продукта.
Прехвърля се количествено в мерителна колба от 1 dm^3 (l) и се долива до марката с 0,02 M разтвор на азотна киселина (т. 3.1) и се разбърква.

5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия

Пламък – въздух/ацетилен

Дължина на вълната – 338,3 nm

Процеп – 0,7 nm

Корекция на фона – не

Условия на горене – окислителен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и подаването на газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставят с пипета 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 cm^3 (ml) от работния стандартен разтвор на сребро (т. 3.2.2). Всяка колба се долива до марката с 0,02 M разтвор на азотна киселина (т. 3.1) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 $\mu g/cm^3$ (ml) сребро.

5.3.2. Измерва се абсорбцията на 0,02 M разтвор на азотна киселина (т. 3.1) и тази стойност се използва като нулева концентрация на сребро за стандартната
крива. Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на сребро (т. 5.3.1). Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на сребро.

5.4. Определяне.
Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1). От стандартната крива се отчита концентрацията на сребро, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора
на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на сребърен нитрат в пробата се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%(M/M)\,\text{сребърен нитрат} = \frac{1{,}5748 \times c}{10 \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 5.1) в g;

c – концентрацията на сребро в разтвора на пробата (т. 5.1), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml).

8. Повторяемост*

За съдържание на сребърен нитрат 4 % (M/M) разликата между резултатите

от две
успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да надвишава
0,05 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXXI. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА СЕЛЕНОВ ДИСУЛФИД В ПРОТИВОПЪРХОТНИ
ШАМПОАНИ
А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентифицикацията на селенов дисулфид като селен в противопърхотни шампоани.

2. Принцип

Селенът се идентифицира като характерно жълто оцветяване, което се получава
при реакция с карбамид и калиев йодид.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Азотна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,42 g/cm^3 (ml).

3.2. Карбамид.

3.3. Калиев йодид, 10 % (M/V): разтварят се 10 g калиев йодид в 100 cm^3 (ml) вода.

4. Апаратура
4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Епруветка за разлагане, обем 100 cm^3 (ml).

4.3. Нагревателен блок за разлагане.

4.4. Филтърна хартия (Whatman № 42 или еквивалентна) или мембранен филтър
0,45 µ1m.

5. Процедура

5.1. Към около 1 g от шампоана, поставен в епруветка (т. 4.2), се прибавят

2,5 cm^3 (ml) концентрирана азотна киселина (т. 3.1) и се разлагат в блока (т. 4.3) при температура 150 °C в продължение на 30 min.

5.2. Разложената проба се разрежда до 25 cm^3 (ml) с вода и се филтрува през филтърна хартия или мембранен филтър (т. 4.4).

5.3. Към 2,5 cm^3 (ml) от филтрата се прибавя 1 cm^3 (ml) вода, 2,5 g карбамид и се кипи. Охлажда се и се прибавя 1 cm^3 (ml) разтвор на калиев йодид (т. 3.3).

5.4. Жълто до оранжево оцветяване, което бързо потъмнява при престояване, показва наличието на селен.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение
Този метод е подходящ за определяне на селенов дисулфид като селен в противопърхотни шампоани, съдържащи до 4,5 % (M/M) селенов дисулфид.

2. Принцип

Пробата се разлага с азотна киселина и селенът се определя чрез атомноабсорбционна спектометрия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – бидестилирана.

3.1. Азотна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,42 g/cm^3 (ml).

3.2. Азотна киселина, 5 % (V/V) : 50 cm^3 (ml) концентрирана азотна киселина се прибавят към 500 cm^3 (ml) вода в стъклена чаша при непрекъснато разбъркване. Този разтвор се прехвърля в мерителна колба от 1 dm^3 (l) и се долива до марката с вода.

3.3. Основен стандартен разтвор на селен, 1000 µg/cm^3 (ml) в 0,5 M азотна киселина (Spectrosol или еквивалентна).

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Епруветка за разлагане, обем 100 cm^3 (ml).
4.3. Нагревателен блок за разлагане.

4.4. Филтърна хартия (Whatman № 42 или еквивалентна) или мембранен филтър
0,45 µ1m.

4.5. Атомноабсорбционен спектрометър със селенова лампа (безелектродна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

5.1.1. Претегля се около 0,2 g (M) с точност 0,001 g от хомогенна проба на продукта в епруветката (т. 4.2).

5.1.2. Прибавят се 5 cm^3 (ml) концентрирана азотна киселина (т. 3.1) и се разлага в блока (т. 4.3) при температура 150 °C в продължение на 1 h.

5.1.3. Разтворът се оставя да се охлади и се прибавят 100 cm^3 (ml) вода. Филтрува се през филтърна хартия или през мембранен филтър 0,45 µ1m (т. 4.4) и
филтрираният разтвор се запазва за определянето.

5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия

Пламък – въздух/ацетилен

Дължина на вълната – 196,0 nm
Процеп – 0,7 nm.

Корекция на фона – да

Условия на горене – окислителен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставят с пипета 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на селен (т. 3.3). Всяка колба се долива до марката с 5 % (V/V) разтвор на азотна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 10; 20; 30; 40 и 50 µg/cm^3 (ml) селен.

5.3.2. Измерва се абсорбцията на 5 % (V/V) разтвор на азотна киселина (т. 3.2) и тази стойност се използва като нулева концентрация на селен за стандартната крива. Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на селен (т. 5.3.1). Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на селен.

5.4. Определяне.

Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1.3). От стандартната крива се отчита

концентрацията на селен, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора
на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на селенов дисулфид в пробата се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%\ (M/M)\ селенов\ дисулфид = \frac{1.812 \times c}{100 \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 5.1.1) в g;

c – концентрацията на селен в разтвора на пробата (т. 5.1.3), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml).

8. Повторяемост *

За съдържание на селенов дисулфид 1 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определения, извършени на една и съща проба, не трябва да надвишава 0,05 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXXII. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РАЗТВОРИМИ БАРИЙ И СТРОНЦИЙ В ТВЪРДИ И ТЕЧНИ ПИГМЕНТИ

А. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РАЗТВОРИМ БАРИЙ

1. Област на приложение

Методът се отнася за извличане и определяне на разтворим барий от твърди и
течни пигменти.

2. Принцип
Пигментът се екстрахира с 0,07 M разтвор на солна киселина при определени
условия и количеството на бария в екстракта се определя чрез атомноабсорбционна спектрометрия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – бидестилирана.

3.1. Етанол, абсолютен.

3.2. Солна киселина, 0,07 M.

3.3. Солна киселина, 0,5 M.

3.4. Калиев хлорид, 8 % (M/V): 16 g калиев хлорид се разтварят в 200 cm^3 (ml)
0,07 M солна киселина (т. 3.2).

3.5. Стандартни разтвори на барий

3.5.1. Основен стандартен разтвор на барий: 1000 µg/cm^3 (ml) в 0,5 M азотна киселина (Spectrosol или равностоен).

3.5.2. Работен стандартен разтвор на барий, 200 µg/cm^3 (ml): в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се прехвърлят с пипета 20,0 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на барий (т. 3.5.1). Долива се до марката с 0,07 M разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.

4. Апаратура
4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. pH метър с точност ± 0,02 единици.

4.3. Клатачна машина за колби.

4.4. Мембранен филтър с големина на порите 0,45 µ1m.

4.5. Атомноабсорбционен спектрометър с бариева лампа (кухокатодна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

5.1.1. Претегля се около 0,5 g (M) с точност 0,001 g от пигмента в конична колба. За да се осигури достатъчен обем за ефективно разбъркване, не трябва да се използва колба с обем, по-малък от 150 cm^3 (ml).

5.1.2. С пипета се прибавя 1,0 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1) и колбата се разклаща с кръгови движения така, че да се получи пълно омокряне на пигмента. С бюрета
се прибавя такова точно количество 0,07 M солна киселина, че да се получи съотношение между обема на киселината и масата на пигмента точно 50 cm^3 (ml)/g. Нека общият обем на сместа, включително и етанола, е V cm^3 (ml). Съдържанието на колбата се разклаща 5 sec, за да се осигури пълно смесване на
компонентите.

5.1.3. Измерва се pH на получената суспензия с помощта на pH метър (т. 4.2) и
ако е над 1,5, се прибавя на капки 0,5 M солна киселина (т. 3.3) до pH в интервала 1,4 до 1,5.

5.1.4. Колбата се запушва и незабавно се поставя на клатачна машина (т. 4.3) за разклащане в продължение на 60 min. Клатачната машина трябва да работи с
достатъчна скорост, така че да се образува пяна. Филтрува се през мембранен
филтър с размер на порите 0,45 µ1m (т. 4.4) и филтратът се събира. Да не се центрофугира екстрактът преди филтруването. С пипета се прехвърлят 5 cm^3 (ml)
от филтрата в мерителна колба от 50 cm^3 (ml); обемът се довежда до марката с
0,07 M солна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Този разтвор се използва и за определянето на стронций (Част Б).
5.1.5. С пипета се прехвърлят 5,0 cm^3 (ml) разтвор на калиев хлорид (т. 3.4) в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) и аликвотно количество (WBa cm^3 (ml) от разредения филтрат (т. 5.1.4), така че да се получи предполагаема концентрация на барий между 3 и 10 µg/cm^3 (ml) (аликвотна част от 10 cm^3 (ml)
е добра отправна точка). Долива се до марката с 0,07 M солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.

5.1.6. Концентрацията на барий в разтвора (т. 5.1.5) се определя чрез атомноабсорбционна спектрометрия в деня на анализа.

5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия

Пламък – азотен оксид/ацетилен

Дължина на вълната – 553,5 nm

Процеп – 0,2 nm

Корекция на фона – не

Условия на горене – редукционен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставят с пипета 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 cm^3 (ml) от работния стандартен разтвор на барий (т. 3.5.2). Във всяка колба с пипета се прибавят 5,0 cm^3 (ml) разтвор на калиев хлорид (т. 3.4), обемът се долива до марката с 0,07 M солна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 и 10,0 µg/cm^3

(ml) барий.

По същия начин се приготвя празна проба, без да се слага стандартен разтвор
на барий.
5.3.2. Измерва се абсорбцията на празната проба (т. 5.3.1) и получената стойност се използва като нулева концентрация на барий за стандартната крива.
Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на барий (т. 5.3.1).
Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на барий.

5.4. Определяне

Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1.5). От стандартната крива се отчита
концентрацията на барий, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора
на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на разтворим барий в пигмента се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%\ (M/M)\ \textit{разтворим барий} = \frac{c \times V}{10 \times W_{Ba} \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 5.1.1) в g;

c – концентрацията на барий в разтвора на пробата (т. 5.1.5), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml);

V – общият обем на извлека (т. 5.1.2) в cm^3 (ml);

WBa – обемът на екстракта (взет в т. 5.1.5) в cm^3 (ml).
7. Повторяемост *

Най-добрата възможна повторяемост за този метод е 0,3 % при съдържание на
разтворим барий 2 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Забележки

8.1. При определени условия абсорбцията на бария може да бъде завишена от
присъствието на калций. Това може да бъде предотвратено чрез прибавяне на магнезиев йон с концентрация
5 g/dm^3 (l) ("Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry". Jerrow, m. et al., Analytical Proceedings, 1991, 28, 40).

8.2. Като алтернативен метод на пламъковата атомно-абсорбционна спектрометрия
се допуска атомноемисионна спектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-AES).

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА РАЗТВОРИМ СТРОНЦИЙ

1. Област на приложение

Този метод описва процедура за извличане и определяне на разтворим стронций
от твърди и течни пигменти.

2. Принцип

Пигментът се екстрахира с 0,07 М разтвор на солна киселина при определени
условия и количеството на стронция в екстракта се определя чрез атомноабсорбционна спектрометрия.
3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата бидестилирана.

3.1. Етанол, абсолютен.

3.2. Солна киселина, 0,07 М.

3.3. Калиев хлорид, 8 % (M/V): 16 g калиев хлорид се разтварят в 200 cm^3 (ml)
0,07 М разтвор на солна киселина (т. 3.2).

3.4. Стандартни разтвори на стронций

3.4.1. Основен стандартен разтвор на стронций: 1000 µg/cm^3 (ml) в 0,5 М разтвор на азотна киселина (Spectrosol или еквивалентен).

3.4.2. Работен стандартен разтвор на стронций, 100 µg/cm^3 (ml): в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се прехвърлят с пипета 10,0 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на стронций (т. 3.4.1). Долива се до марката с 0,07 М

разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Мембранен филтър с големина на порите 0,45 µ1m.
4.3. Атомно-абсорбционен спектрометър със стронциева лампа (кухокатодна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

Разтворът, получен в т. А.5.1.4, се използва за определянето на разтворим стронций.

5.1.1. В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) с пипета се прехвърлят 5,0 cm^3 (ml) разтвор на калиев хлорид (т. 3.3) и аликвотно количество (W_{Sr} cm^3 (ml) от разредения филтрат (т. А.5.1.4), така че да се получи предполагаема концентрация на стронций между 2 и 5 µg/cm^3 (ml) (аликвотна част от 25 cm^3 (ml) е добра отправна точка). Долива се до марката с 0,07 М разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.

5.1.2. Концентрацията на стронций в разтвора (т. 5.1.1) се определя чрез атомноабсорбционна спектрометрия същия ден.

5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия.

Пламък – азотен оксид/ацетилен

Дължина на вълната – 460,7 nm

Процеп – 0,2 nm

Корекция на фона – не
Условия на горене – редукционен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставят с пипета 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 cm^3 (ml) от работния стандартен разтвор на стронций (т. 3.4.2). Във всяка колба с пипета се прибавят 5,0 cm^3 (ml) разтвор на калиев хлорид (т. 3.3), обемът се долива до марката с 0,07 М разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 и 5,0 µg/cm^3 (ml) стронций. По същия начин се приготвя празна проба, без да се прибавя стандартен разтвор на стронций.

5.3.2. Измерва се абсорбцията на празната проба (т. 5.3.1) и получената стойност се използва като нулева концентрация на стронций за стандартната крива. Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на стронций (т. 5.3.1). Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на стронций.

