



MONITORUL OFICIAL

AL

ROMÂNIEI

Anul 175 (XIX) — Nr. 230 bis

PARTEA I
LEGI, DECRETE, HOTĂRÂRI ȘI ALTE ACTE

Marti, 3 aprilie 2007

SUMAR

Pagina

Anexele nr. 1—39 la Ordinul ministrului economiei și comerțului și al ministrului sănătății publice nr. 1.504/138/2007 privind metodele de analiză a compoziției produselor cosmetice în vederea controlului acestora	3—108
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------

ACTE ALE ORGANELOR DE SPECIALITATE ALE ADMINISTRAȚIEI PUBLICE CENTRALE

MINISTERUL ECONOMIEI ȘI COMERȚULUI
Nr. 1.504 din 12 ianuarie 2007

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII PUBLICE
Nr. 138 din 26 ianuarie 2007

ORDIN

privind metodele de analiză a compoziției produselor cosmetice în vederea controlului acestora*)

În temeiul Hotărârii Guvernului nr. 738/2003 privind organizarea și funcționarea Ministerului Economiei și Comerțului, cu modificările și completările ulterioare, și al Hotărârii Guvernului nr. 862/2006 privind organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății Publice,

ministrul economiei și comerțului și ministrul sănătății publice emit următorul ordin:

Art. 1. — Metodele de analiză a compoziției produselor cosmetice în vederea controlului acestora sunt prevăzute în anexele nr. 1—39, care fac parte integrantă din prezentul ordin.

Art. 2. — (1) La data intrării în vigoare a prezentului ordin se abrogă Ordinul ministrului industriei și resurselor și ministrului sănătății și familiei nr. 399/870/2001 privind metodele de analiză a compoziției produselor cosmetice în vederea controlului calității acestora, publicat în Monitorul Oficial al României, Partea I, nr. 203 din 26 martie 2002.

(2) Prezentul ordin transpune în legislația națională prevederile Directivei 80/1335/CEE referitoare la metode de analiză a compoziției produselor cosmetice, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 383 din 31 decembrie 1980, amendată prin Directiva 87/143/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 057 din 27 februarie 1987, ale Directivei 82/434/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 185 din 30 iunie 1982, amendată prin Directiva 90/207/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 108 din 28 aprilie 1990, ale Directivei 83/514/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 291 din 24 octombrie 1983, ale Directivei 85/490/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 295 din 7 noiembrie 1985, ale Directivei 93/73/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 231 din 14 septembrie 1993, ale Directivei 95/32/CEE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 178 din 28 iulie 1995, ale Directivei 96/45/CE, publicată în Jurnalul Oficial al Comunităților Europene L 213 din 22 august 1996.

Art. 3. — Prezentul ordin va fi publicat în Monitorul Oficial al României, Partea I.

Ministrul economiei și comerțului,
Varujan Vosganian

Ministrul sănătății publice,
Gheorghe Eugen Nicolăescu

*) Ordinul nr. 1.504/138/2007 a fost publicat în Monitorul Oficial al României, Partea I, nr. 230 din 3 aprilie 2007 și este reprodus și în acest număr bis.

LISTA**metodelor de analiză a compoziției produselor cosmetice
în vederea controlului calității acestora, prevăzute în anexele nr. 2—39**

1. Metodă pentru prelevarea de probe de produse cosmetice, prezentată în anexa nr. 2.
2. Metodă pentru prepararea în laborator a probelor pentru testare, prezentată în anexa nr. 3.
3. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru hidroxid de sodiu și hidroxid de potasiu în stare liberă, prezentată în anexa nr. 4.
4. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru acid oxalic și pentru sărurile sale alcaline din produsele pentru îngrijirea părului, prezentată în anexa nr. 5.
5. Metodă de determinare cantitativă pentru cloroform din produsele pentru îngrijirea dinților, prezentată în anexa nr. 6.
6. Metodă de determinare cantitativă pentru zincul din sărurile sale conținute în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 7.
7. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru acid 4-hidroxibenzensulfonic, prezentată în anexa nr. 8.
8. Metodă de identificare pentru agenții oxidanți și de determinare cantitativă pentru apa oxigenată din produsele pentru îngrijirea părului, prezentată în anexa nr. 9.
9. Metodă de identificare și determinare semicantitativă pentru anumiți coloranți oxidanți din produsele pentru îngrijirea părului (nuanțatoare și decolorante), prezentată în anexa nr. 10.
10. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru nitriți în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 11.
11. Metodă de determinare cantitativă pentru rezorcinol din produsele pentru îngrijirea părului, prezentată în anexa nr. 12.
12. Metodă de determinare cantitativă pentru metanol față de etanol sau 2-propanol, prezentată în anexa nr. 13.
13. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru formaldehida liberă, prezentată în anexa nr. 14.
14. Metodă de determinare cantitativă pentru diclormetan și pentru 1,1,1-triclorețan, prezentată în anexa nr. 15.
15. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru 8-chinolinol și pentru bis (8-hidroxichinolin) sulfat, prezentată în anexa nr. 16.
16. Metodă de determinare cantitativă pentru amoniac liber în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 17.
17. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru nitrometan, prezentată în anexa nr. 18.
18. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru acid mercaptoacetic din produsele pentru îngrijirea părului și din depilatoare, prezentată în anexa nr. 19.
19. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru hexaclorofen, prezentată în anexa nr. 20.
20. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru tosilcloramida de sodiu (cloramina-T), prezentată în anexa nr. 21.
21. Metodă de determinare cantitativă pentru fluorul total din produsele pentru îngrijirea dinților, prezentată în anexa nr. 22.
22. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru compuși organo-mercurici, prezentată în anexa nr. 23.
23. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru sulfuri alcaline și alcalino-pământoase, prezentată în anexa nr. 24.
24. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru alfa-monogliceril (4-aminobenzoat), prezentată în anexa nr. 25.
25. Metodă de determinare cantitativă pentru clorbutanol, prezentată în anexa nr. 26.
26. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru chinină în produsele pentru îngrijirea părului, prezentată în anexa nr. 27.
27. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru sulfiți anorganici și sulfiți acizi, prezentată în anexa nr. 28.
28. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru clorați ai metalelor alcaline, prezentată în anexa nr. 29.
29. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru iodat de sodiu, prezentată în anexa nr. 30.
30. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru azotat de argint în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 31.
31. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru bisulfura de seleniu din produsele pentru îngrijirea părului, prezentată în anexa nr. 32.

32. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru bariul solubil și pentru stronțitul solubil din bazele nuanțatoare (din pigmenți sub formă de săruri sau lacuri), prezentată în anexa nr. 33.

33. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru alcool benzilic în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 34.

34. Metodă de identificare pentru zirconiu și metodă de determinare cantitativă pentru zirconiu, aluminiu și clor din antiperspirante nonaerosolice, prezentată în anexa nr. 35.

35. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru hexamidină, dibromhexamidină, dibrompropamidină și clorhexidină, prezentată în anexa nr. 36.

36. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru acid benzoic, acidul 4-hidroxibenzoic, acidul sorbic, acidul salicilic și acidul propionic, prezentată în anexa nr. 37.

37. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru hidrochinonă, monometileter hidrochinonă, monoetileter hidrochinonă, monobenzileter hidrochinonă, prezentată în anexa nr. 38.

38. Metodă de identificare și determinare cantitativă pentru 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropan-2-ol și 4-hidroxibenzoat de: metil, etil, propil, butil sau benzil în produsele cosmetice, prezentată în anexa nr. 39.

ANEXA Nr. 2

M E T O D Ă

pentru prelevarea de probe de produse cosmetice

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda descrisă reglementează prelevarea de probe care urmează a fi analizate în scopul controlului compoziției produselor cosmetice.

2. DEFINIȚII

2.1. *Probă de bază*: o unitate luată dintr-un lot de fabricație oferit spre comercializare.

2.2. *Probă totală*: suma tuturor probelor de bază având același număr de lot de fabricație.

2.3. *Probă de laborator*: o fracție reprezentativă din proba totală care urmează a fi analizată în laboratoarele specializate de profil.

2.4. *Probă pentru testare*: o porțiune reprezentativă din proba de laborator care este necesară pentru o analiză.

2.5. *Recipient*: ambalajul primar care conține produsul și este în contact direct și continuu cu acesta.

3. PROCEDEU PENTRU PRELEVARE DE PROBE

3.1. Probele de produse cosmetice vor fi prelevate în recipientele lor originare și vor fi înaintate nedeschise laboratoarelor de analiză specializate de profil.

3.2. Pentru produsele cosmetice care sunt puse pe piață în vrac sau comercializate en-détail într-un recipient diferit de cel original al producătorului, trebuie stabilite instrucțiuni specifice pentru prelevarea de probe la locul utilizării sau comercializării.

3.3. Numărul de probe de bază necesare pentru prepararea probei de laborator va fi determinat de numărul de analize necesare și de metodele de analiză reglementate care urmează a fi aplicate în laboratoarele specializate de profil.

4. IDENTIFICAREA PROBEI

4.1. Probele vor fi sigilate la locul de preluare și identificate în conformitate cu principiile de bună practică de laborator.

4.2. Fiecare probă de bază prelevată va fi etichetată cu următoarele date:

- numele produsului cosmetic;
- data, ora și locul de prelevare a probei;
- numele persoanei responsabile de prelevarea probei;
- numele organismului de control care efectuează verificarea produsului cosmetic.

4.3. Se va redacta un raport privind prelevarea probelor, în conformitate cu principiile de bună practică de laborator sau prevederile standardului ISO 17025.

5. DEPOZITAREA PROBELOR

5.1. Probele de bază trebuie depozitate în conformitate cu instrucțiunile specificate pe etichetă de către producător, dacă acestea există.

5.2. Probele de laborator vor fi depozitate la întuneric, la temperaturi între 10° C și 25° C, dacă nu sunt specificate alte condiții de către producător.

5.3. Probele de bază nu se deschid până la începerea analizei.

M E T O D Ă

pentru prepararea în laborator a probelor pentru testare

1. GENERALITĂȚI

1.1. Acolo unde este posibil, analizele vor fi efectuate pe fiecare probă de bază. Dacă proba de bază este prea mică, trebuie utilizat un număr minim de probe de bază. Prelevarea probei pentru testare se face după ce s-au amestecat perfect împreună toate probele de bază.

1.2. Se deschide recipientul, în atmosfera de gaz inert dacă acest lucru este specificat în metoda de analiză, și se extrag rapid probele pentru testare necesare. Proba pentru testare trebuie analizată în laborator în cel mai scurt timp posibil după prelevare, pentru a înlătura orice risc de degradare sau contaminare. Dacă proba pentru testare trebuie conservată, recipientul trebuie resigilat sub un gaz inert.

1.3. Produsele cosmetice pot fi în fază lichidă, solidă sau semisolidă. Dacă un produs inițial omogen s-a separat pe faze, acesta trebuie reomogenizat înainte de a se preleva proba pentru testare.

1.4. Dacă produsul cosmetic este pus în vânzare sub o formă specială care nu permite prelevarea de probe pentru testare în conformitate cu instrucțiunile de la pct. 1.1-1.3. și dacă nu există o altă metodă reglementată, se poate adopta o metodă originală, cu condiția ca aceasta să fie specificată în scris în raportul de analiză.

2. PREPARAREA ÎN LABORATOR A PROBELOR PENTRU TESTARE PRODUSE COSMETICE LICHIDE

2.1. Produsele cosmetice lichide sunt: soluțiile în ulei, în alcool și în apă, apele de toaletă, loțiunile sau emulsiile fluide. Se ambalează în flacoane, sticle, fiole sau tuburi.

2.2. Extragerea probei pentru testare:

- se agită foarte bine recipientul înainte de a fi deschis;
- se deschide recipientul;
- se toarnă câțiva mililitri de lichid într-o eprubetă pentru examinarea vizuală a caracteristicilor produsului, în scopul extragerii probei pentru testare — se resigilează recipientul sau
- se extrag probele necesare pentru testare;
- se resigilează cu grijă recipientul.

3. PREPARAREA ÎN LABORATOR A PROBELOR PENTRU TESTARE PRODUSE COSMETICE SEMISOLIDE

3.1. Produsele cosmetice semisolide sunt: pastele, cremele, emulsiile dense și gelurile. Se ambalează în tuburi, recipiente din plastic sau sticlă.

3.2. Extragerea probei pentru testare, în cazul:

- 3.2.1. — recipientelor cu gât îngust. Se îndepărtează cel puțin primul centimetru din produs, se extrage proba pentru testare și se resigilează imediat recipientul.
- 3.2.2. — recipientelor cu gât larg. Se răzuie suprafața în vederea îndepărtării stratului de deasupra, se extrage proba pentru testare și se resigilează imediat recipientul.

4. PREPARAREA ÎN LABORATOR A PROBELOR PENTRU TESTARE PRODUSE COSMETICE SOLIDE

4.1. Produsele cosmetice solide sunt: pudrele pulbere, pudrele compacte, batoanele. Se ambalează într-o mare varietate de recipiente.

4.2. Extragerea probei pentru testare, în cazul:

- 4.2.1. — pudrei pulbere: se agită puternic înainte de deșurubarea capacului sau deschidere. Se deschide și se extrage proba pentru testare.
- 4.2.2. — pudrei compacte sau batoanelor: se îndepărtează stratul de suprafață prin răzuire uniformă și se extrage proba pentru testare din zona curățată.

5. PREPARAREA ÎN LABORATOR A PROBELOR PENTRU TESTARE PRODUSE COSMETICE DIN RECIPIENTE PRESURIZATE (produse pulverizate ca aerosoli, ambalate în pulverizatoare de aerosoli)

5.1. Produse în recipiente presurizate sunt produse care sunt eliberate din recipient cu ajutorul agenților de pulverizare (propulsori).