5.4. Определяне

Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1.1). От стандартната крива се отчита
концентрацията на стронций, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на разтворим стронций в пигмента се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%(M/M)\ \textit{разтворим стронций} = \frac{c \times V}{10 \times W_{sr} \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. A.5.1.1) в g;
c – концентрацията на стронций в разтвора на пробата (т. 5.1.1), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml);

V – общият обем на извлека (т. A.5.1.2) в cm^3 (ml);

W_{Sr} – обемът на екстракта, взет в (т. B.5.1.1) в cm^3 (ml).

7. Повторяемост *

Най-добрата възможна повторяемост за този метод е 0,09 % при съдържание на
разтворим стронций 0,6 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Забележка

Като алтернативен метод на пламъковата атомноабсорбционна спектрометрия се
допуска атомноемисионна спектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-AES).

XXXIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА БЕНЗИЛОВ АЛКОХОЛ В КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение
Методът се отнася за идентификация на бензилов алкохол в козметични продукти.

2. Принцип

Бензиловият алкохол се идентифицира чрез тънкослойна хроматография на плаки
със силикагел.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.).

3.1. Бензилов алкохол.

3.2. Хлороформ.

3.3. Етанол, абсолютен.

3.4. n-Пентан.

3.5. Подвижна фаза: диетилов етер.

3.6. Стандартен разтвор на бензилов алкохол: в мерителна колба 100 cm^3 (ml) се претегля 0,1 g бензилов алкохол (т. 3.1) и се долива до марката с етанол (т. 3.3). Разбърква се.
3.7. Плаки за тънкослойна хроматография, стъклени, 10x20 cm или 20x20 cm, покрити със слой от силикагел 60 F_{254} с дебелина 0,25 mm.

3.8. Реактив за проявяване на петната: 12-молибденофосфорна киселина, 10 %
(M/V) в етанол (т. 3.3).

4. Апаратура

4.1. Стандартно оборудване за тънкослойна хроматография.

4.2. Хроматографска вана с две отделения, с размери приблизително 8x23x24 cm.

4.3. Хроматографска хартия Whatman или еквивалентна.

4.4. УВ лампа с дължина на вълната 254 nm.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

В мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претегля 1,0 g от продукта, който ще се анализира. Прибавят се 3 cm^3 (ml) хлороформ (т. 3.2) и се разклаща енергично
за диспергиране на продукта. Долива се до марката с етанол (т. 3.3) и се разклаща енергично до получаване на бистър или почти бистър разтвор.

5.2. Тънкослойна хроматография
5.2.1. Хроматографската вана (т. 4.2) се насища с n-пентан (т. 3.4), както следва: стената на ваната, съседна на задното отделение, се облицова с хроматографска хартия (т. 4.3), така че долният край на хартията да влиза в това отделение. В задното отделение се наливат 25 cm^3 (ml) n-пентан (т. 3.4), като последният се сипва по откритата повърхност на облицоващата хроматографска хартия. Веднага се поставя капакът и ваната се оставя да престои 15 min.

5.2.2. На подходящи точки на стартовата линия на хроматографската плака (т. 3.7) се нанасят 10 µl от разтвора на пробата (т. 5.1) и 10 µl от стандартния разтвор на бензилов алкохол (т. 3.6). Оставя се да изсъхне.

5.2.3. В предното отделение на ваната с пипета се поставят 10 cm^3 (ml) диетилов етер (т. 3.5) и веднага след това в същото отделение се поставя плаката. Бързо се поставя капакът и хроматограмата се развива до разстояние 15 cm от стартовата линия. Плаката се изважда от хроматографската вана и се
суши при стайна температура.

5.2.4. Плаката (т. 5.2.3) се разглежда под ултравиолетова светлина и се отбелязват местата на виолетовите петна. Плаката се напръсква с проявяващ реактив (т. 3.8) и след това се нагрява в продължение на 15 min при 120 °C. Бензиловият алкохол се появява като тъмносиньо петно.

5.2.5. Изчислява се получената Rf-стойност за стандартния разтвор на бензилов
алкохол. Тъмносиньо петно със същата Rf-стойност, получено от разтвора на пробата, показва присъствие на бензилов алкохол.

Откриваем минимум: 0,1 µg бензилов алкохол.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Този метод се отнася за определянето на бензилов алкохол в козметични продукти.

2. Дефиниция

Количеството на бензиловия алкохол, определено по този метод, се изразява в %
(M/M).
3. Принцип

Пробата се екстрахира с метанол и количеството на бензиловия алкохол в екстракта се определя чрез високоефективна течна хроматография (ВЕТХ).

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.

4.1. Метанол.

4.2. 4-етоксифенол.

4.3. Бензилов алкохол.

4.4. Подвижна фаза: метанол (т. 4.1)/вода = 45 : 55 (V/V).

4.5. Основен разтвор на бензилов алкохол: в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) се претеглят около 0,1g бензилов алкохол (т. 4.3) с точност 0,001 g. Долива се до марката с метанол (т. 4.1) и се разбърква.

4.6. Основен разтвор на вътрешен стандарт: в мерителна колба от 100 cm^3 (ml)
се претеглят около 0,1g 4-етоксифенол (т. 4.2) с точност 0,001 g. Долива се до марката с метанол (т. 4.1) и се разбърква.

4.7. Стандартни разтвори: в серия от мерителни колби от 25 cm^3 (ml) се поставят съответни количества от основния разтвор на бензилов алкохол (т. 4.5) и от основния разтвор на вътрешен стандарт (т. 4.6) съгласно таблицата, дадена по-долу. Доливат се до марката с метанол (т. 4.1) и се разбърква. Тези стойности са дадени за информация и съответстват на концентрациите на
стандартните разтвори, приготвени с използване на разтвори на бензилов алкохол (т. 4.5) и на 4-етоксифенол (т. 4.6), които съдържат съответно точно 0,1 % (M/V) бензилов алкохол и 0,1 % (M/V) 4-етоксифенол.

Стандартен разтвор	Концентрация на бензилов алкохол		Концентрация на 4-етоксифенол	
	добавени cm^3 (ml) (4.5)	µg/cm^3 (ml)	добавени cm^3 (ml) (4.6)	µg/cm^3 (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

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Течен хроматограф (ВЕТХ) с УВ детектор с променлива дължина на вълната и
10 µl дозаторна капиляра.

5.3. Аналитична колона: 250 mm x 4,6 mm, от неръждаема стомана, с пълнеж Spherisorb ODS 5 µ1m или еквивалентен.

5.4. Водна баня.

5.5. Ултразвукова вана.

5.6. Центрофуга.

5.7. Центрофужни епруветки с обем 15 cm^3 (ml).

6. Процедура

6.1. Приготвяне на пробата

6.1.1. В центрофужна епруветка (т. 5.7) се претегля около 0,1 g (M) с точност 0,001 g от пробата и се прибавят 5 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1).
6.1.2. Загрява се 10 min на водна баня (т. 5.4) при температура 50 °C, след което епруветката се поставя в ултразвукова вана (т. 5.5), където престоява до пълно диспергиране на пробата.

6.1.3. Охлажда се и след това се центрофугира при 3500 rpm в продължение на 5
min.

6.1.4. Бистрата течност се прехвърля в мерителна колба от 25 cm^3 (ml).

6.1.5. Пробата се екстрахира повторно с 5 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1). Екстрактите се обединяват в мерителната колба от 25 cm^3 (ml).

6.1.6. В мерителната колба от 25 cm^3 (ml) се прибавят с пипета 2,0 cm^3 (ml) от основния разтвор на вътрешен стандарт (т. 4.6). Долива се до марката с метанол (т. 4.1) и се разбърква. Този разтвор се използва за определянето, описано в т. 6.4.

6.2. Хроматографиране

6.2.1. Течният хроматограф (т. 5.2) се настройва по обичайния начин. Потокът
на подвижната фаза се нагласява на 2,0 cm^3 (ml)/min.

6.2.2. Дължината на вълната на УВ детектора се нагласява на 210 nm.

6.3. Стандартна крива

6.3.1. Дозират се по 10 µl от всеки от стандартните разтвори на бензилов алкохол (т. 4.7) и се измерват площите на пиковете на бензиловия алкохол и на
4-етоксифенола.

6.3.2. За всеки от стандартните разтвори на бензилов алкохол (т. 4.7) се изчислява отношението на площта на пика на бензиловия алкохол към този на
4-етоксифенола. Построява се стандартна крива, като тези отношения се нанасят
по ординатата, а съответните концентрации на бензилов алкохол в µg/cm^3 (ml) –
по абсцисата.
6.4. Определяне

6.4.1. Инжектират се 10 µl от разтвора на пробата (т. 6.1.6) и се измерват площите на пиковете на бензиловия алкохол и на 4-етоксифенола. Изчислява се
отношението между площите на пиковете на бензиловия алкохол и на
4-етоксифенола. Тази процедура се повтаря с нови 10 µl порции от разтвора на
пробата, докато се получат стабилни резултати.

6.4.2. От стандартната крива (т. 6.3.2) се отчита концентрацията на бензиловия алкохол, съответстваща на полученото отношение на площите на бензиловия алкохол към 4-етоксифенола.

7. Изчисления

Съдържанието на бензилов алкохол в пробата като % (M/M) се изчислява по следната формула:

$$\%(M/M)\ бензилов\ \ алкохол = \frac{c}{400 \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 6.1.1) в g;

с – концентрацията на бензилов алкохол в разтвора на пробата (т. 6.1.6), определена по стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml).

8. Повторяемост *

За съдържание на бензилов алкохол от 1 % (M/M) разликата между две успоредни
определяния на една и съща проба не трябва да надвишава 0,10 %.
**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXXIV. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ЦИРКОНИЙ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЦИРКОНИЙ, АЛУМИНИЙ И ХЛОР В
НЕАЕРОЗОЛНИ АНТИПЕРСПИРАНТИ

Методът включва пет етапа:

А. Идентификация на цирконий

Б. Определяне на цирконий

В. Определяне на алуминий

Г. Определяне на хлор

Д. Изчисляване на съотношенията на алуминиеви към циркониеви атоми и алуминиеви плюс циркониеви атоми към хлорни атоми.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НА ЦИРКОНИЙ

1. Област на приложение

Този метод се отнася за идентификацията на цирконий в неаерозолни антиперспиранти. Не е направен опит за описване на методи, подходящи за идентификация на алуминиево-циркониевия хлоридно-хидроксиден комплекс
$[Al_XZr(OH)_YCl_Z.nH_2O]$.
2. Принцип

Цирконият се идентифицира по характерната червено-виолетова утайка, която се
образува с ализариново червено S в силнокисела среда.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Солна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,18 g/cm^3 (ml).

3.2. Разтвор на ализариново червено S (CI 58005) : 2 % (M/V) воден разтвор на
натриев ализарин сулфонат.

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5. Процедура

5.1. Към около 1 g от пробата се прибавят 2 cm^3 (ml) вода в епруветка. Епруветката се запушва и се разклаща.

5.2. Прибавят се три капки разтвор на ализариново червено S (т. 3.2) и след това – 2 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (т. 3.1). Епруветката се запушва и се разклаща.
5.3. Оставя се да престои около 2 min.

5.4. Червено-виолетовото оцветяване на разтвора и утайката показва присъствие
на цирконий.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ЦИРКОНИЙ

1. Област на приложение

Този метод се отнася за определяне на цирконий в алуминиево-циркониеви хлоридно-хидроксидни комплекси до максимална концентрация 7,5 % (M/M) цирконий в неаерозолни антиперспиранти.

2. Принцип

Цирконият се екстрахира от продукта в силно кисела среда и се определя чрез
атомно-абсорбционна спектрометрия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – бидестилирана.

3.1. Солна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,18 g/cm^3 (ml).

3.2. Солна киселина, 10 % (V/V): в стъклена чаша се наливат 500 cm^3 (ml) вода
и се прибавят 100 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (т. 3.1) при непрекъснато разбъркване. Този разтвор се прехвърля в мерителна колба от 1 dm^3 (l) и се долива до марката с вода.

3.3. Основен стандартен разтвор на цирконий, 1000 μg/cm^3 (ml) в 0,5 M разтвор
на солна киселина (Spectrosol или еквивалентен).

3.4. Разтвор на алуминиев хлорид (хидратиран) ($AlCl_3.6H_2O$) : 22,6 g алуминиев
хлорид хексахидрат се разтварят в 250 cm^3 (ml) 10 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2).

3.5. Разтвор на амониев хлорид: 5,0 g амониев хлорид се разтварят в 250 cm^3 (ml) 10 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2).

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Магнитна бъркалка с нагревател.

4.3. Филтърна хартия (Whatman № 41 или еквивалентна).

4.4. Атомноабсорбционен спектрометър с циркониева лампа (кухокатодна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата.

5.1.1. Претегля се около 1,0 g (M) с точност 0,001 g от хомогенизираната проба
от продукта в стъклена чаша от 150 cm^3 (ml). Прибавят се 40 cm^3 (ml) вода и 10 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (т. 3.1).
5.1.2. Чашата се поставя на магнитната бъркалка (т. 4.2) и започва разбъркване и нагряване до кипене. За да се избегне бързото изсушаване, чашата се покрива с часовниково стъкло. Кипи се 5 min, чашата се сваля от бъркалката и се охлажда до стайна температура.

5.1.3. Съдържанието на чашата се филтрува през филтърна хартия (т. 4.3) в мерителна колба от 100 cm^3 (ml). Чашата се промива два пъти с по 10 cm^3 (ml)
вода и промивните води, след филтруване, се прибавят в колбата. Долива се до
марката с вода и се разбърква. Този разтвор се използва и за определяне на алуминий (част B).

5.1.4. 20,00 cm^3 (ml) от разтвора на пробата (т. 5.1.3) се прехвърлят с пипета в мерителна колба от 50 cm^3 (ml). Прибавят се 5,00 cm^3 (ml) разтвор на
алуминиев хлорид (т. 3.4) и 5,00 cm^3 (ml) разтвор на амониев хлорид (т. 3.5). Долива се до марката с 10 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.