5.2. Extragerea probei pentru testare:

După o agitare puternică, o cantitate reprezentativă din conținutul pulverizatorului de aerosoli (din produsul pulverizat ca aerosoli) este transferată cu ajutorul unui dispozitiv de conectare adecvat (vezi figura 1; în cazuri speciale metodele de analiză pot necesita utilizarea altor dispozitive de conectare) într-un flacon de sticlă cu înveliș exterior din material plastic (figura 4) prevăzut cu ventil

pentru produse pulverizate (aerosoli), dar neechipat cu tub de imersie. În timpul transferului, flaconul este ținut cu ventilul în jos. Acest transfer face conținutul flaconului vizibil, pentru detectarea caracteristicilor produsului prelevat, care se pot înscrie în unul dintre următoarele patru cazuri:

5.2.1. Un produs pulverizat ca aerosoli sub formă de soluție omogenă, corespunzător pentru analiză directă.

5.2.2. Un produs pulverizat ca aerosoli constând din două faze lichide. Fiecare fază poate fi analizată după ce faza inferioară a fost separată și transferată într-un alt flacon. În acest caz primul flacon de transfer este ținut cu ventilul în jos. Într-o astfel de situație faza inferioară este adesea un lichid separat de gazul propulsor (ex. formula butan/apă).

5.2.3. Un produs pulverizat ca aerosoli conținând o pudră în suspensie. Faza lichidă poate fi analizată după îndepărtarea pudrei.

5.2.4. Un produs pulverizat ca spumă sau cremă. În primul rând se cântăresc exact într-un flacon de transfer 5-10 g de 2-metoxietanol. Această substanță previne formarea de spumă în timpul operației de degazare și astfel este posibilă îndepărtarea gazului propulsor fără pierderi de produs lichid.

5.3. Accesorii

Dispozitivul de conectare (figura 1) este confecționat din duraluminiu sau alamă. Este proiectat pentru a putea fi adaptat la diferite tipuri de ventile, prin intermediul unui adaptor de polietilenă. Dispozitivul de conectare din figura 1 este dat ca exemplu; pot fi utilizate și alte dispozitive de conectare (vezi figura 2 și figura 3).

Flaconul de transfer (figura 4) este confecționat din sticlă albă cu înveliș exterior protector din material plastic transparent. Capacitatea volumică este de 50 la 100 ml. Este prevăzut cu un ventil pentru produse pulverizate (aerosoli) fără tub de imersie.

5.4. Procedeu

Pentru ca să poată fi transferată o cantitate suficientă de probă, flaconul de transfer trebuie degazat (golit de aer). În acest scop, se introduc prin intermediul dispozitivului de conectare circa 10 ml de diclorodiflormetan sau butan (în funcție de produsul pulverizat ca aerosoli care trebuie examinat) și apoi se degazează complet până când faza lichidă dispăre, ținând flaconul de transfer cu ventilul în poziția cea mai înaltă. Se îndepărtează dispozitivul de conectare. Se cântărește flaconul de transfer („a” grame). Se agită puternic pulverizatorul de aerosoli din care urmează să se ia proba. Se atașează conectorul la ventilul de pe recipientul pulverizator de aerosoli (ventilul orientat în sus), se conectează flaconul de transfer (cu gâtul orientat în jos) la conector și se apasă. Se umple flaconul de transfer aproximativ două treimi din volum. Dacă transferul încetează prematur datorită egalizării presiunii, se poate relua prin răcirea flaconului de transfer. Se îndepărtează dispozitivul de conectare, se cântărește flaconul umplut („b” grame) și se determină greutatea probei de produs (pulverizat ca aerosoli) transferată, m_1 :

$$(m_1 = b - a).$$

Proba astfel obținută poate fi utilizată pentru:

- analize chimice obișnuite;
- analiza chimică a componentelor volatili prin cromatografie de gaze.

5.4.1. Analiza chimică

Ținând flaconul de transfer cu ventilul orientat în sus, se procedează după cum urmează:

— se degazează. Dacă operația de degazare produce spumare, se utilizează un flacon de transfer în care a fost introdusă în prealabil, cu o seringă, prin dispozitivul de conectare, o cantitate exact cântărită (între 5 și 10 g) de 2-metoxietanol;

— se definitivează îndepărtarea constituenților volatili fără pierderi prin agitarea într-o baie de apă menținută la 40°C. Se detașează conectorul;

— se recântărește flaconul de transfer („c” grame) în scopul de a determina greutatea reziduului, M_2 ($M_2 = c - a$).

(NB: Când se calculează greutatea reziduului, se scade greutatea cantității de 2-metoxietanol utilizat.)

- se deschide flaconul de transfer prin îndepărtarea ventilului;
- se dizolvă complet reziduul într-o cantitate cunoscută dintr-un solvent adecvat;
- se efectuează determinarea dorită.

Formulele de calcul sunt:

$$R = \frac{r \times M_2}{m_1} \text{ și } Q = \frac{R \times P}{100}$$

unde:

m_1 = masa de produs pulverizat prelevată în flaconul de transfer;

M_2 = masa reziduului după încălzirea la 40° C;

R = procentul de substanță specifică în M_2 (determinat conform unei metode reglementate);

R = procentul de substanță specifică în aerosolul colectat;

Q = masa totală a substanței specifice în pulverizatorul de aerosoli;

P = masa netă a pulverizatorului de aerosoli inițial (proba de bază).

5.4.2. Analiza constituenților volatili prin cromatografie de gaze

5.4.2.1. Principiu

Utilizând o seringă de cromatografie de gaze, se ia o cantitate adecvată din flaconul de transfer. Se injectează conținutul seringii într-un cromatograf de gaze.

5.4.2.2. Accesorii

Seringă de cromatografie de gaze (figura 5) de 25 μ l sau 50 μ l, seria A2 „precision sampling”, sau echivalent. Această seringă este echipată cu un ventil cu sertar la capătul cu ac. Seringa este conectată la flaconul de transfer prin intermediul unui conector și al unui tub de polietilenă (lungime 8 mm, diametru interior 2,5 mm).

5.4.2.3. Procedeu

După ce o cantitate adecvată de produs pulverizat ca aerosoli a fost preluată în flaconul de transfer, se montează capătul conic al seringii la flaconul de transfer așa cum este descris la 5.4.2.2. Se deschide ventilul și se aspiră o cantitate adecvată de lichid. Se elimină bulele de gaz prin acționarea pistonului de mai multe ori (se răcește seringă dacă este necesar). Se închide ventilul în momentul când seringă conține cantitatea potrivită de lichid fără bule de gaz și se detașează seringă de flaconul de transfer. Se montează acul, se introduce seringă în injectorul cromatografului de gaze, se deschide ventilul și se injectează.

5.4.2.4. Standard intern

Dacă este necesar un standard intern, acesta este introdus în flaconul de transfer (cu ajutorul unei seringi obișnuite din sticlă, folosind un conector).

ANEXA Nr. 4

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru hidroxid de sodiu și hidroxid de potasiu în stare liberă

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează metoda de identificare a produselor cosmetice conținând cantități semnificative de hidroxid de sodiu și/sau potasiu liber și pentru determinare cantitativă pentru hidroxizii de sodiu și/sau potasiu liberi în preparatele pentru întărirea părului și în preparatele pentru dizolvarea cuticulelor unghiilor.

2. DEFINIȚIE

Hidroxidul de sodiu și potasiu liber este definit de volumul de acid standard necesar pentru neutralizarea produsului în condiții specifice, cantitatea rezultată fiind exprimată ca % de masă hidroxid de sodiu liber.

3. PRINCIPIU

Proba este dizolvată sau dispersată în apă și titrată cu o soluție de concentrație de acid standard. Valoarea pH-ului este înregistrată concomitent cu adăugarea de acid: pentru o soluție simplă de hidroxizi de sodiu sau potasiu punctul final este dat de variația valorii înregistrate a pH-ului.

Curba de titrare simplă poate fi alterată de prezența următoarelor substanțe:

a) Amoniac sau alte baze organice slabe, care au chiar ele o curbă de titrare destul de plată. Amoniacul este îndepărtat în această metodă prin evaporarea la presiune scăzută, dar la temperatura camerei.

b) Săruri ale acizilor slabi, care pot da naștere la o curbă de titrare cu mai multe puncte de inflexiune. În astfel de cazuri numai prima parte a curbei până la primul dintre aceste puncte de inflexiune corespunde neutralizării ionului hidroxil provenind din hidroxidul de sodiu sau potasiu liber.

Acolo unde apare interferență excesivă datorată sărurilor acizilor anorganici slabi, este indicat un procedeu alternativ de titrare în alcool.

Există posibilitatea teoretică ca alte baze tari solubile, de ex. hidroxidul de litiu, hidroxidul de tetraamoniu, să fie prezente dând naștere la o valoare mare a pH-ului, însă prezența acestora în acest tip de produse cosmetice este foarte puțin probabilă.

4. IDENTIFICARE

4.1. Reactivi

4.1.1 Soluție tampon alcalină cu pH 9,18 la 25° C: 0,05 M tetraborat de sodiu decahidratat.

4.2. Aparatură

- 4.2.1. Sticlărie obișnuită de laborator
- 4.2.2. pH-metru
- 4.2.3. Electrode de sticlă
- 4.2.4. Electrode de referință (de calomel)

4.3. Procedeu

Se etalonează pH-metrul cu electrozi folosind o soluție tampon standard. Se prepară o soluție sau o dispersie 10%, în apă, a produsului care urmează a fi analizat și se filtrează. Se măsoară pH-ul. Dacă pH-ul este 12 sau mai mare este necesară o determinare cantitativă.

5. DETERMINARE**5.1. Titrare în mediu apos***5.1.1. Reactivi*

- 5.1.1.1. Acid clorhidric 0,1 N

5.1.2. Aparatură

- 5.1.2.1. Sticlărie obișnuită de laborator
- 5.1.2.2. pH-metru de preferință cu înregistrare
- 5.1.2.3. Electrode de sticlă
- 5.1.2.4. Electrode de referință (de calomel)

5.1.3. Procedeu

Într-un pahar de 150 ml se cântărește cu precizie o probă de testare cu masa cuprinsă între 0,5 și 1,0 g. În prezența urmelor de amoniac se adaugă câteva granule antisoc, se pune paharul într-un exsicator cu vid, se evacuează folosind o pompă de apă până când mirosul de amoniac nu mai este detectabil (circa trei ore).

Se adaugă 100 ml apă, se dizolvă sau se dispersează reziduul și se titrează cu soluție acid clorhidric 0.1.N (5.1.2.1.) înregistrând schimbarea de pH (5.1.2.2.).

5.1.4. Calcul

Se identifică punctele de inflexiune pe curba de titrare. Dacă primul punct de inflexiune apare la un pH sub 7, proba este liberă de hidroxid de sodiu sau potasiu.

Dacă sunt două sau mai multe puncte de inflexiune pe curbă, atunci numai primul este relevant.

Se notează volumul de titrant la acest prim punct de inflexiune.

Fie V volumul de titrant, în ml, și M masa probei testate, în grame.

Conținutul de hidroxid de sodiu și/sau potasiu în probă, exprimat ca % de masă hidroxid de sodiu, se calculează folosind formula:

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

Situația poate evolua de așa natură încât, în ciuda indicațiilor prezenței unei cantități semnificative de hidroxizi de sodiu și/sau potasiu, curba de titrare să nu indice un punct distinct de inflexiune. În acest caz determinarea trebuie repetată în izopropanol.

5.2. Titrarea în izopropanol*5.2.1. Reactivi*

- 5.2.1.1. Izopropanol
 - 5.2.1.2. Acid clorhidric standard, soluție apoasă 1,0 N
- Acid clorhidric 0,1 N în izopropanol preparat imediat înaintea folosirii prin diluarea acidului clorhidric 1,0 N în izopropanol.

5.2.2. Aparatură

- 5.2.2.1. Sticlărie uzuală de laborator
- 5.2.2.2. pH-metru de preferință cu înregistrator
- 5.2.2.3. Electrode de sticlă
- 5.2.2.4. Electrode de referință (de calomel)

5.2.3. Procedeu

Într-un pahar de 150 ml se cântărește cu precizie o probă pentru testare cu masa cuprinsă între 0,5 și 1,0 g. În prezența amoniacului se adaugă câteva granule antisoc, se pune paharul într-un exsicator cu vid, se evacuează folosind o pompă de apă până când mirosul de amoniac nu mai este detectabil (circa trei ore).

Se adaugă 100 ml izopropanol, se dizolvă sau se dispersează reziduul și se titrează cu acid clorhidric 0.1.N în izopropanol (5.2.1.3.) înregistrând schimbarea de pH aparent (5.2.2.2.).

5.2.4. Calcul

Ca la 5.1.4 primul punct de inflexiune este la un pH aparent de circa 9.

5.3. Repetabilitate (vezi ISO/DIS 5725)

Pentru un conținut de hidroxid de sodiu sau potasiu în domeniul de 5% de masă echivalent hidroxid de sodiu, diferența între rezultatele a două determinări executate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,25%.

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru acid oxalic și pentru sărurile sale alcaline din produsele pentru îngrijirea părului

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează determinarea și identificarea acidului oxalic și a sărurilor sale alcaline în produsele pentru îngrijirea părului. Poate fi folosită pentru soluții apoase/alcoolice incolore și loțiuni care conțin circa 5% acid oxalic sau o cantitate echivalentă de oxalat alcalin.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de acid oxalic și/sau sărurile sale alcaline determinat prin această metodă este exprimat ca procente de masă (m/m) de acid oxalic liber în probă.

3. PRINCIPIU

După îndepărtarea oricărui agent tensioactiv anionic prezent cu hidroclorură de p-toluidină, acidul oxalic și/sau oxalații se precipită ca oxalat de calciu, după care soluția se filtrează. Precipitatul se dizolvă în acid sulfuric și se titrează cu permanganat de potasiu.

4. REACTIVI

Toate substanțele trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. soluție acetat de amoniu 5% (m/m)

4.2. soluție clorură de calciu 10% (m/m)

4.3. etanol 95% (V/V)

4.4. tetraclorură de carbon

4.5. dietileter

4.6. soluție diclorura de p-toluidină 6.8% (m/m)

4.7. permanganat de potasiu soluție 0.1 N

4.8. acid sulfuric 20% (m/m)

4.9. acid clorhidric 10% (m/m)

4.10. acetat de sodiu trihidratat

4.11. acid acetic glacial

4.12. acid sulfuric (1:1)

4.13. hidroxid de bariu, soluție saturată.

5. APARATURĂ

5.1. Pâlnii de separare, 500 ml

5.2. Pahare de laborator, 50 ml și 600 ml

5.3. Creuzete filtrante din sticlă, G-4

5.4. Cilindri gradati, 25 ml și 100 ml

5.5. Pipete, 10 ml

5.6. Vas de aspirație, 500 ml

5.7. Trompă de apă

5.8. Termometru gradat de la 0 la 100° C

5.9. Agitator magnetic cu încălzire

5.10. Tijele de agitare magnetică, teflonate

5.11. Biurete, 25 ml

5.12. Baloane conice, 250 ml

5.13. Hârtie de filtru, Whatman nr. 4 sau echivalent

6. PROCEDEU

6.1. Într-un pahar de 50 ml se cântăresc între 6 la 7 g probă, se aduce pH-ul la 3 prin diluție cu acid clorhidric (4.9.) și se spală într-o pâlnie de separare cu 100 ml apă distilată. Se adaugă succesiv 25 ml etanol (4.3.), 25 ml soluție de diclororură de p-toluidină (4.6.) și 25-30 ml tetraclorură de carbon (4.4.) și se agită puternic amestecul.

6.1.1. Se filtrează, dacă este necesar cu ajutorul pompei de vid, și se reține filtratul.

6.1.2. Se repetă treapta de extracție cu un volum suplimentar de 50 ml apă distilată. Se filtrează și se combină filtrații.

6.2. După separarea fazelor, se îndepărtează faza inferioară (organică) și se repetă extracția folosind reactivii menționați la 6.1.2. și din nou se îndepărtează faza organică.

6.3. Se trece soluția apoasă într-un pahar de 600 ml și, prin fierberea soluției, se îndepărtează tetraclorura de carbon prezentă încă.

6.4. Se adaugă 50 ml soluție de acetat de amoniu (4.1.), se aduce soluția la fierbere (5.9.) și se adaugă în soluția la fierbere 10 ml soluție fierbinte de clorură de calciu (4.2.); se lasă precipitatul să se așeze.

6.5. Se verifică dacă precipitarea este completă prin adăugarea câtorva picături de soluție de clorură de calciu (4.2.), se lasă să se răcească la temperatura camerei și apoi se amestecă cu 200 ml etanol (4.3.); (5.10.) se lasă să stea timp de 30 minute.

6.6. Se filtrează lichidul printr-un creuzet filtrant din sticlă (5.3.), cu o mică cantitate de apă fierbinte (50 la 60° C) se transferă precipitatul în creuzetul filtrant și se spală precipitatul cu apă rece.

6.7. Se spală precipitatul de cinci ori cu puțin etanol (4.3.) și apoi de cinci ori cu puțin dietil eter (4.5.) și se dizolvă precipitatul în 50 ml de acid sulfuric fierbinte (4.8.) prin trecerea acestuia prin creuzetul filtrant la presiune redusă.

6.8. Se transferă soluția fără pierderi într-un balon conic și se titrează cu soluție de permanganat de potasiu (4.7.) până când apare o ușoară colorare în roz.

7. CALCUL

Continutul probei, exprimat ca procente de masă de acid oxalic, se calculează cu formula:

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

în care:

A: este consumul de permanganat de potasiu 0.1 N măsurat conform 6.8.

E: este cantitatea de test a probei în grame (6.1.)

4,50179 este factorul de conversie al acidului oxalic

8. REPETABILITATE (vezi ISO/DIS 5725)

Pentru un conținut de acid oxalic de circa 5%, diferența dintre rezultatele a două determinări făcute în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,15%.

9. IDENTIFICARE

9.1. Principiu

Acidul oxalic și/sau oxalații se precipită ca oxalat de calciu și se dizolvă în acid sulfuric. Soluției i se adaugă cateva picături de soluție de permanganat de potasiu care devine incoloră și duce la formarea bioxidului de carbon. Când CO₂ rezultat se trece printr-o soluție de hidroxid de bariu, se formează precipitatul alb (lăptos) de carbonat de bariu.

9.2. Procedeu

9.2.1. Se tratează o porțiune din proba de analizat așa cum s-a descris în secțiunea 6.1. până la 6.3.; aceasta va îndepărta orice urmă de detergenți prezentă.

9.2.2. Se adaugă o spatulă plină de acetat de sodiu (4.10.) la circa 10 ml soluție obținută conform 9.2.1. și se acidulează soluția cu câteva picături de acid acetic glacial (4.11.).

9.2.3. Se adaugă soluție clorură de calciu 10% și se filtrează. Se dizolvă precipitatul de oxalat de calciu în 2 ml de acid sulfuric (1:1) (4.12.).

9.2.4. Se transferă soluția într-o eprubetă și se adaugă cu picătura circa 0,5 ml soluție de permanganat de potasiu 0,1 N (4.7.). Dacă oxalatul este prezent, soluția își pierde culoarea mai întâi gradat și apoi rapid.

9.2.5. Imediat după adăugarea permanganatului de potasiu, se pune un tub de sticlă adecvat, cu dop, deasupra eprubetei, se încălzește ușor conținutul și se colectează bioxidul de carbon format într-o soluție saturată de hidroxid de bariu (4.13.). Apariția, după 3 până la 5 minute a unui nor lăptos de carbonat de bariu indică prezența acidului oxalic.

ANEXA Nr. 6

M E T O D Ă

de determinare cantitativă pentru cloroform din produsele pentru îngrijirea dinților

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează determinarea cloroformului în pasta de dinți prin cromatografie de gaze. Această metodă este adecvată pentru determinarea cloroformului la nivel de 5% sau mai puțin.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de cloroform determinat prin această metodă este exprimat în procente de masă de produs.

3. PRINCIPIU

Pasta de dinți se suspendă într-un amestec de dimetilformamidă/metanol la care se adaugă o cantitate cunoscută de acetonitril ca standard intern. După centrifugare, o parte a fazei lichide este supusă cromatografiei de gaze și se calculează conținutul de cloroform.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Porapak Q, Chromosorb 101 sau echivalent, de la 80 la 100 ochiuri

4.2. Acetonitril

4.3. Cloroform

4.4. Dimetilformamidă

4.5. Metanol

4.6. Soluție standard intern

4.7. Se introduc cu pipeta 5 ml dimetilformamidă (4.4.) într-un balon standard de 50 ml și se adaugă circa 300 mg (M mg) acetonitril, cântărit precis. Se completează până la semn cu dimetilformamidă și se amestecă.

4.8. Soluție pentru determinarea factorului de răspuns relativ. Se introduc cu pipeta exact 5 ml soluție standard intern (4.6.) într-un balon standard de 10 ml și se adaugă circa 300 mg (M₁ mg) cloroform, cântărit precis. Se aduce la semn cu dimetilformamidă și se amestecă.

5. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

5.1. Balanță analitică

5.2. Cromatograf de gaze cu detector de ionizare cu flacără

5.3. Microseringă cu o capacitate de 5 până la 10 μl și gradație de 0,1 μl

5.4. Pipete cu capacități de 1, 4 și 5 ml

5.5. Baloane cotate de 10 și 50 ml

5.6. Eprubete, aproximativ 20 ml, cu dop filetat, Sovirel France No. 20 sau echivalent
Dopul filetat are o armătură de etanșare interioară teflonată pe o parte.

5.7. Centrifugă

6. PROCEDEU

6.1. Condiții adecvate pentru cromatografia de gaze

6.1.1. *Coloană:* Material sticlă

Lungime: 150 cm

Diametru interior: 4 mm

Diametru exterior: 6 mm

6.1.2. *Umplutură coloană:* Porapak Q, Chromosorb 101 sau echivalent de 80÷100 ochiuri (4.1.) cu ajutorul unui vibrator.

6.1.3. *Detector cu ionizare în flacără:* se reglează sensibilitatea astfel încât atunci când se injectează 3 μl de soluție 4.7., înălțimea picului acetonitorilului este de circa trei sferturi din înălțimea totală a scalei înregistratorului.

6.1.4. *Gaze:*

Purtător: azot, debit de curgere 65 ml/min.

Auxiliar: se reglează debitul de gaze către detector astfel încât debitul de aer sau oxigen să fie de cinci până la 10 ori mai mare față de cel de hidrogen.

6.1.5. *Temperaturi:*

blocul injectorului: 210° C

blocul detectorului: 210° C

cuptorul coloanei: 175° C

6.1.6. *Viteza de înregistrare a graficului:* cca. 100 cm pe oră.

6.2. Preparare probă

Se ia proba pentru testare dintr-un tub nedeschis. Se îndepărtează o treime din conținut, se pune dopul la tub, se amestecă cu atenție în tub și apoi se ia porțiunea de testare.

6.3. Determinare

6.3.1. Se cântărește într-un tub cu dop filetat (5.6.) cu precizie 10 mg, 6 până la 7 g (M₀ g) de pastă de dinți preparată în conformitate cu secțiunea 6.2., și se adaugă trei perle mici de sticlă.

6.3.2. Se introduc cu pipeta în tub exact 5 ml soluție standard intern (4.6.), 4 ml dimetilformamidă (4.4.) și 1 ml metanol (4.5.), se închide tubul și se amestecă.

6.3.3. Se agită o jumătate de oră cu un vibrator mecanic, apoi se centrifughează tubul închis pentru 15 minute, la o viteză suficientă pentru a produce o separare netă a fazelor.

Notă: ocazional se întâmplă ca faza lichidă să nu fie limpede după centrifugare. Se poate obține o îmbunătățire prin adăugarea la faza lichidă a 1 până la 2 g clorură de sodiu și recentrifugând.

6.3.4. Se injectează 3 µl din această soluție (6.3.3.) în condițiile deschise la pct. 6.1. Se repetă această operație. Pentru condițiile descrise mai sus, pot fi date următoarele valori estimative pentru timpii de retenție:

metanol: circa 1 minut
 acetonitril: circa 2,5 minute
 cloroform: circa 6 minute
 dimetilformamida >15 minute

6.3.5. Determinarea factorului de răspuns relativ

Pentru determinarea acestui factor se injectează 3 µl de soluție 4.7. Se repetă operațiunea. Se determină zilnic factorul de răspuns relativ.

7. CALCUL

7.1. Calculul răspunsului relativ

7.1.1. Se măsoară înălțimea și lățimea la jumătatea înălțimii pentru picurile acetonitrilului și cloroformului și se calculează aria ambelor picuri folosind formula: înălțime x lățime la jumătatea înălțimii.

7.1.2. Se determină aria picurilor acetonitrilului și cloroformului din cromatograma obținută în conformitate cu secțiunea 6.3.5. și se calculează răspunsul relativ f_s cu ajutorul următoarei formule:

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

în care:

f_s = factorul de răspuns relativ pentru cloroform
 A_s = aria picului cloroformului (6.3.5.)
 A_i = aria picului acetonitrilului (6.3.5.)
 M_s = cantitatea de cloroform, în mg per 10 ml soluție la care se face referință la pct. 6.3.5. (= M_1).
 M_i = cantitatea de acetonitril, în mg per 10 ml soluție la care se face referință la pct. 6.3.5 (= $1/10 M$).

Se calculează media citirilor obținute.

7.2. Calculul conținutului de cloroform

7.2.1. Se calculează, conform 7.1.1., aria picurilor cloroformului și acetonitrilului din cromatograma obținută prin procedura descrisă la punctul 6.3.4.

7.2.2. Se calculează conținutul de cloroform din pasta de dinți cu ajutorul următoarei formule:

$$\% X = \frac{A_s \times M_i}{f_s \times M_{sx} \times A_i} \times 100\% = \frac{A_s \times M}{f_s \times A_i \times M_0 \times 100}$$

în care:

$\% X$ = conținutul de cloroform din pasta de dinți exprimat ca masă
 A_s = aria picului cloroformului (6.3.4.)
 A_i = aria picului acetonitrilului (6.3.4.)
 M_{sx} = masa în mg a probei la care se face referință în secțiunea 6.3.1. (= $1000 \times M_0$)
 M_i = cantitatea de acetonitril în mg per 10 ml de soluție obținută conform pct. 6.3.2. ($1/10M$).

Se calculează media valorilor găsite și se exprimă rezultatul cu o precizie de 0,1%.

8. REPETABILITATE (vezi ISO/DIS 5725)

Pentru un conținut de cloroform de 3%, diferența între rezultatele a două determinări executate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,3%.

ANEXA Nr. 7

METODĂ

de determinare cantitativă pentru zincul din sărurile sale conținute în produsele cosmetice

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează determinarea zincului prezent sub formă de cloruri, sulfat sau 4-hidroxibenzensulfonat, sau ca o asociere a mai multor săruri de zinc, în produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de zinc al probei este determinat gravimetric ca bis (2-metil-8-chinolil oxid) de zinc și este exprimat în procente de masă de zinc în probă.

3. PRINCIPIU

Zincul prezent în soluție este precipitat într-un mediu acid ca bis (2 metil-8 chinolil oxid) de zinc. După filtrare precipitatul este uscat și cântărit.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Amoniac concentrat 25% (m/m): $d_4^{20} = 0,91$

4.2. Acid acetic glacial

4.3. Acetat de amoniu

4.4. Metilchinolin-8-ol

4.5. Soluție amoniacală 6% (m/v)

Se transferă 240 g amoniac concentrat (4.1.) într-un balon standard de 1000 ml, se umple până la semn cu apă distilată și se amestecă.

4.6. Soluție acetat de amoniu 0,2 M

Se dizolvă 15,4 g acetat de amoniu (4.3.) în apă distilată, se umple până la semn într-un balon standard de 1000 ml și se amestecă.