5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия

Пламък – азотен оксид/ацетилен

Дължина на вълната – 360,1 nm

Корекция на фона – не

Процеп – 0,2 nm

Условия на горене: редукционен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В серия мерителни колби от 50 cm^3 (ml) се поставят с пипета 5,00; 10,00; 15,00; 20,00 и 25,00 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на цирконий (т. 3.3). Във всяка колба с пипета се прибавят 5,0 cm^3 (ml) разтвор на алуминиев хлорид (т. 3.4) и 5,00 cm^3 (ml) разтвор на амониев хлорид (т. 3.5). Долива се до марката с 10 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 100; 200; 300; 400 и 500 $\mu g/cm^3$ (ml) цирконий.
По същия начин се приготвя празна проба, без да се прибавя стандартен разтвор
на цирконий.

5.3.2. Измерва се абсорбцията на празната проба (т. 5.3.1) и получената стойност се използва като нулева концентрация на цирконий за стандартната крива. Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на цирконий (т. 5.3.1). Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на цирконий.

5.4. Определяне

Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1.4). От стандартната крива се отчита
концентрацията на цирконий, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на цирконий в пробата се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%(M/M)\ \textit{цирконий} = \frac{c}{40 \times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 5.1.1) в g;

c – концентрацията на цирконий в разтвора на пробата (т. 5.1.4), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml).

7. Повторяемост *
За съдържание на цирконий 1,00 % (M/M) разликата между две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава 0,10 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Забележка

Като алтернативен метод на пламъковата атомноабсорбционна спектрометрия се
допуска атомноемисионна спектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-AES).

B. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АЛУМИНИЙ

1. Област на приложение

Този метод е подходящ за определяне на алуминий в алуминиево-циркониеви хлоридно-хидроксидни комплекси до максимална концентрация 12 % (M/M) алуминий
в неаерозолни антиперспиранти.

2. Принцип

Алуминият се екстрахира от продукта в силно кисела среда и се определя чрез
атомно-абсорбционна спектрометрия.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – бидестилирана.
3.1. Солна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,18 g/cm^3 (ml).

3.2. Разтвор на солна киселина, 1 % (V/V): в стъклена чаша се наливат 500 cm^3
(ml) вода и се прибавят 10 cm^3 (ml) концентрирана солна киселина (т. 3.1) при
непрекъснато разбъркване. Този разтвор се прехвърля в мерителна колба от един
литър и се долива до марката с вода.

3.3. Основен стандартен разтвор на алуминий, 1000 μg/cm^3 (ml) в 0,5 M разтвор
на солна киселина (Spectrosol или еквивалентен).

3.4. Реактив калиев хлорид: 10,0 g калиев хлорид се разтварят в 250 cm^3 (ml) 1 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2).

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Атомноабсорбционен спектрометър с алуминиева лампа (кухокатодна).

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

Разтворът, приготвен в т. B.5.1.3, се използва за определяне съдържанието на алуминий.

5.1.1. 5,00 cm^3 (ml) от разтвора на пробата (т. B.5.1.3) се прехвърлят с пипета в мерителна колба от 100 cm^3 (ml) и се прибавят 10,00 cm^3 (ml) реактив
калиев хлорид (т. 3.4). Долива се до марката с 1 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква.
5.2. Условия за атомноабсорбционна спектрометрия

Пламък – азотен оксид/ацетилен

Дължина на вълната – 309,3 nm

Процеп – 0,7 nm

Корекция на фона – не

Условия на горене – редукционен пламък; за максимална абсорбция е необходимо
оптимизиране на височината на горелката и подаването на газовата смес.

5.3. Стандартна крива

5.3.1. В серия мерителни колби от 100 cm^3 (ml) се поставят с пипета 1,00; 2,00; 3,00; 4,00 и 5,00 cm^3 (ml) от основния стандартен разтвор на алуминий (т. 3.3). Във всяка колба с пипета се прибавят по 10,00 cm^3 (ml) реактив калиев хлорид (т. 3.4), долива се до марката с 1 % (V/V) разтвор на солна киселина (т. 3.2) и се разбърква. Тези разтвори съдържат съответно 10; 20; 30; 40 и 50 μg/cm^3 (ml) алуминий.

По същия начин се приготвя празна проба, без да се прибавя стандартен разтвор
на алуминий.

5.3.2. Измерва се абсорбцията на празната проба (т. 5.3.1) и получената стойност се използва като нулева концентрация на алуминий за стандартната крива. Измерва се абсорбцията на всеки стандартен разтвор на алуминий (т. 5.3.1). Построява се стандартна крива, като се нанасят стойностите на абсорбцията спрямо концентрацията на алуминий.

5.4. Определяне.
Измерва се абсорбцията на пробата (т. 5.1.1). От стандартната крива се отчита
концентрацията на алуминий, съответстваща на абсорбцията, получена за разтвора на пробата.

6. Изчисления

Съдържанието на алуминий в пробата се изчислява в % (M/M) по формулата:

$$\%(M/M)=\frac{c}{5\times M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. Б.5.1.1) в g;

c – концентрацията на алуминий в разтвора на пробата (т. 5.1.1), отчетена от стандартната крива в $\mu g/cm^3$ (ml).

7. Повторяемост *

За съдържание на алуминий 3,5 % (M/M) разликата между две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава 0,10 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Забележка
Като алтернативен метод на пламъковата атомноабсорбционна спектрометрия се
допуска атомноемисионна спектрометрия с индуктивно свързана плазма (ICP-AES).

Г. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЛОР

1. Област на приложение

Този метод се отнася за определяне на хлор, присъстващ като хлорен йон в

алуминиево-циркониеви хлоридно-хидроксидни комплекси в неаерозолни антиперспиранти.

2. Принцип

Хлорният йон в продукта се определя чрез потенциометрично титруване със стандартен разтвор на сребърен нитрат.

3. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Азотна киселина, концентрирана (d_{20} = 1,42 g/cm^3 (ml).

3.2. Азотна киселина, 5 % (V/V) : 25 cm^3 (ml) концентрирана азотна киселина (т. 3.1) се прибавят към 250 cm^3 (ml) вода в стъклена чаша при непрекъснато разбъркване. Този разтвор се прехвърля в мерителна колба от 500 cm^3 (ml) и се
долива до марката с вода.

3.3. Ацетон.
3.4. Сребърен нитрат, 0,1 M стандартен разтвор (AnalaR или еквивалентен).

4. Апаратура

4.1. Стандартно лабораторно оборудване.

4.2. Магнитна бъркалка с нагревател.

4.3. Сребърен електрод.

4.4. Каломелов сравнителен електрод.

4.5. pH миливолтметър, подходящ за потенциометрично титруване.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

5.1.1. В стъклена чаша от 250 cm^3 (ml) се претегля около 1,0 g (M) с точност 0,001 g от хомогенизираната проба на продукта. Прибавят се 80 cm^3 (ml) вода и
20 cm^3 (ml) 5 % (V/V) разтвор на азотна киселина (т. 3.2).

5.1.2. Чашата се поставя на магнитната бъркалка (т. 4.2). Започва разбъркване и нагряване до кипене. За да се избегне бързото изсушаване, чашата се покрива
с часовниково стъкло. Кипи се 5 min, чашата се сваля от бъркалката и се

охлажда до стайна температура.
5.1.3. Прибавят се 10 cm^3 (ml) ацетон (т. 3.3), потапят се електродите (т. 4.3 и т. 4.4) под повърхността и се започва разбъркване. Титрува се потенциометрично с 0,1 M разтвор на сребърен нитрат (т. 3.4) и се построява диференциална крива за определяне на еквивалентния пункт (V cm^3 (ml).

6. Изчисления

Съдържанието на хлор в пробата, в % (M/M) се изчислява по формулата:

$$\%(M/M)\ хлор = \frac{0{,}3545 \times V}{M},$$

където:

M е масата на пробата, взета за анализ (т. 5.1.1) в g;

V – обемът на 0,1 M разтвор на сребърен нитрат, изразходван до еквивалентния
пункт (т. 5.1.3) в cm^3 (ml).

7. Повторяемост *

За съдържание на хлор 4 % (M/M) разликата между две успоредни определяния на
една и съща проба не трябва да надвишава 0,10 % (M/M).

**Забележка.* Виж ISO 5725.

Д. ИЗЧИСЛЯВАНЕ НА ОТНОШЕНИЯТА НА АЛУМИНИЕВИ АТОМИ КЪМ ЦИРКОНИЕВИ АТОМИ И
АЛУМИНИЕВИ ПЛЮС ЦИРКОНИЕВИ АТОМИ КЪМ ХЛОРНИ АТОМИ
1. Изчисляване на отношението алуминиеви атоми към циркониеви атоми

Отношението Al : Zr се изчислява по формулата:

$$Отношение\ Al : Zr = \frac{Al\%(M/M) \times 91{,}22}{Zr\%(M/M) \times 26{,}98}.$$

2. Изчисляване на отношението алуминиеви плюс циркониеви атоми към хлорни
атоми

Отношението (Al + Zr) : Cl се изчислява по формулата:

$$Отношение(AL+Zr):Cl=\frac{\frac{Al\%(M/M)}{26,98}+\frac{Zr\%(M/M)}{91,22}}{\frac{Cl\%(M/M)}{35,45}}.$$

XXXV. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХЕКСАМИДИН, ДИБРОМОХЕКСАМИДИН, ДИБРОМОПРОПАМИДИН И ХЛОРХЕКСИДИН

1. Област на приложение

Методът се отнася за качественото и количественото определяне на:

а) хексамидин и неговити соли, включително изетионат и 4-хидрокси бензоат;

б) дибромохексамидин и негови соли, включително изетионат;
в) дибромопропамидин и негови соли, включително изетионат;

г) хлорхексидин диацетат, диглюконат и дихидрохлорид в козметични продукти.

2. Дефиниция

Концентрациите на хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин и хлорхексидин, определени по този метод, се изразяват в % (M/M).

3. Принцип

Идентифицикацията и определянето се извършва чрез обратнофазова високоефективна течна хроматография (ВЕТХ) с УВ детектор. Хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин и хлорхексидин се идентифицират по
техните времена на задържане в хроматографската колона.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.

4.1. Метанол

4.2. 1-Хептансулфонова киселина, натриева сол, монохидрат

4.3. Оцетна киселина, ледена (d_{20} = 1,05 g/cm^3 (ml)
4.4. Натриев хлорид

4.5. Подвижни фази

4.5.1. Разтворител I: 0,005 M разтвор на 1-хептансулфонова киселина, натриева
сол, монохидрат (т. 4.2) в метанол (т. 4.1), доведен до pH 3,5 с ледена оцетна киселина (т. 4.3).

4.5.2. Разтворител II: 0,005 M разтвор на 1-хептансулфонова киселина, натриева сол, монохидрат (т. 4.2) във вода, доведен до pH 3,5 с ледена оцетна киселина (т. 4.3).

Забележка. Ако е необходимо да се подобри формата на пиковете, подвижните
фази могат да се модифицират и приготвят, както следва:

а) разтворител I: разтварят се 5,84 g натриев хлорид (т. 4.4) и 1,1013 g 1-хептан-сулфонова киселина, натриева сол, монохидрат (т. 4.2) в 100 cm^3 (ml)
вода; прибавят се 900 cm^3 (ml) метанол (т. 4.1) и се довежда до pH 3,5 с ледена оцента киселина (т. 4.3);

б) разтворител II: разтварят се 5,84 g натриев хлорид (т. 4.4) и 1,1013 g 1-хептан-сулфонова киселина, натриева сол, монохидрат (т. 4.2) в 1 dm^3 (l) вода и се довежда до pH 3,5 с ледена оцента киселина (т. 4.3).

4.6. Хексамидин диизетионат
[$C_{20}H_{26}N_4O_2.2C_2H_6O_4S$]

4.7. Дибромохексамидин диизетионат
[$C_{20}H_{26}Br_2N_4O_2.2C_2H_6O_4S$]

4.8. Дибромопропамидин диизетионат
[$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2.2C_2H_6O_4S$]

4.9. Хлорхексидин диацетат
[$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_2H_4O_2$]
4.10. Стандартни разтвори: приготвят се 0,05 % (M/V) разтвори на всеки от четирите консерванта (т. 4.6 до т. 4.9) в разтворител I (т. 4.5.1).

4.11. 3,4,4'-трихлорокарбанилид (триклокарбан)

4.12. 4,4'-дихлоро-3-(трифлуорометил) карбанилид (халокарбан)

5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване

5.2. Високоефективен течен хроматограф с УВ детектор с варираща дължина на

вълната.

5.3. Аналитична колона: неръждаема стомана, дължина – 30 cm; вътрешен диаметър – 4 mm; напълнена с μ-Bondapack C_{18}, 10 μm или подобен.

5.4. Ултразвукова вана.

6. Идентификация

6.1. Подготовка на пробата: Претеглят се около 0,5 g от пробата с точност 0,001 g в 10 cm^3 (ml) мерителна колба и се долива до марката с разтворител I (т. 4.5.1). Колбата се поставя в ултразвукова вана (т. 5.4) за 10 min. Разтворът се филтрува или центрофугира. Филтратът се отделя за хроматографски
анализ.

6.2. Хроматография
6.2.1. Градиент на подвижната фаза

Време (min)	Разтворител I (%V/V) (4.5.1)	Разтворител II (%V/V) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Скорост на потока на подвижната фаза (т. 6.2.1) до 1,5 cm^3 (ml)/min и температура на колоната до 35 °C.

6.2.3. Дължина на вълната на детектора – 264 nm.

6.2.4. Инжектират се 10 μl от всеки стандартен разтвор (т. 4.10) и се записват хроматограмите им.

6.2.5. Инжектират се 10 μl от разтвора на пробата (т. 6.1) и се записва хроматограмата.

6.3. Идентифицира се присъствието на хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин или хлорхексидин, като се сравняват времената на задържане
на записаните пикове в т. 6.2.5 с тези, получени от стандартните разтвори в т. 6.2.4.

7. Определяне

7.1. Подготовка на стандартни разтвори. Използва се един от консервантите (т.
4.6 до т. 4.9), който липсва в мострата, като вътрешен стандарт. Ако това не е възможно, препоръчва се да се използва триклокарбан (т. 4.11) или

халокарбан (т. 4.12).

7.1.1. Изходен разтвор на консерванта 0,05 % (M/V), идентифициран в т. 6.3, в
разтворител I (т. 4.5.1).