4.7. Soluție 2-metilchinolin-8-ol

Se dizolvă 5g de 2-metilchinolin-8-ol în 12 ml acid acetic glacial și se transferă cu apă distilată într-un balon standard de 100 ml. Se umple până la semn cu apă distilată și se amestecă.

5. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

5.1. Baloane de 100 și 1000 ml

5.2. Pahare, 400 ml

5.3. Cilindri gradati, 50 și 150 ml

5.4. Pipete gradate, 10 ml

5.5. Creuzete filtrante din sticlă G-4

5.6. Recipiente vidate, 500 ml

5.7. Trompă de apă

5.8. Termometru gradat de la 0 la 100° C

5.9. Exicator cu agent deshidratant adecvat și indicator de umiditate, ex. silicagel sau echivalent

5.10. Cuptor de uscare reglat la o temperatură de $150 \pm 2^\circ \text{C}$

5.11. pH-metru

5.12. Plită electrică

5.13. Hârtie filtru, Whatman nr.4 sau echivalent

6. PROCEDEU

6.1. Într-un pahar de 400 ml se cântăresc 5–10g (M grame) din proba de analizat, conținând 50 până la 100 mg zinc, se adaugă 50 ml de apă distilată și se amestecă.

6.1.1. Se filtrează cu ajutorul pompei de vid dacă este necesar și se reține filtratul.

6.1.2. Se repetă treapta de extracție cu un volum suplimentar de 50 ml apă distilată. Se filtrează și se combină filtratul.

6.2. Pentru fiecare 10 mg de zinc prezent în soluție (6.1.2.) se adaugă 2 ml de soluție 2-metilchinolin-8-ol (4.7.) și se amestecă.

6.3. Se diluează amestecul cu 150 ml apă distilată, se aduce la temperatura de 60° C (5.12.) și se adaugă 45 ml de 0,2 M soluție acetat de amoniu (4.6.), agitând continuu.

6.4. Se reglează pH-ul soluției la $5,7 \div 5,9$ cu soluție amoniacală 6% (4.5.), agitând continuu; se folosește un pH-metru pentru măsurarea pH-ului soluției.

6.5. Se lasă soluția să stea 30 de minute. Se filtrează cu ajutorul trompei de apă prin creuzetul filtrant din sticlă G-4, care a fost inițial uscat la 150° C și cântărit după răcire (M_0 grame) și se spală precipitatul cu 150 ml apă distilată la 95° C.

6.6. Se pune creuzetul în cuptorul de uscare reglat la 150° C și se usucă timp de o oră.

6.7. Se scoate creuzetul din cuptorul de uscare, se pune în exicator (5.9.) și, când s-a răcit la temperatura camerei, se determină masa (M_1 grame).

7. CALCUL

Se calculează conținutul de zinc al probei, în procente de masă (% m/m) cu ajutorul următoarei formule:

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

în care:

- M = masa în grame a probei analizate în conformitate cu (6.1.)
 M_0 = masa în grame a creuzetului gol și uscat (6.5.)
 M_1 = masa în grame a creuzetului cu precipitat (6.7.)

8. REPETABILITATE (ISO/DIS 5725)

Pentru un conținut de zinc de circa 1% (m/m), diferența între rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,1%.

ANEXA Nr. 8

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru acid 4-hidroxibenzensulfonic

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează identificarea și determinarea cantitativă a acidului 4-hidroxibenzensulfonic din produsele cosmetice tip aerosoli și în loțiunile pentru față.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de acid 4-hidroxibenzensulfonic determinat în conformitate cu această metodă este exprimat ca procente de masă de 4-hidroxibenzensulfonat de zinc anhidru, în produs.

3. PRINCIPIU

Proba pentru testare este concentrată la presiune redusă, dizolvată în apă și purificată prin extracție cu cloroform. Determinarea acidului 4-hidroxibenzensulfonic se face iodometric pe o porțiune a soluției apoase filtrate.

4. REACTIVI

Toate substanțele trebuie să fie de puritate analitică.

- 4.1. Acid clorhidric concentrat 36%, ($d=1,18$)
- 4.2. Cloroform
- 4.3. n-Butanol
- 4.4. Acid acetic glacial
- 4.5. Iodură de potasiu
- 4.6. Bromură de potasiu
- 4.7. Carbonat de sodiu
- 4.8. Acid sulfanilic
- 4.9. Azotat de sodiu
- 4.10. Bromat de potasiu 0,1N
- 4.11. Soluție tiosulfat de sodiu 0,1N
- 4.12. Soluție apoasă de amidon 1% (m/v)
- 4.13. Soluție apoasă de carbonat de sodiu 2% (m/v)
- 4.14. Soluție apoasă de azotat de sodiu 4,5% (m/v)
- 4.15. Soluție de ditizonă în cloroform 0,05 (m/v)
- 4.16. Solvent de dezvoltare: 1-butanol/acid acetic glacial/apă (4 : 1 : 5 părți în volume); după amestecare în pâlnia de separare se aruncă faza inferioară.
- 4.17. Reactiv Pauly
 Se dizolvă 4,5 g acid sulfanilic (4.8.) în 45 ml acid clorhidric concentrat (4.1.), se încălzește în acest timp, și se diluează soluția cu apă până la 500 ml. Se răcesc 10 ml de soluție într-un vas cu apă cu gheață și se adaugă sub amestecare 10 ml de soluție rece de azotit de sodiu (4.14.). Se lasă soluția să stea 15 minute la 0° C (la această temperatură soluția rămâne stabilă una până la trei zile) și imediat înainte de pulverizare (7.5.) se adaugă 20 ml soluție de carbonat de sodiu (4.13.).
- 4.18. Plăci de celuloză gata pregătite pentru cromatografie în strat subțire; format 20 x 20 cm, grosimea stratului absorbant 0,25 mm.

5. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

- 5.1. Baloane cu fund rotund, 100 ml
- 5.2. Pâlnie de separare 100 ml
- 5.3. Pahar conic cu dop de sticlă, 250 ml
- 5.4. Biuretă, 25 ml
- 5.5. Pipete 1, 2 și 10 ml
- 5.6. Pipetă gradată, 5 ml
- 5.7. Microseringă, 10 μ l cu 0,1 μ l gradație
- 5.8. Termometru gradat de la 0 la 100° C

- 5.9. Baie de apă cu încălzire
 5.10. Etuvă de uscare, bine ventilată și reglată la 80° C
 5.11. Aparatură uzuală necesară executării cromatografiei în strat subțire.

6. PREPARARE PROBĂ

În metoda descrisă mai jos pentru identificarea și determinarea acidului hidroxibenzensulfonic în aerosoli, se folosește reziduu obținut prin eliberarea din cilindrul pulverizator de aerosoli a solvenților și a agenților de pulverizare care se evaporă la presiune normală.

7. IDENTIFICARE

7.1. Cu ajutorul microseringii (5.7.) se aplică 5 μ l de reziduu (6) sau probă pe fiecare din cele șase puncte pe linia de pornire la o distanță de 1 cm de latura a de jos a plăcii de strat subțire.

7.2. Se pune placa într-un tanc de dezvoltare care conține deja solventul de dezvoltare (4.16.) și se dezvoltă până când frontul de solvent atinge o distanță de 15 cm de la linia de pornire.

7.3. Se scoate placa din baie și se usucă la 80° C până când nu mai sunt perceptibili vapori de acid acetic. Se pulverizează placa cu soluție de carbonat de sodiu (4.13.) și se usucă la aer.

7.4. Se acoperă o jumătate din placă cu o placă de sticlă și se pulverizează partea neacoperită cu soluție de ditizonă 0,05% (4.15.). Apariția unor spoturi roșu-purpuriu pe cromatogramă indică prezența ionilor de zinc.

7.5. Se acoperă jumătatea peste care s-a pulverizat cu o placă de sticlă și se pulverizează cealaltă jumătate cu reactiv Pauly (4.17.). Prezența acidului 4-hidroxibenzensulfonic este indicată prin apariția unei pete galben-marونیu cu o valoare R_f de circa 0,26 în timp ce o pată galbenă cu o valoare R_f de circa 0,45 pe cromatogramă indică prezența acidului 3-hidroxibenzensulfonic.

8. DETERMINARE

8.1. Într-un balon cu fund rotund de 100 ml se cântăresc 10 g de probă sau reziduu (6) și se evaporă sub vid până aproape de uscare, într-un evaporator rotativ peste o baie de apă menținută la 40° C.

8.2. Într-un pahar se pun cu pipeta 10,0 ml apă (V₁ ml) și se dizolvă prin încălzire reziduu obținut la evaporare (8.1.).

8.3. Se transferă soluția cantitativ într-o pâlnie de separare (5.2.) și se extrage soluția apoasă de două ori cu porții de 20 ml de cloroform (4.2.). După fiecare extracție se aruncă faza cu cloroform.

8.4. Se filtrează soluția apoasă printr-un filtru cutat. În funcție de conținutul de acid hidroxibenzensulfonic presupus, se introduc cu pipeta 1,0 sau 2,0 ml de filtrat (V₂) într-un flacon conic de 250 ml (5.3.) și se diluează până la 75 ml cu apă.

8.5. Se adaugă 2,5 ml acid clorhidric 36% (4.1.) și 2,5 g bromură de potasiu (4.6.), se amestecă și se aduce temperatura soluției până la 50° C cu ajutorul unei băi de apă.

8.6. Dintr-o biuretă, se adaugă bromat de potasiu 0,1N (4.10.) până când culoarea soluției, care este încă la 50° C, virează în galben.

8.7. Se adaugă mai departe 3,0 ml soluție de bromat de potasiu (4.10.), se închide vasul și se lasă să stea în baia de apă la 50° C timp de 10 minute.

Dacă după 10 minute soluția își pierde culoarea, se adaugă alți 2,0 ml soluție de bromat de potasiu (4.10.), se închide vasul și se încălzește pe baia de apă menținută la 50° C. Se înregistrează cantitatea totală de soluție de bromat de potasiu adăugată (a).

8.8. Se răcește soluția la temperatura camerei, se adaugă 2 g iodură de potasiu (4.5.) și se amestecă.

Se tritreează iodul format cu soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N (4.11.). Spre sfârșitul titrării se adaugă câteva picături de soluție de amidon (4.12.) ca indicator. Se notează cantitatea de tiosulfat de sodiu folosită (b).

9. CALCUL

Se calculează conținutul de hidrobendisulfonat de zinc din probă sau reziduu (6) ca procent de masă (%m/m) cu ajutorul următoarei formule:

$$\%m/m \text{ hidroxibenzensulfonat de zinc} = \frac{(a - b) \times V_1 \times 0,00514 \times 100}{m \times V_2}$$

în care:

a = cantitatea totală de soluție de bromat de potasiu 0,1 N adăugată, în ml (8.7.)

b = cantitatea de soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 N folosită pentru retitrare, în ml (8.9.)

m = cantitatea de produs sau reziduu analizată, exprimată în miligrame (8.1.)

V₁ = volumul de soluție obținută conform 8.2., exprimată în mililitri

V₂ = volumul de reziduu de evaporare dizolvat folosit pentru analiză (8.4.), exprimat în mililitri.

Notă: În cazul aerosolilor, măsurarea exprimată în % (m/m) de reziduu (6) trebuie să fie raportată la produsul original. În scopul acestei conversii, se vor respecta regulile de prelevare a probelor de aerosoli indicate în anexa nr. 3 la ordin.

10. REPETABILITATE (vezi ISO/DIS 5725)

Pentru un conținut de circa 5% hidroxibenzensulfonat de zinc, diferența între rezultatele a două determinări executate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,5%.

11. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Conform Ordinului ministrului sănătății nr. 1.448/2005 privind categoriile de produse cosmetice și listele cuprinzând substanțele ce pot fi utilizate în compoziția produselor cosmetice, cu modificările ulterioare, concentrația maximă autorizată de 4-(hidroxibenzensulfonat) de zinc în loțiunile de față și deodorante este de 6% (m/m). Aceasta înseamnă că pe lângă conținutul de acid hidrobensulfonic, trebuie determinat și conținutul de zinc. Multiplicarea conținutului de (hidroxibenzensulfonat) de zinc (9) cu un factor de 0,1588 determină conținutul minim de zinc în % (m/m) care teoretic trebuie să fie prezent în produs dat fiind conținutul de acid hidrobensulfonic măsurat. Conținutul de zinc efectiv măsurat gravimetric (vezi indicațiile relevante) poate fi, totuși, mai mare, datorită faptului că atât clorura de zinc cât și sulfatul de zinc pot fi folosite de asemenea în produsele cosmetice.

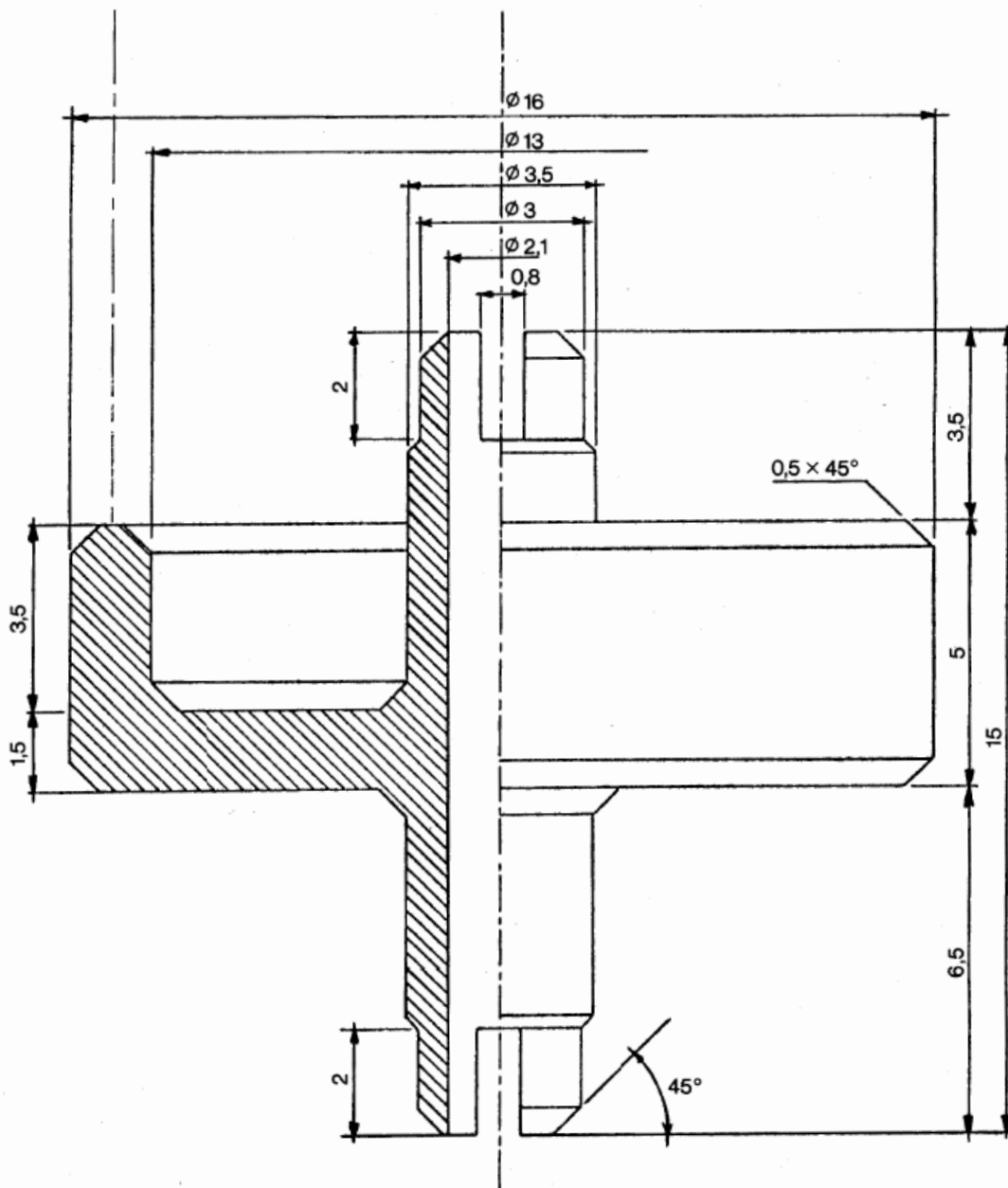


Figura nr. 1 la anexa nr. 8— Conector P1

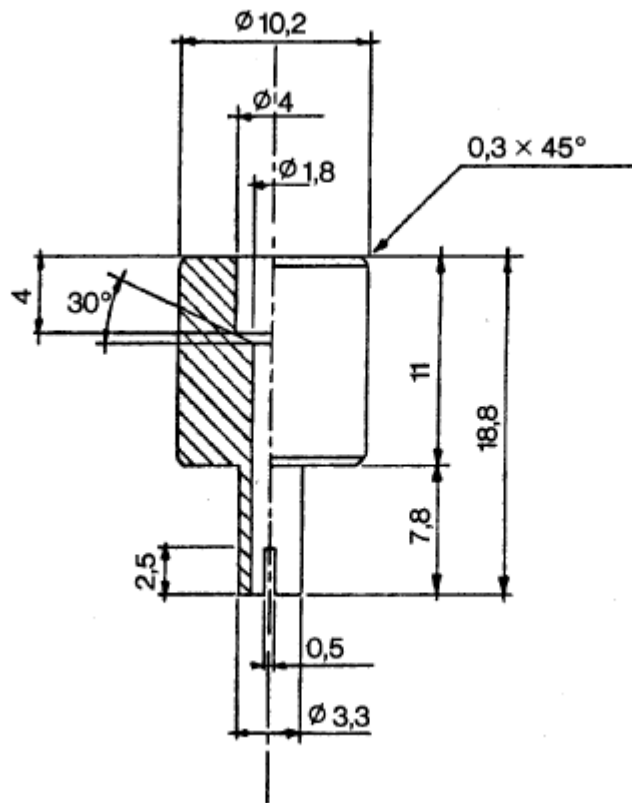


Figura nr. 2 la anexa nr. 8— Conector M₂

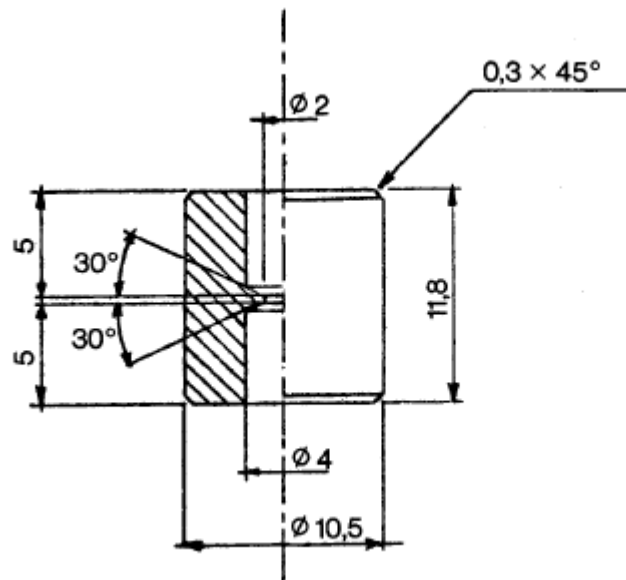


Figura nr. 3 la anexa nr. 8— Conector M₁

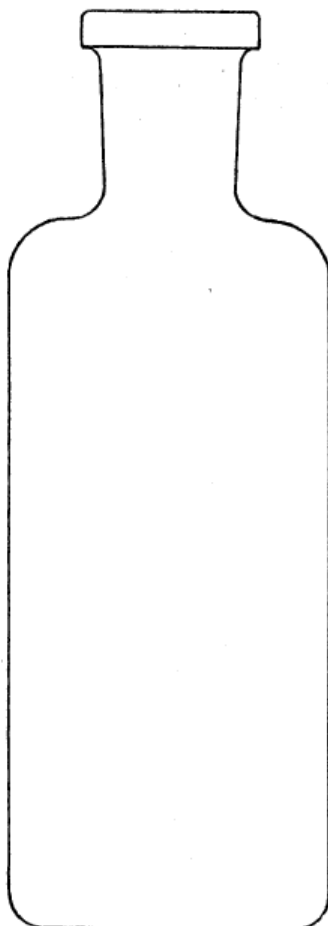


Figura nr. 4 la anexa nr. 8 — Sticla de transfer — capacitate între 50 și 100 ml

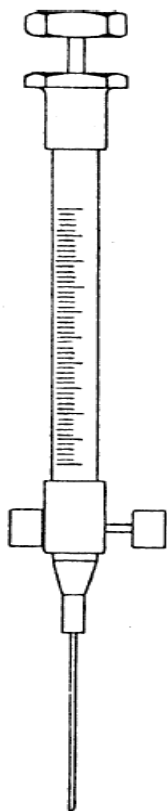


Figura nr. 5 la anexa nr. 8— Seringa de gaz sub presiune

M E T O D Ă

de identificare pentru agenții oxidanți și de determinare cantitativă pentru apa oxigenată din produsele pentru îngrijirea părului

SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Determinarea iodometrică a apei oxigenate în cosmetice este posibilă numai în absența altor agenți de oxidare care generează iod din ioduri. Prin urmare, înainte de determinarea iodometrică a apei oxigenate este necesar a se detecta și identifica oricare alt agent de oxidare prezent. Această identificare se împarte în două etape; prima se referă la persulfați, bromați și apa oxigenată, iar a doua etapă se referă la peroxidul de bariu.

A. IDENTIFICAREA PERSULFAȚILOR, BROMAȚILOR ȘI APEI OXIGENATE

1. PRINCIPIU

Persulfatul de sodiu, persulfatul de potasiu și persulfatul de amoniu; bromatul de potasiu, bromatul de sodiu și apa oxigenată — provenită sau nu din peroxidul de bariu — sunt identificate cu ajutorul cromatografiei pe hârtie, folosindu-se doi solvenți de dezvoltare.

2. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

2.1. Soluții apoase de referință 0,5% (m/v) ale următorilor compuși:

2.1.1. Persulfat de sodiu

2.1.2. Persulfat de potasiu

2.1.3. Persulfat de amoniu

2.1.4. Bromat de potasiu

2.1.5. Bromat de sodiu

2.1.6. Apă oxigenată

2.2. Solvent de dezvoltare A, 80% (v/v) etanol

2.3. Solvent de dezvoltare B, benzen - metanol - 3-metil-1-butanol - apă (34 : 38 : 18 : 10, volumetric)

2.4. Agent de detectare A, soluție apoasă de iodură de potasiu 10% (m/v)

2.5. Agent de detectare B, soluție apoasă de amidon 1% (m/v)

2.6. Agent de detectare C, acid clorhidric 10% (m/m)

2.7. Acid clorhidric 4N

3. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

3.1. Hârtie cromatografică: hârtie Whatman Nr. 3 și Nr. 4 ori echivalenții lor

3.2. Micropipete, 1 μ l

3.3. Baloane cotate, 100 ml

3.4. Filtre cutate

3.5. Aparatură pentru cromatografie descendentă pe hârtie

4. PREPARARE PROBE

4.1. Produși solubili în apă

Se prepară două soluții din fiecare probă prin dizolvarea a 1 g și, respectiv, 5 g de produs în 100 ml apă. Se folosește 1 μ l din fiecare dintre aceste soluții pentru realizarea cromatografiei pe hârtie, descrisă la punctul 5.

4.2. Produși greu solubili în apă

4.2.1. Se cântăresc 1 g și, respectiv, 5 g de probă și se diluează în 50 ml apă, se aduce la semn cu apă, în fiecare din cele două cazuri, și se amestecă. Se filtrează dispersiile peste filtrul cutat (3.4.) și se folosește 1 μ l din fiecare filtrat pentru realizarea cromatografiei pe hârtie, descrisă la punctul 5.

Se prepară încă o dată două dispersii din fiecare probă prin diluția a 1 g și, respectiv, 5 g în 50 ml apă, acidulată cu acid clorhidric diluat (2.7.), se aduce la semn cu apă și se amestecă. Se filtrează dispersiile peste filtrul cutat (3.4.) și se folosește 1 μ l din fiecare filtrat pentru realizarea cromatografiei pe hârtie, descrisă la punctul 5.

4.3. Creme

4.3.1. Se dispersează 5 g și 20 g din fiecare produs în 100 ml apă și se folosesc dispersiile pentru realizarea cromatografiei pe hârtie, descrisă în secțiunea 5.

5. PROCEDEU

5.1. În două tancuri cromatografice separate se pun cantități adecvate de solvent A (2.2.) și B (2.3.) în scopul realizării cromatografiei descendente pe hârtie. Se saturează tancurile cromatografice pentru cel puțin 24 ore cu vapori de solvent.

5.2. Se pun câte 1 μ l din probă și din soluția de referință preparată conform punctelor 4 și 2.1 pe câte un punct de pornire de pe banda de hârtie cromatografică (Whatman Nr. 3 ori echivalent) de lungime 40 cm și lățime 20 cm (3.1.) sau alt format adecvat și se evaporă soluția în aer.

5.3. Se pune banda cromatografică (5.2.) în tancul cromatografic umplut cu soluție de dezvoltare A (5.1.) și se dezvoltă până când frontul de solvent avansează 35 cm (circa 15 ore).

5.4. Se repetă procedeul descris la punctele 5.2 și 5.3, utilizând hârtie cromatografică (Whatman Nr. 4 ori echivalent) (3.1.) și solvent de dezvoltare B. Se cromatografiază până când frontul solventului avansează 35 cm (circa 5 ore).

5.5. După dezvoltare se scot cromatogramele și se usucă în aer.

5.6. Se pun în evidență petele din cromatogramă prin pulverizare succesivă cu:

5.6.1. agent de detectare A (2.4.) urmat la scurt timp de agentul de detectare B (2.5.). Spoturile de persulfat vor apărea primele în cromatogramă și vor fi urmate de spoturile de apă oxigenată. Se marchează spoturile cu un creion.

5.6.2. agent de detectare C (2.6.) pe cromatogramele obținute în conformitate cu punctul 5.6.1.; prezența bromatilor va fi indicată prin spoturi albastru cenușii pe cromatogramă.

5.7. În condițiile mai sus menționate corespunzătoare solventilor de dezvoltare A (2.2.) și B (2.3.), valorile R_f ale substanțelor de referință (2.1.) sunt aproximativ următoarele:

	Solvent de dezvoltare A (2.2.)	Solvent de dezvoltare B (2.3.)
Persulfat de sodiu	0,40	0,10
Persulfat de potasiu	0,40	0,02+0,05
Persulfat de amoniu	0,50	0,10+0,20
Bromat de sodiu	0,40	0,20
Bromat de potasiu	0,40	0,1+0,2
Apa oxigenată	0,80	0,80

B. IDENTIFICAREA PEROXIDULUI DE BARIU

1. PRINCIPIU

Peroxidul de bariu se identifică prin formarea apei oxigenate după acidifierea probei (A.4.2.) și prin prezența ionului de bariu:

— în absența persulfatilor (A), prin adăugarea de acid sulfuric diluat la o porțiune de soluție probă de acid (B.4.1.), în urma căreia se formează un precipitat alb de sulfat de bariu. Prezența ionilor de bariu în probă (B.4.1.) este încă o dată confirmată prin cromatografie pe hârtie în modul descris mai sus (B.5.).

— unde peroxidul de bariu și persulfatii sunt prezenți simultan (B.4.2.) prin asimilarea rezidului din soluție (B.4.2.) într-o bază; după dizolvarea în acid clorhidric, prezența ionilor de bariu este confirmată în soluția topiturii (B.4.2.3.) prin cromatografie pe hârtie și/sau prin precipitarea sulfatului de bariu.