7.1.2. Изходен разтвор на консерванта 0,05 % (M/V), избран като вътрешен стандарт, в разтворител I (т. 4.5.1).

7.1.3. За всеки идентифициран консервант се приготвят 4 стандартни разтвора,
като се отмерват в серия от 10 cm^3 (ml) мерителни колби подходящи количества
от изходния разтвор на идентифицирания консервант (т. 7.1.1) и подходящи количества от изходния разтвор на вътрешния стандарт (т. 7.1.2) според долната таблица. Всяка колба се долива до необходимия обем с разтворител I (т. 4.5.1) и се разбърква.

Стандартен разтвор	Вътрешен стандартен изходен разтвор добавени cm^3 (ml) (т. 7.1.2)	Изходен разтвор на идентифицирания консервант	
		добавени cm^3 (ml) (т. 7.1.1)	µg/cm^3 (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

(*) Тези стойности са дадени като индикация и отговарят на концентрациите на
идентифицираните консерванти в приготвените стандартни разтвори, изхождайки
от изходния разтвор, съдържащ точно 0,05 % от идентифицирания консервант.

7.2. Подготовка на пробата.

7.2.1. Претегля се около 0,5 g (p) с точност 0,001 g от пробата в мерителна колба от 10 cm^3 (ml), добавят се 1,0 cm^3 (ml) от вътрешния стандартен разтвор
(т. 7.1.2) и 6 cm^3 (ml) от разтворител I (т. 4.5.1) и се разбърква.

7.2.2. Колбата се поставя в ултразвукова вана (т. 5.4) за 10 min. Охлажда се. Долива се до необходимия обем с разтворител I и се разбърква. Центрофугира се
или се филтрува през нагъната филтърна хартия. Събира се горната фаза или филтратът за хроматографиране.

7.3. Хроматография

7.3.1. Градиентът на подвижната фаза, скоростта на потока, температурата на колоната и дължината на вълната на детектора на HPLC (т. 5.2) са, както е препоръчано при етап идентификация (т. 6.2.1 до т. 6.2.3).

7.3.2. Инжектират се 10 µl от разтвора на пробата (т. 7.2.2) и се измерват пиковите площи. Повтаря се процесът с инжектиране на 10 µl от разтвора на пробата, докато се получат постоянни резултати. Изчислява се съотношението на
пиковата площ, получена от анализираната проба, с пиковата площ, получена от
вътрешния стандарт.

7.4. Калибриране

7.4.1. Инжектират се 10 µl от всички стандартни разтвори (т. 7.1.3) и се измерват пиковите площи.

7.4.2. За всеки стандартен разтвор (т. 7.1.3) се изчислява съотношението на пиковите площи на хексамидина, дибромохексамидина, дибромопропамидина или
хлорхексидина спрямо пиковата площ на вътрешния стандарт. Начертава се стандартна крива, като на ординатата се нанасят тези съотношения, а на абсцисата – съответните концентрации на идентифицираните консерванти в стандартните разтвори, в µg/cm^3 (ml).

7.4.3. От стандартната крива (т. 7.4.2) се отчитат концентрациите на идентифицираните консерванти, съответсващи на изчислените пикови площи в т. 7.3.2.
8. Изчисления

8.1.1.Съдържанието на хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин или
хлорхексидин в пробата, като % (M/M) се изчислява по следната формула:

$$\%\,(M/M) = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2},$$

където:

p е масата на анализираната проба (т. 7.2.1) в g;

c – концентрацията на консерванта в разтвора на пробата, отчетена от стандартната крива в µg/cm^3 (ml);

MW_1 – молекулното тегло на основната форма присъстващ консервант;

MW_2 – молекулното тегло на съответната сол (виж т. 10).

9. Повторяемост *

За концентрация 0,1 % (M/M) на хексамидина, дибромохексамидина, дибромопропамидина или хлорхексидина разликата в резултатите на две паралелно
проведени определения на една и съща проба не трябва да надвишава 0,005 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.
10. Таблица на консервантите със съответните формули и молекулни тегла:

Хексамидин	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Хексамидин диизетионат	$C_{20}H_{26}N_4O_2.2C_2H_6O_4S$	606,72
Хексамидин ди-р-хидроксибензоат	$C_{20}H_{26}N_4O_2.2C_7H_6O_3$	630,71
Дибромохексамидин	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Дибромохексамидин диизетионат	$C_{20}H_{24}Br2N_4O_2.2C_2H_6O_4S$	764,51
Дибромопропамидин	$C_{17}H_{18}$ $Br_2N_4O_2$	470,18
Дибромопропамидин диизетионат	$C_{17}H_{18}$ $Br_2N_4O2.2C_2H_6O_4S$	722,43
Хлорхексидин	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Хлорхексидин диацетат	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_2H_4O_2$	625,56
Хлорхексидин диглюконат	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_6H_{12}O_7$	897,76
Хлорхексидин дихидрохлорид	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2HCl$	578,37

XXXVI. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА БЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА, 4-ХИДРОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА, СОРБИНОВА КИСЕЛИНА, САЛИЦИЛОВА КИСЕЛИНА И ПРОПИОНОВА КИСЕЛИНА В КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ

1. Област на приложение

Методът се отнася за идентификация и определяне на бензоена киселина, 4-хидроксибензоена киселина, сорбинова киселина, салицилова киселина и пропионова киселина в козметични продукти. Отделни процедури описват идентификацията на тези консерванти; определянето на пропионова киселина,
4-хидроксибензоена киселина, салицилова киселина, сорбинова киселина и бензоена киселина.

2. Дефиниция

Количествата на бензоена киселина, 4-хидроксибензоена киселина,

сорбинова
киселина, салицилова киселина и пропионова киселина, определени по този метод, се изразяват като % (M/M) на свободните киселини.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Принцип

След киселинно-основна екстракция на консервантите екстрактът се анализира
чрез тънкослойна хроматография (ТСХ), използвайки непосредствена дериватизация. В зависимост от резултатите идентификацията се потвърждава
чрез високоефективна течна хроматография (ВЕТХ) или за пропионовата киселина
чрез газова хроматография.

2. Реактиви

2.1. Общо изискване

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а.), водата
– дестилирана или с еквивалентна чистота.
2.2. Ацетон.

2.3. Диетилов етер.

2.4. Ацетонитрил.

2.5. Толуен.

2.6. n-Хексан.

2.7. Парафин, течен.

2.8. Солна киселина, 4 М.

2.9. Калиев хидроксид, 4 М.

2.10. Калциев хлорид, $CaCl_2.2H_2O$.

2.11. Литиев карбонат, Li_2CO_3.

2.12. 2-бром-2'-ацетонафтон.
2.13. 4-хидроксибензоена киселина.

2.14. Салицилова киселина.

2.15. Бензоена киселина.

2.16. Сорбинова киселина.

2.17. Пропионова киселина.

2.18. Сравнителни разтвори

Приготвят се 0,1 % (M/V) разтвори (100 mg/100 cm^3 (ml) от всеки от петте консерванта (т. 2.13 до т. 2.17) в диетилов етер.

2.19. Реактив за дериватизация

0,5 % (M/V) разтвор на 2-бром-2'ацетонафтон (т. 2.12) в ацетонитрил (т.
2.4) (50 mg/10 cm^3 (ml). Този разтвор се приготвя непосредствено преди употреба.

2.20. Разтвор на катализатор

0,3 % (M/V) разтвор на литиев карбонат (т. 2.11) във вода (300 mg/100 cm^3 (ml). Този разтвор се приготвя непосредствено преди употреба.
2.21. Подвижна фаза

Толуен (т. 2.5) : ацетон (т. 2.2) = 20 : 0,5 (V/V).

2.22. Течен парафин (т. 2.7) : n-хексан (т. 2.6) = 1 : 2 (V/V).

3. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване.

3.1. Водна баня, която може да поддържа температура 60 °C.

3.2. Хроматографска вана.

3.3. Източник на УВ светлина, 254 и 366 nm.

3.4. Плаки за тънкослойна хроматография Kieselgel 60, без флуоресцентен индикатор, 20x20 cm, дебелина на слоя 0,25 mm, с концентрираща зона 2,5x20 cm
(Merck 11845 или еквивалентни).

3.5. Микроспринцовка, 10 µl.

3.6. Микроспринцовка, 25 µl.
3.7. Сушилня, която може да поддържа температура 105 °C.

3.8. Стъклени епруветки от 50 cm^3 (ml) със запушалки на винт.

3.9. Филтърна хартия, диаметър 90 mm, Schleicher & Schull, № 5892, бяла лента или еквивалентна.

3.10. Универсална pH индикаторна хартия, pH 1-11.

3.11. Стъклени шишенца за проби от 5 cm^3 (ml).

3.12. Ротационен изпарител (Rotavapor или еквивалентен).

3.13. Нагревателна плоча.

4. Процедура

4.1. Приготвяне на пробата

В стъклена епруветка от 50 cm^3 (ml) (т. 3.8) се претегля около 1 g от пробата. Прибавят се 4 капки 4 M солна киселина (т. 2.8) и 40 cm^3 (ml) ацетон
(т. 2.2). За силно алкални продукти, като тоалетни сапуни, е необходимо да се прибавят 20 капки 4 M солна киселина (т. 2.8). Проверява се стойността на pH
дали е около 2 с индикаторна хартия (т. 3.10). Епруветката се запушва и се разклаща енергично в продължение на 1 min.

Ако е необходимо да се улесни екстрахирането на консервантите в ацетоновата
фаза, сместа се нагрява леко до около 60 °C за стопяване на течната фаза.
Разтворът се охлажда до стайна температура и се филтрува през филтърна хартия
(т. 3.9) в конична колба.

20 cm^3 (ml) от филтрата се прехвърлят в конична колба от 200 cm^3 (ml), прибавят се 20 cm^3 (ml) вода и се разбърква. pH на сместа се довежда до около
10 с 4 M калиева основа (т. 2.9), като за измерване на pH се използва индикаторна хартия (т. 3.10).

Прибавя се 1 g калциев хлорид (т. 2.10) и се разклаща енергично.

Филтрува се през филтърна хартия (т. 3.9) в делителна фуния от 250 cm^3 (ml), съдържаща 75 cm^3 (ml) диетилов етер, и се разклаща енергично в продължение на
1 min. Оставя се да се разделят слоевете и водният слой се излива в конична колба от 250 cm^3 (ml). Етерният слой се отстранява.

Като се използва индикаторна хартия (т. 3.10), pH на водния слой се довежда до около 2 с помощта на 4 M солна киселина (т. 2.8). Прибавят се 10 cm^3 (ml)

диетилов етер (т. 2.3), колбата се запушва и се разбърква енергично в продължение на 1 min. Оставя се да се разделят слоевете и етерният слой се прехвърля в ротационен изпарител (т. 3.12). Водният слой се изхвърля.

Етерният слой се изпарява почти до сухо и остатъкът се разтваря в 1 cm^3 (ml) диетилов етер (т. 2.3). Разтворът се прехвърля в шишенце за проби (т. 3.11).

4.2. Тънкослойна хроматография

За всички стандартни разтвори и от проби, които ще се хроматографират, се нанася със спринцовка (т. 3.5) по около 3 µl от разтвора на литиев карбонат (т. 2.20) на еднакви разстояния върху стартовата линия на концентриращата зона на плаката за ТСХ (т. 3.4) и се изсушава в ток от студен въздух.

Плаката се поставя върху нагревателната плоча (т. 3.13), загрята до 40 °C, за да остават петната колкото е възможно по-малки. С микроспринцовка (т. 3.5) се нанасят по 10 µl от стандартните разтвори (т. 2.18) и от разтвора на пробата (т. 4.1) върху стартовата линия на плаката, точно върху петната от литиев карбонат.

Накрая се нанасят по около 15 µl от реактива за дериватизация (т. 2.19) (2-бром-2'-ацетонафтон), отново точно върху петната, където са нанесени
стандартните разтвори и разтворът на пробата, както и разтворът на литиев карбонат.

Плаката се нагрява в сушилня (т. 3.7) при температура 80 °C в продължение на 45 min. След охлаждане плаката се поставя в хроматографската
вана (т. 3.2), която предварително е доведена до равновесие за 15 min (без да се прилага облицоване с филтърна хартия) с подвижната фаза (т. 2.21). Плаката
престоява, докато фронтът на елуента достигне разстояние 15 cm от стартовата
линия (това може да отнеме приблизително 80 min).
Плаката се изсушава в ток от студен въздух и получените петна се разглеждат
под УВ светлина (т. 3.3). За засилване на флуоресценцията на бледите петна плаката може да се потопи в сместа течен парафин/n-хексан (т. 2.22).

5. Отчитане на резултатите

Изчислява се Rf стойността на всяко петно.

Сравнява се Rf стойността и поведението при УВ облъчване на петната от пробата и петната от стандартните разтвори.

Прави се предварително заключение относно присъствието и идентичността на

наличните консерванти. Провежда се ВЕТХ, описана в част Б, или, ако се докаже
пропионова киселина – газова хроматография, описана в част Б. Сравняват се
получените времена на задържане с тези на стандартните разтвори.

Обобщават се резултатите от ТСХ, ВЕТХ или ГХ и на тази база се определя окончателната идентификация на присъстващите в пробата консерванти.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА БЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА, 4-ХИДРОКСИБЕНЗОЕНА КИСЕЛИНА, СОРБИНОВА
КИСЕЛИНА И САЛИЦИЛОВА КИСЕЛИНА

1. Принцип

След подкисляване пробата се екстрахира със смес от етанол и вода. След филтруване консервантите се определят посредством високоефективна течна хроматография (ВЕТХ).

2. Реактиви

2.1. Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а където е необходимо с чистота "за ВЕТХ".
Използваната вода трябва да бъде бидестилирана или с еквивалентна чистота.

2.2. Етанол, абсолютен.

2.3. 4-хидроксибензоена киселина.

2.4. Салицилова киселина.

2.5. Бензоена киселина.

2.6. Сорбинова киселина.

2.7. Натриев ацетат (CH3COONa.3H2O).

2.8. Оцетна киселина (d_4^{20} = 1,05 g/cm^3 (ml).

2.9. Ацетонитрил.

2.10. Сярна киселина, 2 М.

2.11. Калиев хидроксид, 0,2 М.
2.12. 2-метоксибензоена киселина.

2.13. Смес етанол – вода: смесват се девет обема етанол (т. 2.2) и един обем вода (т. 2.1).

2.14. Разтвор на вътрешен стандарт

Приготвя се разтвор, който съдържа около 1 g с точност 0,001 g 2-метоксибензоена киселина (т. 2.12) в 500 cm^3 (ml) смес етанол-вода (т. 2.13).

2.15. Подвижна фаза за ВЕТХ.

2.15.1. Ацетатен буфер: към 1 dm^3 (l) вода се прибавят 6,35 g натриев ацетат (т. 2.7) и 20,0 cm^3 (ml) оцетна киселина (т. 2.8) и се разбърква.

2.15.2. Подвижната фаза се приготвя чрез смесване на 9 обема ацетатен буфер
(т. 2.15.1) и един обем ацетонитрил (т. 2.9).

2.16. Основен разтвор на консервантите

Претеглят се с точност 0,001 g около 0,05 g 4-хидроксибензоена киселина (т. 2.3), 0,2 g салицилова киселина (т. 2.4), 0,2 g бензоена киселина (т. 2.5) и 0,05 g сорбинова киселина (т. 2.6) в мерителна колба от 50 cm^3 (ml) и се долива се до марката със смес етанол-вода (т. 2.13). Разтворът се съхранява в хладилник и е стабилен в продължение на една седмица.

2.17. Стандартни разтвори на консервантите

В серия от мерителни колби от 20 cm^3 (ml) се поставят съответно 8,00; 4,00; 2,00; 1,00 и 0,50 cm^3 (ml) от основния разтвор (т. 2.16). Във всяка колба се прибавят по 10,00 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешен стандарт (т. 2.14) и по 0,5 cm^3 (ml) 2 M сярна киселина (т. 2.10). Допълва се до марката със смес етанол-вода (т. 2.13). Тези разтвори се приготвят непосредствено преди употреба.
3. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване.

3.1. Водна баня, нагласена на 60 °C.

3.2. Високоефективен течен хроматограф с УВ детектор с променлива дължина на
вълната и 10 µl дозираща капиляра.

3.3. Аналитична колона

Неръждаема стомана, дължина – 12,5 до 25 cm, вътрешен диаметър – 4,6 mm, пълнеж – Nucleosil 5C18 или еквивалентен.

3.4. Филтърна хартия, диаметър 90 mm, Schleicher & Schull, № 5892, бяла лента или еквивалентна.

3.5. Стъклени епруветки от 50 cm^3 (ml) със запушалки на винт.

3.6. Стъклени шишенца за проби от 5 cm^3 (ml).

3.7. Парченца карборунд за кипене, размер 2 до 4 mm или еквивалентни.

4. Процедура
4.1. Приготвяне на пробата

4.1.1. Приготвяне на проба без добавяне на вътрешен стандарт

В стъклена епруветка (т. 3.5) от 50 cm^3 (ml) се претегля 1 g от пробата с точност 0,001 g. С пипета в епруветката се прибавя 1,00 cm^3 (ml) 2 M сярна киселина (т. 2.10) и 40 cm^3 (ml) смес етанол-вода (т. 2.13). Прибавя се около 1 g карборунд (т. 3.7), епруветката се затваря и се разклаща енергично поне 1 min, докато се получи хомогенна суспензия. За улесняване на екстракцията на
консервантите в етанолната фаза епруветката се поставя във водна баня (т. 3.1), нагласена на 60 °C точно за 5 min.

Епруветката се охлажда незабавно със студена вода и екстрактът престоява 1 h
при температура 5 °C и се филтрува през филтърна хартия (т. 3.4). Около 2 cm^3 (ml) от екстракта се прехвърлят в шишенце за проби (т. 3.6). Екстрактът
се съхранява при 5 °C и се анализира чрез ВЕТХ в рамките на 24 h от приготвянето.

4.1.2. Приготвяне на проба с добавяне на вътрешен стандарт

В стъклена епруветка от 50 cm^3 (ml) (т. 3.5) се претегля 1 g от пробата с точност 0,001 g. С пипета в епруветката се прибавя 1,00 cm^3 (ml) 2 M сярна киселина (т. 2.10) и 30 cm^3 (ml) смес етанол-вода (т. 2.13). Прибавя се около 1 g карборунд (т. 3.7) и 10,00 cm^3 (ml) разтвор на вътрешен стандарт (2.14), епруветката се затваря и се разклаща енергично поне 1 min, докато се получи хомогенна суспензия. За улесняване на екстракцията на консервантите в етанолната фаза епруветката се поставя във водна баня при 60 °C точно за 5 min.

Епруветката се охлажда незабавно със студена вода и екстрактът престоява 1 h
при температура 5 °C и се филтрува през филтърна хартия (т. 3.4). Около 2 cm^3 (ml) от екстракта се прехвърлят във шишенце за проби (т. 3.6). Екстрактът се съхранява при 5 °C и се анализира чрез ВЕТХ в рамките на 24 h от приготвянето.

4.2. Високоефективна течна хроматография

Подвижна фаза: ацетонитрил/ацетатен буфер (т. 2.15).

Скоростта на подвижната фаза през колоната се нагласява на 2,0±0,5 cm^3 (ml)/min. Детекторът се настройва на 240 nm.

4.2.1. Стандартна крива
В течния хроматограф (т. 3.2) се дозират по 10 µl от всеки от стандартните разтвори на консервантите (т. 2.17). За всеки разтвор се определя отношението
между височината на пиковете на изследваните консерванти към височината на
пика на вътрешния стандарт, получени от хроматограмите. Построява се графика
за всеки консервант, като се нанасят отношенията на височините на пика спрямо
съответните концентрации на всеки стандартен разтвор.

Проверява се дали получените зависимости за всеки стандартен разтвор са линейни.

4.2.2. Определяне

В течния хроматограф се дозират 10 µl от екстракта на пробата (т. 4.1.1) и се записва хроматограмата. Дозират се 10 µl от стандартния разтвор на консерванти (т. 2.17) и се записва хроматограмата. Сравняват се получените хроматограми. Ако в хроматограмата на екстракта на пробата (т. 4.1.1) няма пик с приблизително същото време на задържане както това на 2-метоксибензоената киселина (препоръчвания вътрешен стандарт), в течния хроматограф се дозират 10 µl от екстракта на пробата с добавен вътрешен стандарт (т. 4.1.2) и се записва хроматограмата.

Ако на хроматограмата на екстракта от пробата (т. 4.1.1) се наблюдава пречещ
пик, който има време на задържане като на 2-метоксибезоената киселина, трябва
да се избере друг подходящ вътрешен стандарт. (Ако един от изследваните консерванти отсъства от хроматограмата, този консервант може да бъде използван като вътрешен стандарт.)

Получените хроматограми на стандартния разтвор и на разтвора на пробата трябва да отговарят на следните изисквания:

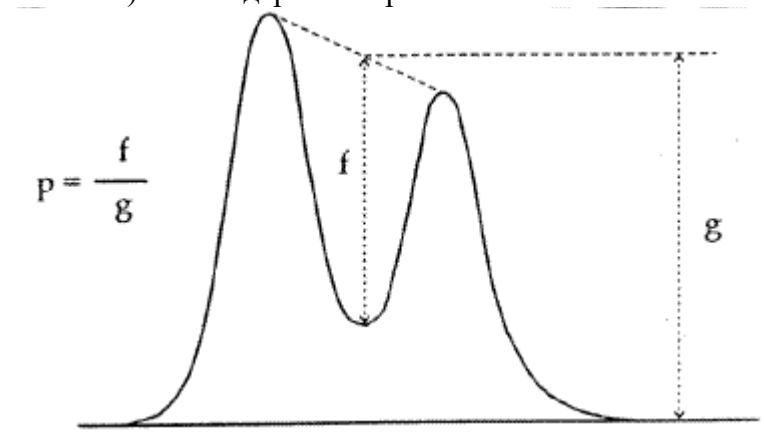
а) Разделянето на пиковете в най-лошо разделената двойка трябва да бъде не по-малко от 0,90 (за дефиниция на коефициента на разделяне виж фиг. 1.).

Ако не е постигнато необходимото разделяне, трябва да се използва по-ефективна колона или друга по състав подвижна фаза, чийто подбор продължава до задоволяване на изискванията.

б) Коефициентът на асиметрия (As) на всички получени пикове трябва да бъде в
интервала от 0,9 до 1,5 (за дефиниция на коефициента на асиметрия виж фиг. 2). Препоръчва се хроматограмата за определяне коефициента на асиметрия да се
записва при скорост най-малко 2 cm/min.

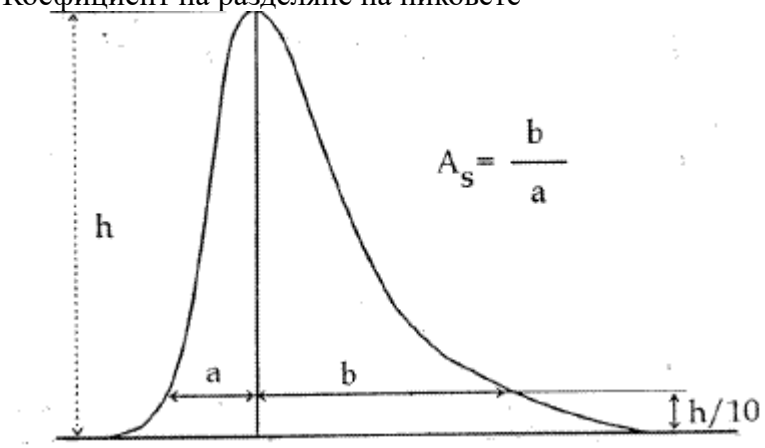
в) Базовата линия трябва да бъде стабилна.

5. Изчисления
За изчисляване на концентрацията на киселините-консерванти в разтвора на пробата се използват отношенията на височините на пиковете на изследваните
консерванти към височината на пика на вътрешния стандарт (2-метоксибензоена
киселина) от стандартната крива.



Фигура 1.

Коефициент на разделяне на пиковете



Фигура 2.

Коефициент на асиметрия на пика

Съдържанието на бензоена киселина, 4-хидроксибензоена киселина, сорбинова

киселина или салицилова киселина се изчислява в % (M/M) (xi) по формулата:

$$x_i\ \%\ (M/M) = \frac{100 \times 20 \times M'}{10^6 \times M} = \frac{M'}{500 \times M},$$

където:

M е масата на изпитваната проба (4.1.2) в g;

M' – концентрацията на консерванта в екстракта на пробата (т. 4.1.2), получена от стандартната крива в μg/cm^3 (ml).

6. Повторяемост*

За съдържание на 4-хидроксибензоена киселина 0,40 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля по абсолютна стойност 0,035 %.

За съдържание на бензоена киселина 0,50 % разликата между резултатите от две
успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля по абсолютна стойност 0,050 %.

За съдържание на салицилова киселина 0,50 % разликата между резултатите от
две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля по абсолютна стойност 0,045 %.
За съдържание на сорбинова киселина 0,60 % разликата между резултатите от две
успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надхвърля по абсолютна стойност 0,035 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

7. Забележки

7.1. Резултатите от проведения тест за допустими отклонения от методиката показват, че количеството сярна киселина, която се добавя при екстракцията на
киселините от пробата, е критично и границите за количеството на обработваната проба трябва да се поддържат в посочения интервал.

7.2. По желание може да се използва подходяща предколона.

B. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ПРОПИОНОВА КИСЕЛИНА

1. Област на приложение

Този метод е подходящ за определяне на пропионова киселина с максимална концентрация 2 % (M/M) в козметични продукти.

2. Дефиниция

Концентрацията на пропионова киселина, измерена по този метод, се изразява
като % (M/M) от масата на продукта.

3. Принцип
След екстракция на пропионовата киселина от продукта определянето се извършва
чрез газова хроматография с използване на 2-метилпропионова киселина като
вътрешен стандарт.

4. Реактиви

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за газова хроматография".

4.1. Етанол, 96 % (V/V).

4.2. Пропионова киселина.

4.3. 2-метилпропионова киселина.

4.4. Ортофосфорна киселина, 10 % (M/V).

4.5. Стандартен разтвор на пропионова киселина.

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се претегля около 1,00 g (p) с точност 0,001 g пропионова киселина и се долива до марката с етанол (т. 4.1).

4.6. Разтвор на вътрешен стандарт

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се претегля около 1,00 g (M') с точност
0,001 g 2-метилпропионова киселина и се долива до марката с етанол (т. 4.1).
5. Апаратура

5.1. Стандартно лабораторно оборудване.

5.2. Газов хроматограф с пламъчно-йонизационен детектор.

5.3. Стъклена епруветка (2x15 cm) със запушалка на винт.

5.4. Водна баня, нагласена на 60 °C.

5.5. Стъклена спринцовка от 10 cm^3 (ml) с мембранен филтър (диаметър на порите 0,45 µ1m).

6. Процедура

6.1. Приготвяне на пробата

6.1.1. Приготвяне на проба без вътрешен стандарт

В стъклена епруветка (т. 5.3) се претегля около 1 g с точност 0,001 g от пробата (M). Прибавят се 0,5 cm^3 (ml) фосфорна киселина (т. 4.4) и 9,5 cm^3 (ml) етанол (т. 4.1).

Епруветката се затваря и се разклаща енергично. Ако е необходимо, епруветката
се поставя на водна баня, нагрята до 60 °C (т. 5.4), за 5 min за пълно разтваряне на липидната фаза. Охлажда се бързо на течаща вода. Част от разтвора се филтрува през мембранен филтър (т. 5.5). Филтратът се хроматографира същия ден.
6.1.2. Приготвяне на проба с вътрешен стандарт

В стъклена епруветка (т. 5.3) се претегля 1 g с точност 0,001 g от пробата (M). Прибавят се 0,5 cm^3 (ml) фосфорна киселина (т. 4.4), 0,50 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешен стандарт (т. 4.6) и 9,0 cm^3 (ml) етанол (т. 4.1).