2. REACTIVI

2.1. Metanol

2.2. Acid clorhidric concentrat 36%(m/m)

2.3. Acid clorhidric 6N

2.4. Acid sulfuric 4N

2.5. Sare disodică a acidului rodizonic

2.6. Clorură de bariu ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$)

2.7. Carbonat de sodiu anhidru

2.8. Clorură de bariu soluție apoasă 1% (m/v)

2.9. Solvent de dezvoltare constând din metanol, acid clorhidric concentrat (36%) și apă (80 : 10 : 10, volumetric)

2.10. Agent de detectare, soluție apoasă 0,1% (m/v) de sare disodică a acidului rodizonic, proaspăt preparată imediat înainte de folosire.

3. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

3.1. Micropipete, 5 μ l

3.2. Creuzete de platină

3.3. Balon cotat, 100 ml

3.4. Hârtie cromatografică Scheleicher și Schull 2043 b ori echivalent. Se curăță hârtia prin dezvoltare peste noapte într-un tanc cromatografic descendent (A.3.5.) conținând solvent de dezvoltare (B.2.9.) și apoi se usucă.

3.5. Hârtie de filtru cutată.

3.6. Aparatură uzuală pentru realizarea cromatografiei descendente pe hârtie.

4. PREPARARE PROBE

4.1. Produse în care persulfatii sunt absenți

4.1.1. Se dispersează 2 g de produs în 50 ml apă și se aduce pH-ul dispersiei la circa 1, cu acid clorhidric (B.2.3.)

4.1.2. Se transferă dispersia cu apă într-un balon cotat de 100 ml, se aduce la semn cu apă și se amestecă. Se folosește această dispersie pentru analiză prin cromatografie pe hârtie, descrisă la punctul 5, și pentru identificarea bariului prin precipitarea sulfatului.

4.2. Produse în care persulfatii sunt prezenți

4.2.1. Se dispersează 2 g de produs în 100 ml de apă și se filtrează.

4.2.2. Se adaugă la reziduul uscat carbonat de sodiu (B.2.7.) de 7 până la 10 ori greutatea sa, se amestecă și se topește amestecul într-un creuzet de platină (B.3.2.) pentru o jumătate de oră.

4.2.3. Se răcește la temperatura camerei, se dizolvă topitura în 50 ml apă și se filtrează (B.3.5.)

4.2.4. Se dizolvă reziduul din topitură în acid clorhidric (B.2.3.) și se aduce la 100 ml cu apă. Se folosește această soluție pentru analiza prin cromatografie pe hârtie, care este descrisă la punctul 5, și pentru identificarea bariului prin precipitare din sulfat.

5. PROCEDEU

5.1. Se pune o cantitate adecvată de solvent de dezvoltare (B.2.9.) într-un tanc pentru cromatografie ascendentă pe hârtie și se saturează tancul pentru cel puțin 15 ore.

5.2. Pe o bucată de hârtie cromatografică — pretrată conform descrierii de la punctul B.3.4. se aplică 5 μl din fiecare dintre soluțiile preparate conform punctului B.4.1.2. și punctului B. 4.2.4. și soluție de referință B.2.8. în trei puncte de pornire.

5.3. Se usucă în aer spoturile de probă și de soluție etalon. Se dezvoltă cromatograma până când frontul solventului urcă 30cm.

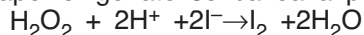
5.4. Se îndepărtează cromatograma din vas și se usucă în aer.

5.5. Se pun în evidență spoturile de pe cromatogramă prin pulverizarea hârtiei cu agentul de detectare B.2.10. În prezența bariului, apar pe cromatogramă spoturi roșii cu o valoare Rf de circa 0,10.

C. DETERMINAREA APEI OXIGENATE

1. PRINCIPIU

Determinarea iodometrică a apei oxigenate se bazează pe următoarea reacție:



Această conversie are loc încet, dar poate fi accelerată prin adăugarea molibdatului de amoniu. Iodul format este determinat titrimetric cu tiosulfat de sodiu și este o măsură a conținutului de apă oxigenată.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de apă oxigenată măsurat în modul descris mai sus este exprimat ca procent masic de produs (% m/m).

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid sulfuric 2N

3.2. Iodură de potasiu

3.3. Molibdat de amoniu

3.4. Tiosulfat de sodiu 0,1N

3.5. Soluție de iodură de potasiu 10% (m/v), proaspăt preparată imediat înainte de folosire

3.6. Soluție de molibdat de amoniu 20%(m/v)

3.7. Soluție de amidon 1% (m/v)

4. APARATURĂ ȘI ECHIPAMENT

4.1. Pahare, 100 ml

4.2. Biurete, 50 ml

4.3. Baloane cotate, 250 ml

4.4. Cilindri gradați, 25 și 100 ml

4.5. Pipete, 10 ml

4.6. Flacoane conice, 250 ml

5. PROCEDEU

5.1. Într-un pahar de 100 ml se cântăresc 10 g („m“ grame) de produs, conținând circa 0,6 g apă oxigenată. Se transferă conținutul, cu apă, într-un balon cotat de 250 ml, se aduce cu apă la semn și se amestecă.

5.2. Într-un flacon conic de 250 ml (4.6.) se pun cu pipeta 10 ml de soluție probă (5.1.) și se adaugă succesiv 100 ml acid sulfuric 2N (3.1.), 20 ml soluție iodură de potasiu (3.5.) și trei picături soluție molibdat de amoniu (3.6.).

5.3. Se titrează imediat iodul format cu soluție de tiosulfat de sodiu 0,1N (3.4.) și exact înainte de virare se adaugă câțiva mililitri de soluție de amidon ca indicator (3.7.).

Se înregistrează consumul de tiosulfat de sodiu 0,1N (3.4.) în mililitri ("V").

5.4. În modul descris mai sus la punctele 5.2. și 5.3., se realizează o determinare oarbă, înlocuind 10 ml din soluția probă cu 10 ml apă. Se înregistrează consumul de soluție de tiosulfat de sodiu 0,1N în determinarea oarbă („V₀” ml).

6. CALCUL

Se calculează conținutul de apă oxigenată din produs ca procent masic (%m/m) cu ajutorul formulei de mai jos:

$$\% \text{ apă oxigenată} = \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1000} = \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m}$$

în care:

m = cantitatea în grame de produs analizat (5.1.)

V₀ = consumul în mililitri de soluție de tiosulfat de 0,1N în determinarea oarbă (5.4.)

V = consumul în mililitri de soluție de tiosulfat de 0,1N în titrarea soluție probă (5.3.)

7. REPETABILITATE (vezi SR ISO 5725)

Pentru un produs conținând circa 6% m/m apă oxigenată, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,2%.

ANEXA Nr. 10

METODĂ

de identificare și determinare semicantitativă pentru anumiți coloranți oxidanți din produsele pentru îngrijirea părului (nuanțatoare și decolorante)

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă este reglementată pentru identificarea și determinarea semicantitativă a următoarelor substanțe în vopselele pentru păr, sub formă de cremă sau lichide:

Substanțe	Simbol
<i>Fenilendiamine</i>	
o-fenilendiamină	(OPD)
m-fenilendiamină	(MPD)
p-fenilendiamină	(PPD)
<i>Metilfenilendiamine</i>	
4-metil-1,2-fenilendiamină (toluen-3,4-diamină)	(OTD)
4-metil-1,3-fenilendiamină (toluen-2,4-diamină)	(MTD)
2-metil-1,4-fenilendiamină (toluen-2,5-diamină)	(PTD)
<i>Diaminofenoli</i>	
2,4-diaminofenol	(DAP)
<i>Hidrochinonă</i>	
1,4-benzendiol	(H)
<i>α-Naftol</i>	(α-N)
<i>Pirogalol</i>	
1,2,3-trihidroxibenzen	(P)
<i>Rezorcinol</i>	
1,3-dihidroxibenzen	(R)

2. PRINCIPIU

Coloranții de oxidare sunt extrași la un pH 10 cu etanol 96% din vopselele în formă de cremă sau lichid și identificați prin cromatografie în strat subțire, uni sau bidimensională.

Pentru determinarea semicantitativă a acestor substanțe, cromatograma probelor este comparată prin intermediul a patru sisteme de dezvoltare cu cromatograma substanțelor de referință produsă în același timp și pe cât posibil în condiții similare.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Etanol, anhidru

3.2. Acetonă

3.3. Etanol, 96% v/v

3.4. Soluție amoniacală, 25% ($d_4^{20} = 0,91$)

3.5. Acid ascorbic L(+)

3.6. Cloroform

3.7. Ciclohexan

3.8. Azot, tehnic

3.9. Toluen

3.10. Benzen

3.11. n-butanol

3.12. 2-butanol

3.13. Acid hipofosforos, soluție 50% v/v

3.14. Reactiv diazo. Unul din următoarele:

— clorbensensulfonat de 3-nitro-1-benzendiazoni (forma de sare stabilizată) ca în Roșu 2 JN — Francolor

— naftalinbenzoat de 2-clor-4-nitro-1-benzendiazoni (formă de sare stabilă) ca în Reactiv NNCD — nr. crt. 84150 FLUKA ori un echivalent.

3.15. Azotat de argint

3.16. p-dimetilaminobenzaldehidă

3.17. 2,5-dimetilfenol

3.18. Clorură ferică hexahidrată ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)

3.19. Acid clorhidric, soluție 10% m/v

3.20. Substanțe de referință

Substanțele de referință sunt cele indicate în paragraful 1 „Scop și domeniu de aplicare“. În cazul compușilor de amine, substanțele de referință trebuie să fie ori clorhidrați (mono sau bi) ori baze libere.

3.21. Soluții de referință 0,5% (m/v)

Se prepară o soluție 0,5% (m/v) din fiecare dintre substanțele de referință de la punctul 3.20. Într-un balon cotat de 10 ml se cântăresc 50 mg \pm 1 mg substanță de referință. Se adaugă 5 ml de etanol 96% (3.3.) și 250 mg acid ascorbic (3.5.).

Se alcalinizează soluția prin adăugarea soluției amoniacale (3.4.) pentru a obține un pH de aproximativ 10 (se verifică cu hârtie indicatoare).

Se adaugă până la 10 ml etanol 96% (3.3.) și se amestecă.

Soluțiile pot fi păstrate o săptămână într-un loc rece și ferit de lumină.

În anumite cazuri, după adăugarea acidului ascorbic și a amoniacului, se poate forma un precipitat. În acest caz trebuie lăsat să se sedimenteze înainte de lucru.

3.22. Solvenți de dezvoltare

3.22.1. Acetonă — cloroform — toluen (35:25:40 volum)

3.22.1.1. Acetonă — cloroform — etanol absolut — amoniac 25% (80 : 10 : 10 : 1 (volum))

3.22.1.2. Benzen — 2-butanol — apă (50 : 25 : 25 (volum)). Se agită bine și se folosește faza superioară după separare la temperatura camerei (20 până la 25° C)

3.22.1.3. n-butanol — cloroform — reactiv M (7 : 70 : 23 (volum)). Se separă cu grijă la temperatura camerei (20 la 25°C) și se folosește faza inferioară.

Preparare reactiv M

Soluție amoniacală 25% (v/v): 24 volume

Acid hipofosforos 50% (3.13.): 1 volum

Apă: 75 volume

Notă: Solvenții de dezvoltare conținând amoniac trebuie bine agitați imediat înainte de folosire.

3.23. Spray-uri indicatoare

3.23.1. Reactiv diazo

Se prepară o soluție apoasă 0,5% (m/v) de reactiv ales (3.14.). Această soluție trebuie să fie proaspăt preparată, imediat înainte de folosire.

3.23.2. Reactiv Ehrlich

Se dizolvă 2 g p-diametilaminobenzaldehidă (3.16.) în 100 ml acid clorhidric soluție apoasă 10% (m/v) (3.19.)

3.23.3. 2,5-dimetilfenol—clorură ferică hexahidrată

Soluție 1: se dizolvă 1 g dimetilfenol (3.17.) în 100 ml etanol 96% (3.3.)

Soluție 2: se dizolvă 4 g clorură ferică hexahidratată (3.18.) în 100 ml etanol 96% (3.3.)

Pentru dezvoltare, aceste soluții sunt pulverizate separat, întâi soluția 1 apoi soluția 2.

3.23.4. Azotat de argint amoniacal

Amoniac 25% (3.4.) este adăugat la o soluție apoasă de azotat de argint 5% (m/v) (3.15.) până când precipitatul se dizolvă. Acest reactiv trebuie preparat imediat înainte de folosire. A nu se depozita.

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator pentru cromatografie în strat subțire.

4.1.1. Capac de plastic sau sticlă astfel construit încât placa cromatografică să fie înconjurată de azot în timpul apariției petelor și uscării. Această precauție este necesară din cauza susceptibilității la oxidare a anumitor coloranți.

4.1.2. Microseringă, 10 μl, gradată cu diviziuni de 0,2 μl, cu ac cu secțiune pătrată, sau, mai bine, un distribuitor cu repetiție de 50 μl, montat pe un stativ cu clemă astfel încât placa să fie menținută sub azot.

4.1.3. Plăci de strat subțire cu silicagel, gata preparate, de 25 mm grosime, format 20 x 20 cm (Macherey și Nagel, Silica G-HR, care au suport de plastic, sau echivalent).

4.2 Centrifugă, 4000 rotații/minut

4.3. Eprubete de centrifugă, 10 ml, cu capace filetate căptușite cu PTFE sau echivalent.

5. PROCEDEU

5.1. Tratament probe pentru testare

Se îndepărtează primii 2 sau 3 cm din crema scoasă din tub.

Se pun într-o eprubetă de centrifugă (4.3.) anterior suflată cu azot următoarele: 300 mg acid ascorbic cu 3 g cremă ori 3 g lichid omogenizat.

Se adaugă cu picătura amoniac 25% (3.4.) până la un pH10. Se adaugă până la 10 ml etanol 96%.