Епруветката се затваря и се разклаща енергично. Ако е необходимо, епруветката
се поставя на водна баня, нагрята до 60 °C (т. 5.4), за 5 min за разтваряне на липидната фаза. Охлажда се бързо на течаща вода. Част от разтвора се филтрува през мембранен филтър (т. 5.5). Филтратът се хроматографира същия ден.

6.2. Условия за газова хроматография

Препоръчват се следните работни условия:

Колона

Тип – неръждаема стомана

Дължина – 2 m

Диаметър – 1/8''

Пълнеж – 10 % SP™ 1000 (или еквивалентна) + 1 % H_3PO_4 върху Chromosorb WAW
100 до 120 mesh.

Температура
Инжектор – 200 °C

Колона – 120 °C

Детектор – 200 °C

Газ носител – азот

Скорост на потока – 25 cm^3 (ml)/min.

6.3. Хроматография

6.3.1. Стандартна крива

В серия мерителни колби от 20 cm^3 (ml) се поставят съответно 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 и 4,00 cm^3 (ml) разтвор на пропионова киселина (т. 4.5). Във всяка колба се добавя с пипета 1,00 cm^3 (ml) от разтвора на вътрешен стандарт (т. 4.6), доливат се до марката с етанол (т. 4.1) и се разбъркват.

Приготвените по този начин разтвори съдържат M' mg/cm^3 (ml) 2-метилпропионова киселина като вътрешен стандарт (т.е. 1 mg/cm^3 (ml) и p/4,
p/2, p, 2p и 4p mg/cm^3 (ml) пропионова киселина (т.е. 0,25; 0,50; 1,00; 2,00 и 4,00 mg/cm^3 (ml).

Инжектират се по 1 µl от всеки от тези разтвори и се построява стандартна крива, като на абсцисата се нанасят отношенията на масите на пропионовата киселина към 2-метилпропионовата киселина, а по ординатата – отношенията на
съответните площи на пиковете им.

За всеки разтвор се правят по три инжектирания и се изчислява средната площ
на пиковете.
6.3.2. Определяне

Инжектира се 1 µl от филтрата на пробата по т. 6.1.1. Получената хроматограма
се сравнява с тези на стандартните разтвори (т. 6.3.1). Ако пикът има приблизително същото време на задържане както 2-метилпропионовата киселина,
се сменя вътрешният стандарт. Ако не се наблюдава пречене, се инжектира 1 µ1l
от филтрата на пробата (т. 6.1.2) и се измерват площите на пика на пропионовата киселина и на пика на вътрешния стандарт.

Правят се три инжектирания за всеки разтвор и се изчислява средната площ на

пиковете.

7. Изчисления

7.1. От стандартната крива, получена в т. 6.3.1, се отчита отношението на масите К, съответстващо на отношението на площите на пиковете, получени в т.
6.3.2.

7.2. От така полученото отношение на масите се изчислява съдържанието на пропионова киселина (x) в % (M/M), използвайки формулата:

$$x\%\ (M/M) = K\frac{0{,}5 \times 100 \times M'}{50 \times M} = K\frac{M'}{M},$$

където:

К е съотношение, изчислено в т. 7.1;

M' – масата на вътрешния стандарт, т. 4.6 в g;

M – масата на пробата, претеглена в т. 6.1.2 в g.
Резултатът се закръглява до втория знак.

8. Повторяемост *

За съдържание на пропионова киселина 2 % (M/M) разликата между резултатите от
две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава 0,12 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

XXXVII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ХИДРОХИНОН, ХИДРОХИНОН МОНОМЕТИЛОВ
ЕТЕР, ХИДРОХИНОН МОНОЕТИЛОВ ЕТЕР И ХИДРОХИНОН МОНОБЕНЗИЛОВ ЕТЕР В КОЗМЕТИЧНИ
ПРОДУКТИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася за откриване и идентификация на хидрохинон, хидрохинон
монометилов етер, хидрохинон моноетилов етер и хидрохинон монобензилов етер

(монобензон) в козметични продукти за осветляване на кожата.

2. Принцип

Хидрохинонът и неговите етери се идентифицират чрез тънкослойна хроматография
(ТСХ).

3. Реактиви
Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.1. Етанол, 96 % (V/V).

3.2. Хлороформ.

3.3. Диетилов етер.

3.4. Подвижна фаза – хлороформ : диетилов етер = 66 : 33 (V/V).

3.5. Амоняк, 25 % (M/M) (d_4^{20} = 0,91 g/cm^3 (ml).

3.6. Аскорбинова киселина.

3.7. Хидрохинон.

3.8. Хидрохинон монометилов етер.

3.9. Хидрохинон моноетилов етер.

3.10. Хидрохинон монобензилов етер (монобензон).
3.11. Стандартни разтвори

Стандартните разтвори трябва да бъдат приготвени непосредствено преди употреба и са стабилни един ден.

3.11.1. В градуирана епруветка от 10 cm^3 (ml) се претеглят 0,05 g хидрохинон (т. 3.7) с точност 0,001 g. Прибавят се 0,250 g аскорбинова киселина (т. 3.6) и 5 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1). Прибавя се амоняк (т. 3.5), докато pH стане 10, и се долива до обем 10 cm^3 (ml) с етанол (т. 3.1).

3.11.2. В градуирана епруветка от 10 cm^3 (ml) се претеглят 0,05 g хидрохинон монометилов етер (т. 3.8) с точност 0,001 g. Прибавят се 0,250 g аскорбинова киселина (т. 3.6) и 5 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1). Прибавя се амоняк (т. 3.5), докато pH стане 10, и се долива до обем 10 cm^3 (ml) с етанол (т. 3.1).

3.11.3. В градуирана епруветка от 10 cm^3 (ml) се претеглят 0,05 g хидрохинон моноетилов етер (т. 3.9) с точност 0,001 g. Прибавят се 0,250 g аскорбинова киселина (т. 3.6) и 5 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1). Прибавя се амоняк (т. 3.5),

докато pH стане 10, и се долива до обем 10 cm^3 (ml) с етанол (т. 3.1).
3.11.4. В градуирана епруветка от 10 cm^3 (ml) се претеглят 0,05 g хидрохинон монобензилов етер (т. 3.10) с точност 0,001 g. Прибавят се 0,250 g аскорбинова киселина (т. 3.6) и 5 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1). Прибавя се амоняк (т. 3.5), докато pH стане 10, и се долива до обем 10 cm^3 (ml) с етанол (т. 3.1).

3.12. Сребърен нитрат.

3.13. 12-молибденфосфорна киселина.

3.14. Калиев ферицианид хексахидрат.

3.15. Ферихлорид хексахидрат.

3.16. Реактиви за проявяване на петната:
3.16.1. Към 5 % (M/V) воден разтвор на сребърен нитрат (т. 3.12) се прибавя амоняк (т. 3.5), докато образувалата се утайка се разтвори.

Внимание: Разтворът става експлозивно нестабилен при престояване и след употреба трябва да се изхвърли.

3.16.2. 10 % (M/V) разтвор на 12-молибденфосфорна киселина (т. 3.13) в етанол
(т. 3.1).

3.16.3. Приготвя се 1 % (M/V) воден разтвор на калиев ферицианид (т. 3.14) и 2 % (M/V) воден разтвор на ферихлорид (т. 3.15). Преди употреба се смесват равни части от двата разтвора.

4. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване.

4.1. Стандартно оборудване за ТСХ.

4.2. Готови плаки за ТСХ: силикагел GHR/UV_{254}; 20x20 cm (Machery, Nagel или
еквивалентни); дебелина на слоя: 0,25 mm.

4.3. Ултразвукова вана.

4.4. Центрофуга

4.5. Ултравиолетова лампа, 254 nm.
5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

В градуирана епруветка от 10 cm^3 (ml) се претеглят 3,0 g от пробата с

точност
0,001 g. Прибавят се 0,250 g аскорбинова киселина (т. 3.6) и 5 cm^3 (ml) етанол (т. 3.1). Прибавя се амоняк (т. 3.5), докато pH стане 10, и се долива до обем 10 cm^3 (ml) с етанол (т. 3.1). Епруветката се затваря със запушалка и се хомогенизира в ултразвукова вана за 10 min. Филтрува се през филтърна хартия или се центрофугира при 3000 rpm.

5.2. Тънкослойна хроматография

5.2.1. Хроматографската вана се насища с подвижна фаза (т. 3.4).

5.2.2. Върху плаката се нанасят по 2 µl от стандартните разтвори (т. 3.11) и 2 µl от разтвора на пробата (т. 5.1). Хроматограмата се развива на тъмно при стайна температура, докато фронтът на разтворителя достигне разстояние 15 cm
от стартовата линия.

5.2.3. Плаката се изважда и се изсушава при стайна температура.

5.3. Проявяване на петната

5.3.1. Плаката се разглежда под УВ светлина при 254 nm и се отбелязва разположението на петната.

5.3.2. Плаката се напръсква с един от следните реактиви:

а) реактив сребърен нитрат (т. 3.16.1);
б) реактив 12-молибденфосфорна киселина (т. 3.16.2); нагрява се до 120 °C;

в) разтвор на калиев ферицианид и разтвор на ферихлорид (т. 3.16.3).

6. Отчитане на резултатите

Изчислява се Rf стойността на всяко петно.

Сравняват се петната, получени от разтвора на пробата, с петната на стандартните разтвори по отношение на: техните Rf стойности, цвета на петната
при УВ облъчване и цвета на петната след оцветяване с реактивите за напръскване.

Прилага се ВЕТХ, описана в следващия раздел (Б), и се сравняват времената на
задържане на пика (пиковете) на пробата с тези на стандартните разтвори.

Обобщават се резултатите от ТСХ и ВЕТХ, за да се потвърди присъствието на
хидрохинон и/или неговите етери.

7. Забележки

При описаните условия се наблюдават следните Rf стойности:

Хидрохинон – 0,32

хидрохинон монометилов етер – 0,53
хидрохинон моноетилов етер – 0,55

хидрохинон монобензилов етер – 0,58

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на хидрохинон, хидрохинон монометилов етер,
хидрохинон моноетилов етер и хидрохинон монобензилов етер в козметични продукти за осветляване на кожата.

2. Принцип

Пробата се екстрахира със смес вода/метанол при слабо нагряване до стопяване
на всички липидни материали. Определянето на всички търсени вещества се извършва посредством течна хроматография с обърнати фази и УВ детектор.

3. Реактиви

3.1. Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.

3.2. Метанол.

3.3. Хидрохинон.
3.4. Хидрохинон монометилов етер.

3.5. Хидрохинон моноетилов етер.

3.6. Хидрохинон монобензилов етер (монобензон).

3.7. Тетрахидрофуран, "ВЕТХ" чистота.

3.8. Смес вода : метанол = 1:1 (V/V). Смесват се един обем вода с един обем метанол (3.2).

3.9. Подвижна фаза – смес: тетрахидрофуран : вода = 45:55 (V/V). Смесват се 45 обема тетрахидрофуран (3.7) и 55 обема вода.

3.10. Стандартен разтвор

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се претеглят с точност 0,001 g 0,06 g хидрохинон (т. 3.3), 0,08 g хидрохинон монометилов етер (т. 3.4), 0,10 g хидрохинон моноетилов етер (т. 3.5) и 0,12 g хидрохинон монобензилов етер (т. 3.6). Разтварят се и се долива до марката с метанол (т. 3.2).

Стандартният разтвор се приготвя чрез разреждане на 10,00 cm^3 (ml) от този разтвор до 50,00 cm^3 (ml) със смес вода : метанол (т. 3.8). Тези разтвори се приготвят непосредствено преди употреба.

4. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване.
4.1. Водна баня, поддържаща температура 60 °C.

4.2. Високоефективен течен хроматограф с УВ детектор с променяща се дължина
на вълната и дозатор с 10 µl капиляра.

4.3. Аналитична колона

Хроматографска колона от неръждаема стомана, дължина 250 mm, вътрешен диаметър 4,6 mm, пълнеж Zorbax фенил (химически свързан фенетилсилан върху
Zorbax SIL, допълнително дезактивиран (end-capped) с триметилхлорсилан), размер на частиците 6 µ1m или еквивалентна. Да не се използва предколона, различна от "phenyl guard" или еквивалентна.

4.4. Филтърна хартия, диаметър 90 mm, Schleicher & Schull, бяла лента № 5892, или еквивалентна.

5. Процедура

5.1. Приготвяне на пробата

В мерителна колба от 50 cm^3 (ml) се претегля 1 g от пробата (M) с точност 0,001 g. Пробата се диспергира в 25 cm^3 (ml) смес вода/метанол (т. 3.8). Колбата се запушва и се разклаща енергично до получаване на хомогенна суспензия. Разклаща се поне 1 min. Колбата се поставя във водна баня (т. 4.1) при 60 °C за улесняване на екстракцията. Колбата се охлажда и се долива до марката със смес вода/метанол (т. 3.8). Екстрактът се филтрува с филтърна
хартия (т. 4.4). BETX определянето трябва да се извърши в рамките на 24 h от
приготвянето на екстракта.

5.2. Високоефективна течна хроматография

5.2.1. Скоростта на подвижната фаза (т. 3.9) се нагласява на 1,0 cm^3 (ml)/min, а детекторът се настройва на 295 nm.

5.2.2. Дозират се 10 µl от разтвора на пробата, получен, както е описано в 5.1, и се записва хроматограмата. Измерва се площта на пиковете. Извършва се
калибриране, както е описано в т. 5.2.3. Сравняват се хроматограмите, получени за пробата и за стандартния разтвор. Използват се площите на пиковете и коефициентите на детектора (RF), получени съгласно т. 5.2.3, за изчисляване на концентрациите на анализираните вещества в разтвора на пробата.
5.2.3. Стандартна крива

Инжектират се 10 µl от стандартния разтвор (т. 3.10) и се записва хроматограмата. Инжектира се няколко пъти, докато се получи постоянна площ на
пика.

Определя се коефициентът на детектора RFi:

$$RF_i = \frac{P_i}{C_i},$$

където:

Pi е площта на пика на хидрохинона, хидрохинон монометиловия етер, хидрохинон
моноетиловия етер или хидрохинон монобензиловия етер;

Ci – концентрацията на стандартния разтвор (т. 3.10) на хидрохинона, хидрохинон монометиловия етер, хидрохинон моноетиловия етер или хидрохинон
монобензиловия етер в g/50 cm^3 (ml).