Se omogenizează sub azot (3.8.), se pune capacul și apoi se centrifughează (la 4000 rot/min) timp de 10 minute.

5.2. Cromatografiere

5.2.1. Spotarea plăcilor sau depunerea probelor pe plăci

Sub atmosferă de azot (3.8.), se aplică pe o placă cromatografică (4.1.3.) 1 μl din fiecare dintre soluțiile de referință descrise mai sus pe 9 puncte situate la circa 1,5 cm de-a lungul unei linii situate la aproximativ 1,5 cm de muchia plăcii.

Aceste spoturi de soluție de referință sunt dispuse după cum urmează:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD	MTD	α-N

În plus, se aplică la punctele 10 și 11 câte 2 μl de soluție de probă pentru testare obținută în conformitate cu punctul 5.1.

Se menține placa sub azot (3.8.) până în momentul în care este dezvoltată.

5.2.2. Dezvoltare

Se pune placa într-un tanc anterior suflat cu azot (3.8.), saturat cu unul dintre cei patru solvenți (3.22.) și se lasă la dezvoltat la temperatura camerei (20 la 25° C), în întuneric, până când frontul de solvent migrează circa 15 cm față de linia de bază.

Se îndepărtează placa și se usucă sub azot (3.8.) la temperatura camerei.

5.2.3. Pulverizare

Se pulverizează placa imediat cu una dintre cele patru soluții specificate la 3.23.

5.2.4. Identificare

Se compară valoarea R_f și culoarea obținută de la proba pentru testare cu acelea ale substanțelor de referință cromatografiate.

Tabelul I exemplifică valorile R_f și culorile pentru fiecare substanță depinzând de solvent și de indicatorul folosit.

Confirmarea identificării incerte poate fi uneori realizată printr-o metodă fixatoare, adăugând soluția de substanță de referință corespunzătoare la extractul de probă pentru testare.

5.2.5. Estimare semicantitativă

Se compară vizual intensitatea spoturilor pentru fiecare substanță identificată la 5.2.4. cu un șir adecvat de concentrații al substanțelor de referință.

Dacă concentrația uneia sau a mai multor substanțe găsite în proba pentru testare este în exces, se diluează extractul de probă și se repetă măsurarea.

TABEL I

Valori Rf și culori obținute imediat după pulverizare

Substanțe de referință	Solvenți de dezvoltare				Spray-uri indicatoare			
	Valori Rf				Culori rezultate			
(3.20.)	(3.22.1.)	(3.22.2.)	(3.22.3.)	(3.22.4.)	Diazo (3.23.1.)	Ehrlich (3.23.2.)	Dimetilfenol (3.23.3.)	AgNO (3.23.4.)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	maro pal	-	-	maro pal
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	maro-violet (*)	galben	maro pal	maro pal
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	maro	roșu aprins (*)	violet	gri
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	maro (*)	oranj pal	maro pal	maro cenușiu
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	maro roșiatic (*)	galben	maro	negru
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	maro	oranj	violet (*)	gri
DAP	0,07	-	0	0,05	maro(*)	oranj	violet	maro
H	0,50	0,35	0,80	0,20	-	oranj	violet	negru (*)
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	maro-oranj	-	violet (*)	negru
P	0,37	-	0,67	0,05	maro	violet foarte pal	maro foarte pal	maro (*)
R	0,50	0,37	0,80	0,17	oranj (*)	violet pal	maro foarte pal	maro pal

Notă

- OPD este indicat numai slab; solventul (3.22.3.) trebuie să fie folosit pentru a-l separa clar de OTD.
- (*) Indică dezvoltarea celei mai bune culori.

6. EXAMINARE PRIN CROMATOGRAFIE ÎN STRAT SUBȚIRE BIDIMENSIONALĂ

Acest procedeu de cromatografie în strat subțire necesită folosirea unor substanțe, reactivi și soluții de referință suplimentare.

6.1. Substanțe și soluții de referință suplimentare

6.1.1. β-naftol (β-N)

6.1.2. -aminofenol (OAP)

6.1.3. 3-aminofenol (MAP)

6.1.4. 4-aminofenol (PAP)

6.1.5. 2-nitro-1,4-fenilendiamină (2-NPPD)

6.1.6. 4-nitro-1,2-fenilendiamină (4-NOPD)

Se prepară o soluție 0,5% (m/v) din fiecare substanță de referință suplimentară conform descrierii de la 3.21.

6.2. Solvent de dezvoltare suplimentar

6.2.1. Acetat de etil-ciclohexan-soluție de amoniac 25% (65 : 30 : 0,5 (volume))

6.3. Sistem de dezvoltare suplimentar

Se pune un vas de sticlă într-un tanc de dezvoltare pentru cromatografia în strat subțire, se adaugă circa 2 g iod cristalizat și se acoperă vasul cu un capac potrivit.

6.4. Cromatografiere

6.4.1. Se trasează două linii, așa cum se arată în figura 1, pe suprafața absorbantă a unei plăci în strat subțire (4.1.3.)

6.4.2. Sub atmosferă de azot (4.1.1.), se pun 1 până la 4 μl extract (5.1.) la punctul de bază 1 (figura 1) care este la 2 cm față de cele două laturi. Cantitatea de extract depinde de intensitatea spoturilor de pe cromatogramele 5.2.

6.4.3. Se împart între punctele 2 și 3 (figura 1) coloranții de oxidare identificați sau presupuși a fi identificați la 5.2. (distanța între puncte 1,5 cm). Se pun 2 μl din fiecare soluție de referință — cu excepția DAP din care trebuie puși 6 μl. Se operează în atmosferă de azot (6.4.2.)

6.4.4. Se repetă operația de la 6.4.3. la punctele de bază 4 și 5 (figura 1) și se păstrează placa sub atmosferă de azot până în momentul în care este cromatografiată (distanța între puncte 1,5 cm).

6.4.5. Se suflă cu azot tancul cromatografic (3.8.) și se pune în acesta o cantitate adecvată de solvent de dezvoltare 3.22.2. Se pune placa (6.4.4.) în tanc și se developează în prima direcție de eluție (figura 1), la întuneric.

Se eluează până când frontul de solvent atinge linia marcată pe placă (aproximativ 13 cm).

6.4.6. Se scoate placa din tanc și se plasează în tancul cromatografic anterior suflat cu azot pentru evaporarea solventului de eluție pentru cel puțin 60 de minute.

6.4.7. Cu o eprubetă gradată, se pune o cantitate adecvată de solvent de eluție (6.2.) într-un tanc suflat cu azot (3.8.), se pune placa rotită cu 90° în tanc (6.4.6.) și se cromatografiază în a doua direcție (de asemenea în întuneric) până când frontul de solvent atinge linia desenată pe suprafața absorbantă. Se scoate placa din tanc și se evaporă solventul de eluție în aer.

6.4.8. Se pune placa pentru 10 minute în tancul cromatografic cu vapori de iod (6.3.) și se interpretează cromatograma bidimensională folosind valorile R_f și valorile culorilor ale substanțelor de referință cromatografiate în același timp (tabelul II este un ghid al valorilor R_f și al culorilor).

Notă: Pentru a obține colorare maximă a spoturilor se lasă cromatograma expusă în atmosferă timp de 30 minute după dezvoltare.

6.4.9. Prezența coloranților de oxidare găsiți la 6.4.8. poate fi confirmată definitiv prin repetarea operațiilor descrise de la 6.4.1. la 6.4.8. și adăugând la punctul de bază 1 în vârful cantității de extract specificate la 6.4.2. 1 μl din substanțele de referință identificate la 6.4.8. Dacă nu se găsește niciun alt punct în comparație cu cromatograma obținută la 6.4.8., interpretarea cromatogramei 6.4.8. este corectă.

TABEL II

Culoarea substanțelor de referință după cromatografiere și dezvoltare cu vapori de iod

Substanțe de referință	Culoare după dezvoltare cu vapori de iod
R	bej
P	maro
α-N	violet
β-N	maro pal
H	maro-violet
MPD	maro gălbui
PPD	maro-violet
MTD	maro închis
PTD	maro gălbui
DAP	maro închis
OAP	oranj
MAP	maro gălbui
PAP	maro-violet
2-NPPD	maro
4-NOPD	oranj

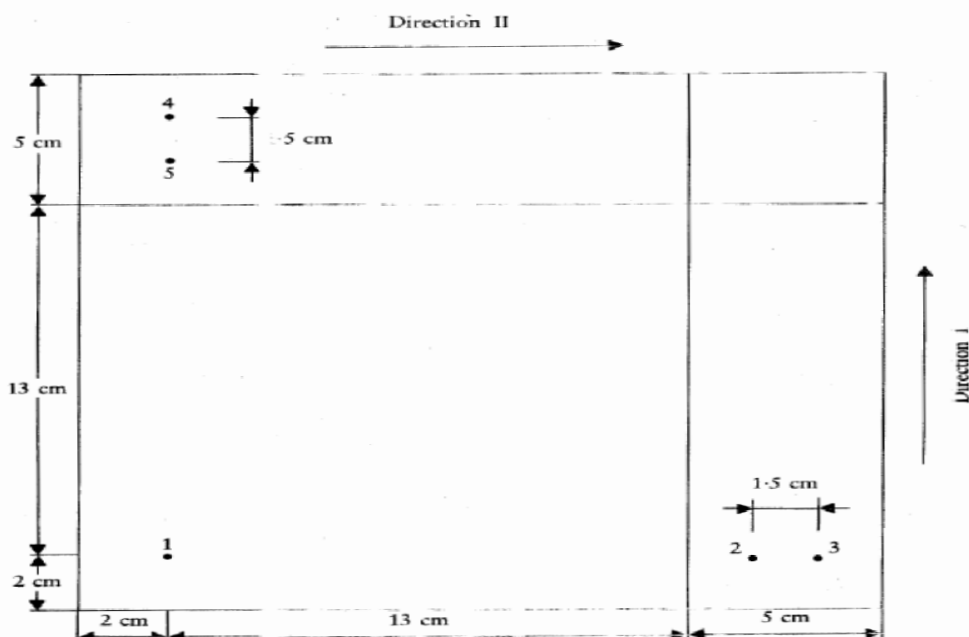


Figura nr. 1 la anexa nr. 10

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru nitriți în produsele cosmetice

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă este adecvată pentru identificarea azotitului în produsele cosmetice, în particular în creme și paste.

2. PRINCIPIU

Prezența azotitului este indicată prin formarea de derivați colorați cu fenilhidrazona 2-aminobenzaldehidei.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid sulfuric diluat: se diluează 2 ml acid sulfuric concentrat ($d_4^{20} = 1,84$) cu 11 ml apă distilată.

3.2. Acid clorhidric diluat: se diluează 1 ml acid clorhidric concentrat ($d_4^{20} = 1,19$) cu 11 ml apă distilată.

3.3. Metanol

3.4. O soluție de 2-aminobenzaldehidă fenilhidrazonă (reactiv Nitrin ®) în metanol

Se cântăresc 2,0 g de Nitrin ® și se transferă cantitativ într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă cu picătura 4 ml acid clorhidric diluat (3.2.) și se amestecă. Se umple până la semn cu metanol și se amestecă până când soluția devine complet clară. Se depozitează soluția într-un flacon de sticlă maro (4.3.).

4. APARATURĂ

4.1. Pahare de laborator, 50 ml

4.2. Balon cotat, 100 ml

4.3. Flacon de sticlă brună, 125 ml

4.4. Sticlă de ceas, 10x10 cm

4.5. Spatule de plastic

4.6. Hârtie de filtru, 10x10 cm

5. PROCEDEU

5.1. Se întinde uniform o parte din probă pe sticla de ceas (4.4.), stratul ce acoperă suprafața nedepășind 1 cm.

5.2. Se udă hârtia de filtru (4.6.) cu apă distilată. Se așază peste probă și se presează hârtia de filtru cu spatula de plastic (4.5.)

5.3. Se lasă un minut și se aplică pe centrul hârtiei de filtru:

— 2 picături de acid sulfuric diluat (3.1.)

— urmate de 2 picături soluție de Nitrin ® (3.4.)

5.4. După 5—10 secunde, se îndepărtează hârtia de filtru și se examinează la lumină naturală. Prezența azotitului este indicată prin colorația purpurii roșiatică.

Dacă conținutul de azotit este scăzut, colorația purpurii roșiatică devine galbenă după 5 — 15 secunde. Această schimbare de culoare are loc numai după 1-2 minute, atunci când cantitatea de azotit prezent este mare.

6. OBSERVAȚIE

Intensitatea culorii purpurii roșiatică și durata de timp înainte de modificarea în galben ne pot da o indicație asupra conținutului de azotit în amestec.

B. DETERMINARE

1. SCOP

Metoda descrie determinarea azotitului în produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Conținut de azotit în probă, determinat conform acestei metode, este exprimat în % de masă de azotit de sodiu.

3. PRINCIPIU

După diluarea probei în apă și limpezire, azotitul prezent este făcut să reacționeze cu sulfonilamidă și N-1-naftiletilendiamină și se măsoară densitatea optică a culorii obținute, la 538 nm.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de calitate analitică.

4.1. Reactivi de limpezire: acești reactivi nu pot fi folosiți la mai mult de 1 săptămână de la preparare.

4.1.1. Reactiv Carrez I:

Se dizolvă 106 g hexacianoferat de potasiu (II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ în apă distilată și se diluează cu apă până la 1000 ml.

4.1.2. Reactiv Carrez II:

Se dizolvă 299,5 g acetat de zinc, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ și 30 ml acid acetic glacial în apă distilată și apoi se diluează cu apă până la 1000 ml.

4.2. Soluție de azotit de sodiu:

Într-un balon cotat de 1000 ml se dizolvă 0,500 g azotit de sodiu în apă distilată și se diluează cu apă până la semn. Se diluează 10,0 ml din această soluție standard stoc până la 500 ml; 1 ml din această ultimă soluție = 10 micrograme de $NaNO_2$.