Получените хроматограми на стандартния разтвор и на разтвора на пробата трябва да отговарят на следните изисквания:

а) Разделянето на пиковете в най-лошо разделената двойка трябва да бъде не по-малко от 0,90 (за дефиниция на коефициента на разделяне виж фиг. 1).

Ако не е постигнато необходимото разделяне, трябва да се използва по-ефективна колона или друга по състав подвижна фаза до получаване на добро
разделяне.

б) Коефициентът на асиметрия (A_S) на всички получени пикове трябва да бъде в

интервала от 0,9 до 1,5. (За дефиниция на коефициента на асиметрия виж фиг.
2.) Препоръчва се хроматограмата за определяне коефициента на асиметрия да се
записва при скорост най-малко 2 cm/min.
в) Базовата линия трябва да е стабилна.

6. Изчисления

За изчисляване на концентрацията (концентрациите) на анализираното вещество
(вещества) в пробата се използват площите на пиковете на анализираните вещества. Концентрацията на анализираното вещество в пробата се изчислява
като % (M/M) (xi) по формулата:

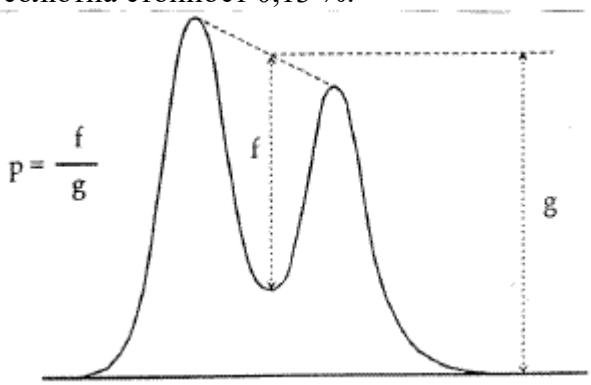
$$x_i \ \% \ (M/M) = \frac{b_i \times 100}{RF_i \times M},$$

където:

M е масата на пробата в g;

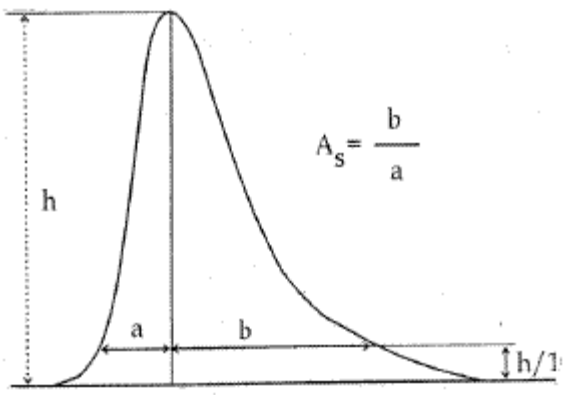
b_i – площта на пика на анализираното вещество в пробата.

7.1. За съдържание на хидрохинон 2,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,13 %.



Фигура 1.

Коефициент на разделяне на пиковете



Фигура 2.

Коефициент на асиметрия на пика

7.2. За съдържание на хидрохинон монометилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,1 %.

7.3. За съдържание на хидрохинон моноетилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,11 %.

7.4. За съдържание на хидрохинон монобензилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,11 %.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

8. Възпроизводимост *

8.1. За съдържание на хидрохинон 2,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба при различни условия (различни
лаборатории, различни аналитици, различни апарати и/или различно време) не
трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,37 %.

8.2. За съдържание на хидрохинон монометилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба при различни
условия (различни лаборатории, различни аналитици, различни апарати и/или
различно време) не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,21 %.

8.3. За съдържание на хидрохинон моноетилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба при различни
условия (различни лаборатории, различни аналитици, различни апарати

и/или
различно време) не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,19 %.

8.4. За съдържание на хидрохинон монобензилов етер 1,0 % разликата между резултатите от две успоредни определяния на една и съща проба при различни
условия (различни лаборатории, различни аналитици, различни апарати и/или
различно време) не трябва да надвишава по абсолютна стойност 0,11 %.
**Забележка.* Виж ISO 5725.

9. Забележки

9.1. Когато е установено съдържание на хидрохинон, значително по-голямо от 2
%, и се изисква по-точна оценка на съдържанието му, екстрактът от пробата (т.
5.1) трябва да се разреди до концентрация, която би се получила от проба, съдържаща 2 % хидрохинон, и определянето се повтаря.

(При някои апарати абсорбцията може да бъде извън интервала на линейност на
детектора при високи концентрации на хидрохинон.)

9.2. Пречещи фактори

Описаният по-горе метод дава възможност за определяне на хидрохинон и негови
етери при единично изократично хроматографиране. Използването на "фенил"
колона осигурява достатъчно време на задържане на хидрохинона, което не може
да се гарантира, когато се използва C_{18} колона с описаната подвижна фаза.

Освен това този метод е податлив на влиянието на пречещи вещества, като редица парабени. В такива случаи определянето трябва да бъде повторено с използване на различни системи подвижна/неподвижна фаза. Подходящи методи
могат да бъдат намерени в публикациите 1 и 2, а именно:

Колона: Zorbax ODS, 4,6 mm x 25 cm или еквивалентна:

Температура – 36 °C

Скорост – 1,5 cm^3 (ml)/min

Подвижна фаза:
за хидрохинон – метанол : вода = 5 : 95 (V/V)

за хидрохинон монометилов етер – метанол : вода = 30 : 70 (V/V)

за хидрохинон монобензилов етер – метанол : вода = 80 : 20 (V/V)
(M.Herpol-Boremans et m.-O.Masse, Identification et dosage de l'hydroquinone et de ses ethers methylique et benzylique dans les produits cosmetiques pour blanchir la peau. Int. J. Cosmet. Sci. 8-203-214 (1986).

Колона: Spherisorb S5-ODS, или еквивалентна:

Подвижна фаза – вода : метанол = 90 : 10 (V/V)

Скорост – 1,5 cm^3 (ml)/min

Тези условия са подходящи за хидрохинон (J.Firth and I.Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, p. 129).

XXXVIII. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ОПРЕДЕЛЯНЕ НА 2-ФЕНОКСИЕТАНОЛ, 1-ФЕНОКСИПРОПАН-2-ОЛ,
МЕТИЛ, ЕТИЛ, ПРОПИЛ, БУТИЛ И БЕНЗИЛ 4-ХИДРОКСИБЕНЗОАТ В КОЗМЕТИЧНИТЕ ПРОДУКТИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЯ

1. Област на приложение

Методът се отнася до тънкослойно-хроматографска процедура, която в комбинация
с методиката за определяне, описана в част Б, позволява идентификацията на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил, етил, пропил, бутил и бензил
4-хидроксибензоат в козметичните продукти.
2. Принцип

Консервантите се извличат от подкислена козметична проба с ацетон. След филтруване ацетоновият разтвор се смесва с вода и мастните киселини се утаяват в алкална среда като техни калциеви соли. Алкалната смес (ацетон/вода) се обработва с диетилов етер за отстраняване на липофилните вещества. След подкисляване консервантите се екстрахират с диетилов етер. Аликвотна част от диетилетерния екстракт се накапва върху плака, покрита с тънък слой силикагел. След проявяване плаката се наблюдава под УВ светлина и
петната се оцветяват с реактива на millon.

3. Реактиви

3.1. Общи положения

Всички реактиви трябва да са с квалификация "чист за анализ" (ч.з.а), а водата – дестилирана или с еквивалентна чистота.

3.2. Ацетон

3.3. Диетилов етер

3.4. н -Пентан

3.5. Метанол

3.6. Оцетна киселина, ледена

3.7. Солна киселина (HCI), разтвор 4 mol/dm^3 (mol/l)
3.8. Калиев хидроксид (КОН), разтвор 4 mol/dm^3 (mol/l)

3.9. Калциев дихлорид дихидрат ($CaCI_2.2H_2O$)

3.10. Реактив за оцветяване на millon. Реактивът на millon (живачен II нитрат) е в наличност в търговската мрежа (Fluka 69820).

3.11. 2-Феноксиетанол

3.12. 1-Феноксипропан-2-ол

3.13. Метил 4-хидроксибензоат (метилпарабен)

3.14. Етил 4-хидроксибензоат (етилпарабен)

3.15. н-Пропил 4-хидроксибензоат (пропилпарабен)

3.16. н-Бутил 4-хидроксибензоат (бутилпарабен)

3.17. Бензил 4-хидроксибензоат (бензилпарабен)

3.18. Стандартни разтвори
За всяко от стандартните вещества (т. 3.11, т. 3.12, т. 3.13, т. 3.14, т. 3.15, т. 3.16 и т. 3.17) се приготвя 0,1 % (M/V) разтвор в метанол.

3.19. Разтворител за проявяване на хроматограмата (подвижна фаза). Смесват се
88 обема n-пентан (т. 3.4) и 12 обема ледена оцетна киселина (т. 3.6).

4. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване и:

4.1. Водна баня с възможност за поддържане на температура 60 °C.

4.2. Съд за проявяване на хроматограмата (хроматографска вана).

4.3. Източник на УВ светлина, 254 nm.

4.4. Плаки за тънкослойна хроматография, 20x20 cm, покрити с 0,25 mm силикагел $60F_{254}$ с концентрирана зона (Merck № 11798, Darmstadt или еквивалентни).

4.5. Пещ с възможност за поддържане на температура 105 °C.

4.6. Сешоар за коса със сух въздух.

4.7. Ролка за нанасяне на реактива на millon с дължина около 10 cm, външен диаметър около 3,5 cm и дебелина на вълнения пласт 2 до 3 mm (виж забележката
под т. 5.2).
4.8. Колби стъклени със запушалки и обем 50 cm^3 (ml).

4.9. Електрическа плоча с терморегулатор и настройка на температурата около
80 °C. За получаване на равномерно разпределение на температурата плочата се покрива с алуминиева пластина с размери 20x20 cm и дебелина около
6 mm.

5. Процедура

5.1. Подготовка на пробата

В колба (т. 4.8) се претегля 1 g от пробата с точност 0,001 g. Прибавят се четири капки разтвор на солна киселина (т. 3.7) и 40 cm^3 (ml) ацетон. За силно алкалните козметични продукти, като тоалетен сапун, се добавят 20 капки
разтвор на солна киселина. Колбата се запушва и съдържанието ѝ се нагрява внимателно до около 60 °C, с което се улеснява екстракцията на консервантите в ацетоновата фаза. Разклаща се в продължение на 1 min, pH на
разтвора се измерва с индикаторна хартия, коригира се до pH ≤ 3 със солна киселина (т. 3.7), повторно се разклаща 1 min и след охлаждане до стайна температура се филтрува през книжен филтър. От филтрата се отпипетират
20 cm^3 (ml) и се разреждат с 60 cm^3 (ml) вода в конусна колба от 200 cm^3 (ml). Разтворът се алкализира с калиев хидроксид (т. 3.8) до pH 10 (по индикаторна хартия), добавя се 1 g калциев дихлорид дихидрат (т. 3.9) и се разклаща енергично. Филтрува се през книжен филтър в делителна фуния от 250
cm^3 (ml), съдържаща 75 cm^3 (ml) диетилов етер. Фунията се разклаща силно 1
min и след отделяне на фазите водният слой се събира в конусна колба от 200 cm^3 (ml). Разтворът се подкислява до pH около 2 с разтвор на солна киселина (т. 3.7) (по индикаторна хартия), добавят се 10 cm^3 (ml) диетилов етер и

отново се разклаща енергично 1 min. Изчаква се двете фази да се разделят и 2
cm^3 (ml) от етерния слой се прехвърлят в епруветка от 5 cm^3 (ml) със запушалка.

5.2. Тънкослойна хроматография

Хроматографската плака (т. 4.4) се поставя върху загрятата плоча (т. 4.9) и на стартовата линия в концентрационната зона се нанасят по 10 µl от стандартните разтвори (т. 3.18) и 100 µl от пробата (т. 5.1). Изпаряването на разтворителя се ускорява с въздушна струя. Изсушената хроматографска плака се
оставя да се охлади до стайна температура, след което се поставя в хроматографска вана (т. 4.2) със 100 cm^3 (ml) подвижна фаза. Хроматографският
процес се провежда при стайна температура и продължава, докато фронтът на
разтворителя стигне на 15 cm от стартовата линия. Плаката се изважда от ваната, суши се с горещ въздух от сешоар (т. 4.6) и се наблюдава под ултравиолетова светлина (т. 4.3). Местата на петната се отбелязват. За отстраняване на излишната оцетна киселина плаката се нагрява 30 min в сушилня
(т. 4.5) при 100 °C. Петната на консервантите се оцветяват с реактива на millon (т. 3.10), който се нанася с ролка (т. 4.7), докато плаката се навлажни равномерно.

Забележка. Петната могат да се оцветят и чрез внимателно накапване на капка
от реактива на millon върху всяко едно петно, маркирано под ултравиолетовата
светлина. Естерите на 4-хидроксибензоената киселина се появяват като червени
петна, 2-феноксиетанол и 1-феноксипропан-2-ол като жълти, 4-хидроксибензоената киселина, която може да се открие в пробите като консервант или като продукт от разлагането на парабените, се появява под формата на червено петно (виж т. 7.3 и т. 7.4).

6. Идентификация

Идентификацията се извършва по Rf стойностите на петната от пробите с тези на
стандартите, както и чрез сравняване на поведението им под ултравиолетова светлина и на цвета им след нанасяне на реактива на millon. Тези данни дават предварителна информация за идентичността на консервантите. Ако се появят
парабени, трябва да се проведе разделяне с високоефективна течна хроматография (ВЕТХ), описана в раздел Б. Получените резултати се комбинират
с тези от тънкослойната хроматография за потвърждаване на присъствието

на
2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол и парабените.

7. Забележка.
7.1. Реактивът на millon е токсичен, поради което се прилага чрез една от описаните процедури. Не се препоръчва пръскането.

7.2. Други съединения, съдържащи хидроксилни групи, могат също да се оцветят
с реактива на millon. Таблица с цветовете и Rf стойностите, получени за някои
консерванти, използвайки тънкослойнохроматографската процедура, е публикувана
в N. De Kruijf, m.A.H. Rijk, L.A. Pranato – Soetardhi и A. Schouten (1987): Определяне на консерванти в козметични продукти. Тънкослойно хроматографска
процедура за идентификацията на консерванти в козметични продукти (J. Chromatography 410, 395-411).

7.3. В следващата таблица са посочени Rf стойностите за някои консерванти. Същите могат да се използват ориентировъчно при идентифициране на изследваните проби.

Съединение	100 x Rf	Цвят
4-хидроксибензоена киселина	11	червен
Метилпарабен	12	червен
Етилпарабен	17	червен
Пропилпарабен	21	червен
Бутилпарабен	26	червен
Бензилпарабен	16	червен
2-феноксиетанол	29	жълт
1-феноксипропан-2-ол	50	жълт

7.4. Не се разделят 4-хидроксибензоената киселина и метилпарабенът. Идентификацията на тези съединения трябва да се потвърди чрез метода на високоефективна течна хроматография (ВЕТХ), описан в част Б, и сравняване на
времената на задържане, получени от пробата, с тези на стандартите.

Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ

1. Област на приложение

Методът се отнася за определяне на 2-феноксиетанол, 1-феноскипропан-2-ол,
метил 4-хидроксибензоат, етил 4-хидроксибензоат, пропил 4-хидроксибензоат,
бутил 4-хидроксибензоат и бензил 4-хидроксибензоат в козметични продукти.

2. Дефиниция

Количествата на консервантите, определени с този метод, се изразяват като %
(M/M).

3. Принцип

Пробата се подкислява чрез добавяне на сярна киселина и суспендира в смес от
етанол и вода. След леко загряване на сместа за втечняване на липидната фаза
и подобряване на количествената екстракция сместа се филтрува. Консервантите
във филтрата се определят чрез обратнофазова ВЕТХ. Като вътрешен стандарт се
използва 4-хидроксибензоат.

4. Реактиви

4.1. Основни положения

Всички реактиви трябва да са с квалификация "за ВЕТХ", а водата – бидестилирана.
4.2. Етанол, абсолютен

4.3. 2-Феноксиетанол

4.4. 1-Феноксипропан-2-ол

4.5. Метил 4-хидроксибензоат (метилпарабен)

4.6. Етил 4-хидроксибензоат (етилпарабен)

4.7. н-Пропил 4-хидроксибензоат (пропилпарабен)

4.8. Изопропил 4-хидроксибензоат (изопропилпарабен)

4.9. н -бутил 4-хидроксибензоат (бутилпарабен)

4.10. Бензил 4-хидроксибензоат (бензилпарабен)

4.11. Тетрахидрофуран

4.12. Метанол
4.13. Ацетонитрил

4.14. Сярна киселина (H2SO4) разтвор 2 mol/dm^3 (mol/l)

4.15. Смес етанол/вода. Смесват се 9 обема етанол (т. 4.2) и 1 обем вода.

4.16. Разтвор на вътрешен стандарт. Претеглят се около 0,25 g с точност 0,001
g изопропилпарабен (т. 4.8), прехвърлят се в мерителна колба от 500 cm^3 (ml)
и след разтваряне се долива до марката със смес етанол/вода (т. 4.15)

4.17. Подвижна фаза: тетрахидрофуран/вода/метанол/ацетонитрил.

Смесват се 5 обема тетрахидрофуран, 60 обема вода, 10 обема метанол и 25 обема ацетонитрил.

4.18. Изходни стандартни разтвори на консервантите. Претеглят с точност 0,001
g 0,2 g 2-феноксиетанол, 0,2 g 1-феноксипропан-2-ол, 0,05 g метилпарабен, 0,05 g етилпарабен, 0,05 g бутилпарабен и 0,025 g бензилпарабен в мерителни
колби от 100 cm^3 (ml) и разтворите се доливат до марката със смес етанол/вода
(т. 4.15).

Разтворите са стабилни до една седмица при съхраняване в хладилник.

4.19. Стандартни разтвори на консервантите. От изходните стандартни разтвори
(т. 4.18) се прехвърлят съответно 20,00 cm^3 (ml), 10 cm^3 (ml) 5,00 cm^3 (ml), 2,00 cm^3 (ml) и 1,00 cm^3 (ml) в мерителни колби от 50 cm^3 (ml). Във всяка колба се прибавят по 10 cm^3 (ml) разтвор на вътрешния стандарт (т. 4.16) и 1,0 cm^3 (ml) разтвор на сярна киселина (т. 4.14) и се долива до марката със смес етанол/вода (т. 4.15). Разтворите трябва да са приготвени непосредствено
преди употреба.

5. Апаратура

Стандартно лабораторно оборудване и:
5.1. Водна баня с възможност за поддържане на температура 60 °C ± 1 °C.

5.2. Хроматограф за високоефективна течна хроматография с УВ детектор, дължина на вълната 280 nm.

5.3. Аналитична колона от неръждаема стомана 25 cm x 4,6 mm (или 12,5 cm x
4,6 mm), съдържаща Nucleosil 5C18 или еквивалент (виж т. 10.1).

5.4. Стъклени колби от 100 cm^3(ml) със запушалки.

5.5. Пемза с размери на зърната от 2 mm до 4 mm.

6. Процедура

6.1. Подготовка на пробата

6.1.1. Подготовка на пробата без добавяне на вътрешен стандарт.

Претегля се около 1,0 g от пробата с точност 0,001 g в стъклена колба от 100 cm^3 (ml) със запушалка (т. 5.4). Добавят се 1,0 cm^3 (ml) разтвор на сярна киселина (т. 4.14), 50,0 cm^3 (ml) етанол/водна смес (т. 4.15) и около 1,0 g пемза (т. 5.5). Колбата се запушва и се разклаща силно, докато се получи хомогенна суспензия. За улесняване екстракцията на консервантите в етаноловата фаза колбата се нагрява 5 min на водна баня (т. 5.1) при температура 60 °C ± 1 °C. След това се охлажда бързо на течаща студена вода и престоява в хладилник 1 h. Филтрува се през книжен филтър и
около 2 cm^3 (ml) от филтрата се прехвърлят в епруветка от 5 cm^3 (ml) със запушалка. Екстрактът се съхранява в хладилник. ВЕТХ определянето трябва да
се извърши до 24 h.

6.1.2. Подготовка на пробата с добавяне на вътрешен стандарт

Претегля се около 1,0 g ± 0,1 от пробата с точност 0,001 g и се прехвърля в колба от 100 cm^3 (ml). Добавят се 1,0 cm^3 (ml) разтвор на сярна киселина (т. 4.14) и 40 cm^3 (ml) смес етанол/вода (т. 4.15), около 1,0 g пемза (т. 5.5) и точно 10,0 cm^3 (ml) разтвор на вътрешен стандарт (т. 4.16). Колбата се запушва и се разклаща силно най-малко 1 min, докато се получи хомогенна емулсия. За улесняване екстракцията на консервантите в етаноловата
фаза колбата се загрява 5 min на водна баня при температура 60 °C ± 1 °C, след което се охлажда бързо на течаща студена вода и престоява в хладилник 1 h. Филтрува се през книжен филтър. Около 2 cm^3 (ml) от филтрата
се прехвърлят в епруветка от 5 cm^3 (ml) със запушалка. Съхранява се в хладилник до провеждане на ВЕТХ определянето.
6.2. Високоефективна течна хроматография (ВЕТХ)

6.2.1. Хроматографски условия:

Подвижна фаза – тетрахидрофуран/вода/метанол/ацетонитрил (т. 4.17)

Скорост на потока – 1,5 cm^3/min (ml/min)

Дължина на вълната – 280 nm

6.2.2. Стандартна крива

Инжектират се по 10 µl от стандартните разтвори на консервантите (т. 4.19). От получените хроматограми се определят съотношенията на височината на пиковете на стандартните разтвори на консервантите към височината на пика на
вътрешния стандарт. Построява се крива за всеки консервант, свързваща тези съотношения с концентрацията на стандартните разтвори.

6.2.3. Определяне

Инжектират се последователно по 10 µl от разтвора на пробата без вътрешен стандарт (т. 6.1.1) и на един от стандартните разтвори на консерванта (т. 4.19) и получените хроматограми се сравняват. Ако в хроматограмата на пробата
(т. 6.1.1) не се появи пик, с приблизително същото време на задържане като това на изопропилпарабена (препоръчан като вътрешен стандарт), се инжектират
10 µl разтвор на пробата с вътрешен стандарт (т. 6.1.2). Хроматограмата се изписва и се измерват височините на пиковете. Ако в хроматограмата на пробата
се появи пречещ пик с приблизително същото време на задържане като това на
изопропилпарабена, трябва да се избере друг вътрешен стандарт.

Когато пикът на някои от изследваните консерванти не присъства в хроматограмата на пробата, този консервант може да се използва като алтернативен вътрешен стандарт.

Изчисляват се съотношенията на височината на пика на изследваните консерванти
към тези на вътрешния стандарт и се проверява дали за стандартните разтвори,
използвани в процедурата за калибриране, се получава линейна зависимост. Получените хроматограми на стандартния разтвор и на разтвора на пробата трябва да отговарят на следните изисквания:

а) Разделянето на пиковете (р) на най-лошо разделената двойка трябва да бъде
не по-малко от 0,90 (за дефиниция на пиково разделяне виж фиг. 1).

Ако не е постигнато необходимото разделяне, трябва да се използва по-ефективна колона или друга по състав подвижна фаза.

б) Коефициентът на асиметрия (As) на всички получени пикове трябва да бъде в
интервала от 0,9 до 1,5 (за дефиницията на коефициент на асиметрия виж фиг.
2).

Препоръчва се хроматограмата за определяне коефициента на асиметрия да

се
записва при скорост най-малко 2 cm/min.

в) Базовата линия трябва да е стабилна.

7. Изчисление

Изчисляването на концентрациите на консервантите в разтвора на пробата се извършва по стандартната крива (т. 6.2.2) и съотношенията на височините на пиковете на изследваните консерванти към тази на вътрешния стандарт. Съдържанието на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксибензоат, етил 4-хидроксибензоат, пропил 4-хидроксибензоат, бутил
4-хидроксибензоат и бензил 4-хидроксибензоат (Wi) се изчисляват като % (M/M)
по формулата:

$$\% W_i (M/M) = \frac{b_i}{200 \times M},$$

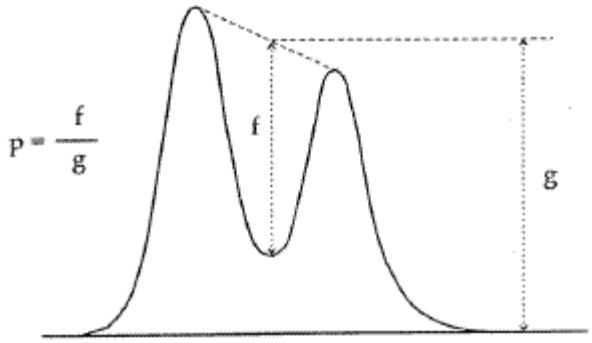
където:

bi е концентрацията на консерванта i в разтвора на пробата, отчетена по стандартната крива в μg/dm^3 (μg/l);
M – масата на изпитваната проба в g.

8. Повторяемост*

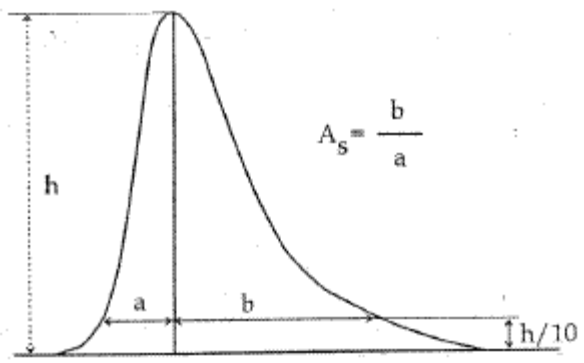
Виж т. 10.5.

**Забележка.* Виж ISO 5725.



Фигура 1.

Коефициент на разделяне на пиковете



Фигура 2.

Коефициент на асиметрия на пика

9. Възпроизводимост *

Виж 10.5.

**Забележка.* Виж ISO 5725.

10. Забележки:

10.1. Стационарна фаза

При ВЕТХ определянето на задържането на веществата от пробата зависи в голяма
степен от вида, марката и предварителната подготовка на неподвижната фаза.
Изборът на колоната, която ще се използва за разделяне на изследваните
консерванти, се решава от получените резултати за стандартните разтвори (виж
т. 6.2.3). Други подходящи неподвижни фази за пълнеж на колоната са Hypersil
ODS и Zorbax ODS. Препоръчаният състав на подвижната фаза също може да се
оптимизира, за да се получи необходимото разделяне.

10.2. Дължина на вълната, при която се извършва определянето.

Проверката за годността на описаната методика показва, че известна промяна в
дължината на вълната на определяне може да окаже значителен ефект върху
резултата, поради което този параметър трябва да бъде внимателно контролиран
при провеждане на анализа.

10.3. Пречещи влияния
При посочените условия от пробата се елуират и много други съединения, като

консерванти и козметични добавки. Времената на задържане на голям брой консерванти, описани в Приложение № V на Регламент (ЕО) № 1223/2009, са цитирани в N.de Kruijf, m.A.H. Rijk, L.A.Pranato-Soetardhi и A. Schouten. Определяне на консерванти в козметични продукти. II Високоефективна течнохроматографска процедура за идентифициране на консерванти в козметични
продукти (J.Chromatography 1989, 469, 317-318).

10.4. За да се избере подходяща аналитична колона, може да се използва подходяща колона гард.

10.5. Методът е изпитан от девет лаборатории – участници, всяка от които е анализирала по три проби. Средните стойности от всички лаборатории в % M/M
(m) повторяемост (r) и възпроизводимост (R) за трите проби са посочени в таблицата:

Проба		2-фенокси-етанол	1-фенокси-пропан-2-ол	Метил-парабен	Етил-парабен	Пропил-парабен	Бутил-парабен	Бензил-парабен
Витаминов крем	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	
Бързопочистващ крем	m	1,196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Масажен крем	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