4.3. Soluție de hidroxid de sodiu 1 N

4.4. Soluție de clorhidrat de sulfanilamidă 0,2%

Se dizolvă 2,0 g sulfanilamidă în 800 ml apă la cald. Se răcește și se adaugă 100 ml acid clorhidric concentrat agitându-se în acest timp. Se adaugă apă până la 1000 ml.

4.5. Acid clorhidric 5 N

4.6. Reactiv N-1-naftil:

Această soluție trebuie preparată în ziua în care se folosește. Se dizolvă 0,1 g diclorhidrat de N-1-naftiletilendiamină în apă și se diluează cu apă până la 100 ml.

5. APARATURĂ

5.1. Balanță analitică

5.2. Baloane cotate de 150, 250, 500 și 1000 ml

5.3. Pipete gradate sau pipete cu un marcaj cu bulă

5.4. Cilindrii gradați de 100 ml

5.5. Hârtie de filtru cutată, fără azotit, diametru 15 cm

5.6. Baie de apă

5.7. Spectofotometru cu cuvă optică de lungime de cale 1 cm

5.8. pH-metru

5.9. Microbiuretă, 10 ml

5.10. Pahare de laborator, 250 ml.

6. PROCEDEU

6.1. Se cântăresc cu o precizie de 0,1 mg circa 0,5 g ("m" grame) probă pentru testare omogenizată, se transferă cantitativ cu apă distilată fierbinte într-un pahar de 250 ml (5.10.) și se completează cu apă distilată fierbinte până la 150 ml. Se pune paharul (5.10.) în baia de apă (5.6.) la 80° C pentru jumătate de oră. În această perioadă, conținutul se agită din când în când.

6.2. Se răcește la temperatura camerei și se adaugă succesiv, sub agitare, 2 ml reactiv Carrez I (4.1.1.) și 2 ml reactiv Carrez II (4.1.2.).

6.3. Se adaugă soluție de hidroxid de sodiu 1N (4.3.) pentru a aduce pH-ul la 8,3 [se folosește pH-metru (5.8.)]. Se transferă cantitativ conținutul într-un balon cotat de 250 ml (5.2.) și se aduce la semn cu apă distilată.

6.4. Se amestecă conținutul și se filtrează prin hârtie de filtru cutată (5.5.).

6.5. Se pune cu pipeta într-un balon cotat de 100 ml (5.2.) o porțiune adecvată ("V" ml) de filtrat limpede, dar nu mai mult de 25 ml, și se adaugă apă distilată până la un volum de 60 ml.

6.6. După amestecare, se adaugă 10,0 ml soluție hidroclorură de sulfanilamidă (4.4.) și 6,0 ml de acid clorhidric 5N (4.5.). Se amestecă și se lasă să stea 5 minute. Se adaugă 2,0 ml reactiv N-1-naftil (4.6.), se amestecă și se lasă să stea 3 minute. Se diluează cu apă până la semn și se amestecă.

6.7. Se prepară un test orb prin repetarea operațiilor 6.5. și 6.6. fără adăugarea reactivului N-1-naftil.

6.8. Se măsoară (5.7.) densitatea optică la 538 nm a soluției obținute la 6.6. folosind soluția oarbă (6.7.) ca referință.

6.9. Se citește de pe graficul de etalonare (6.10.) conținutul de azotit de sodiu în micrograme per 100 ml de soluție (" m_1 " micrograme) care corespunde densității optice măsurate la (6.8.).

6.10. Folosind 10 μ g per ml soluție azotit de sodiu (4.2.), se realizează un grafic de etalonare pentru concentrațiile 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g de azotit de sodiu per 100 ml.

7. CALCUL

Se calculează conținutul de azotit de sodiu din probă, în procente de masă, folosind următoarea formulă:

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

în care :

m = masa probei pentru testare, în grame, luate pentru analiză (6.1.)

m₁ = conținutul de azotit de sodiu, în micrograme, găsit la 6.9.

V = număr de mililitri de filtrat folosit pentru măsurătoare (6.5)

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de circa 0,2% m/m azotit de sodiu, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,005%.

ANEXA Nr. 12

M E T O D Ă**de determinare cantitativă pentru rezorcinol din produsele pentru îngrijirea părului****1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

(1) Vezi standardul SR ISO 5725.

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea rezorcinolului în șampoane și loțiuni de păr prin cromatografiere de gaze. Metoda este adecvată pentru concentrații de la 0,1 la 2,0 procente de masă în probă.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de rezorcinol din proba pentru testare determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă.

3. PRINCIPIU

Rezorcinolul și 3,5-dihidroxitoluenul, (5-metilrezorcinol) adăugat ca standard intern, sunt separate de probă prin cromatografiere în strat subțire. Amândoi componenții sunt izolați prin decuparea spoturilor de pe placa de strat subțire și extragerea cu metanol. În final compușii extrași sunt uscați, sililați și determinați prin cromatografiere de gaze.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Acid clorhidric 25% (m/m).

4.2. Metanol

4.3. Etanol 96% (v/v)

4.4. Plăci de strat subțire cu silicagel pentru cromatografie în strat subțire gata preparate (din plastic sau aluminiu) cu indicator fluorescent.

Se dezactivează după cum urmează: se pulverizează plăcile precoperite cu silice cu apă până se glazurează. Se lasă plăcile pulverizate să se usuce în aer la temperatura camerei pentru una până la trei ore.

Notă:

Dacă plăcile nu sunt dezactivate se pot produce pierderi de rezorcinol prin adsorbția ireversibilă pe silice.

4.5. Solvent de dezvoltare; acetonă — cloroform — acid acetic (20 : 75 : 5 (volume))

4.6. Soluție standard de rezorcinol; se dizolvă 400 mg rezorcinol în 100 ml etanol 96% (4.3.) (1 ml corespunde la 4000 μg rezorcinol).

4.7. Soluția standard intern: se dizolvă 400 mg 3,5-dihidroxitoluen (DHT) în 100 ml etanol 96% (4.3.) (1 ml corespunde la 4000 μg DHT).

4.8. Amestec standard: într-un balon cotat de 100 ml se amestecă 10 ml soluție 4.6 și 10 ml soluție 4.7., se aduce la semn cu etanol 96% (4.3.) și se amestecă (1 ml corespunde la 400 μg rezorcinol și 400 μg DHT).

4.9. Agenți de sililare

4.9.1. N, O-bi(trimetilsilil) trifluoroacetamidă (BSTFA)

4.9.2. Hexametildisilazan (HMDS)

4.9.3. Trimetilclorosilan (TMCS)

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual pentru cromatografia în strat subțire și cromatografia de gaze

5.2. Sticlărie de laborator

6. PROCEDEU

6.1. Prepararea probei

6.1.1. Într-un pahar de 150 ml se cântărește cu precizie o probă pentru testare ("m" grame) din produs care conține circa 20 până la 50 mg rezorcinol.

6.1.2. Se acidifică cu acid clorhidric (4.1.) până când amestecul este acid (circa 2 până la 4 ml), se adaugă 10 ml (40 mg DHT) soluție standard intern (4.7.) și se amestecă. Se transferă cu etanol (4.3.) într-un balon cotat de 100 ml, se aduce la semn cu etanol și se amestecă.

6.1.3. Se aplică 250 μl soluție (6.1.2.) pe o folie de silice dezactivată (4.4.) sub formă de linie continuă de aproximativ 8 cm lungime. Trebuie avut grijă ca linia să fie cât mai subțire posibil.

6.1.4. Se aplică 250 μl amestec standard (4.8.) pe aceeași placă și în același mod (6.1.3.).

6.1.5. Se picură pe două puncte de pe linia de pornire câte 5 μl din fiecare dintre soluțiile 4.6. și 4.7. pentru a ajuta la localizare după dezvoltarea plăcii.

6.1.6. Se dezvoltă placa într-un tanc necăptușit (nesaturat) umplut cu solvent de dezvoltare 4.5 până când frontul de solvent a atins 12 cm de la linia de pornire; de obicei aceasta durează 45 minute. Se usucă placa în aer și se localizează zona de rezorcinol/DHT sub lumină UV (254 nm). Cei 2 componenți au aproximativ aceleași valori R_f. Se marchează benzile cu creionul la 2 mm distanță de limita întunecată exterioară a benzilor. Se îndepărtează aceste zone și se colectează adsorbantul fiecărei benzi într-un flacon de 10 ml.

6.1.7. Se extrage adsorbantul conținând proba și cel ce conține amestecul standard, fiecare în modul următor:

Se adaugă 2 ml metanol (4.2.) și se extrage timp de o oră sub agitare continuă. Se filtrează amestecul și se repetă extracția timp de alte 15 minute cu 2 ml metanol.

6.1.8. Se combină extractele și se evaporază solventul prin uscare peste noapte într-un exicator cu vid umplut cu desicant adecvat. Nu se încălzește deloc.

6.1.9. Se sililează reziduurile (6.1.8.) conform 6.1.9.1. sau 6.1.9.2.

6.1.9.1. Cu o microsiringă se adaugă peste amestec 200 μl BSTFA (4.9.1.) și se lasă 12 ore într-un vas închis la temperatura camerei.

6.1.9.2. Cu o microsiringă se adaugă 200 μl HMDS (4.9.2.) și 100 μl TMCS (4.9.3.) și se încălzește amestecul timp de 30 minute la 60° C într-un vas închis. Se răcește amestecul.

6.2. Cromatografiere de gaze

6.2.1. *Condiții de cromatografiere*

Coloana trebuie să realizeze o rezoluție, R, egală sau mai bună decât 1,5, unde:

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

în care:

 r_2 și r_1 = timpii de retenție, în minute, a două picuri w_1 și w_2 = lățimea acelorași picuri la jumătatea înălțimii, în mm d' = viteza înregistratorului graficului, în mm per minut.

S-au găsit adecvate următoarele condiții pentru cromatografia de gaze și coloană:

a) Coloană:

material: oțel inoxidabil

lungime: 200 cm

diametrul intern ~ 3mm

umplutură: 10% OV — 17 pe Chromosorb WAW 100 până la 200 ochiuri

b) Detector cu ionizare în flacără

c) Temperaturi:

coloană: 185° C (izotermă)

detector: 250° C

injector: 250° C

d) Gaz purtător: azot

debit: 45ml/min

Pentru reglarea debitelor de hidrogen și aer se vor urma instrucțiunile producătorului.

6.2.2. Se injectează 1 până la 3 μl din soluțiile obținute la 6.1.9. în cromatograful de gaze. Se efectuează 5 injecții pentru fiecare soluție (6.1.9.), se măsoară suprafețele picului, se face media acestora și se calculează proporția suprafeței picului: S = suprafața picului de rezorcinol/suprafața picului DHT.

7. CALCUL

Concentrația de rezorcinol din probă, exprimată în % de masă (% m/m), este dată de:

$$\% \text{ rezorcinol} = \frac{4}{M} \times \frac{S_{\text{proba}}}{S_{\text{amestec standard}}}$$

în care:

- M = proba pentru testare în grame (6.1.1.)
 S_{proba} = proporția suprafeței picului medie conform 6.2.2. pentru soluția probă
 $S_{\text{amestec standard}}$ = proporția suprafeței picului medie conform 6.2.2. pentru amestecul standard

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de rezorcinol de circa 0,5% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,02.

ANEXA Nr. 13

M E T O D Ă**de determinare cantitativă pentru metanol față de etanol sau 2-propanol****1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Această metodă reglementează analiza prin cromatografie de gaze a metanolului în toate tipurile de produse cosmetice (inclusiv produse pulverizate ca aerosoli).

Pot fi determinate nivele relative de 0 până la 10%.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de metanol determinat conform acestei metode este exprimat în procente masice de metanol față de etanol sau 2-propanol.

3. PRINCIPIU

Determinarea se realizează prin cromatografie de gaze.

4. REACTIVI

Toți reactivii sunt de puritate analitică.

- 4.1. Metanol
- 4.2. Etanol absolut
- 4.3. 2-propanol
- 4.4. Cloroform, liber de alcooli prin spălare cu apă

5. APARATURĂ

5.1. Cromatograf de gaze:

- cu detector catarometru pentru probele cu aerosoli
- cu detector cu ionizare cu flacără pentru probele non-aerosoli

5.2. Baloane cotate, 100 ml

5.3. Pipete, 2 ml, 20 ml, 0 până la 1 ml

5.4. Microseringi 0 până la 100 μ l și 0 până la 5 μ l

și (numai pentru probele cu aerosoli) seringi de gaz sub presiune cu robinet cu sertar (vezi metodă pentru prepararea probei pentru testare, figura 5 din anexa nr. 3 la ordin.)

6. PROCEDEU

6.1. Preparare probă

6.1.1. Probele din produsele tip aerosoli se prelevează și apoi se analizează prin cromatografie de gaze în condițiile de la punctul 6.2.1.

6.1.2. Probele din produsele non-aerosoli se prelevează conform anexei nr. 3 la ordin, se diluează cu apă până la un nivel de 1 până la 2% etanol sau 2-propanol și apoi se analizează prin cromatografie de gaze în condițiile de la punctul 6.2.2.

6.2. Cromatografie de gaze

6.2.1. Pentru probele cu aerosoli se folosește detector catarometru.

6.2.1.1. Coloana este umplută cu 10% Hallcomid M18 pe Chromosorb WAW cu 100÷200 (ochiuri)

6.2.1.2. Coloana trebuie să realizeze o rezoluție, R, egală sau mai bună decât 1,5, unde:

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

în care:

r_1 și r_2 = timpii de retenție în minute pentru două picuri,
 W_1 și W_2 = lățimea aceluiași picuri la jumătatea înălțimii în mm,
 d' = viteza de înregistrare a graficului, în mm per minut.

6.2.1.3. Următoarele condiții permit atingerea acestei rezoluții:

Coloană material: oțel inoxidabil
 lungime: 3,5 m
 diametru: 3 mm

Curent punte catarametru: 150 mA

Gaz purtător: heliu
 presiune: 2,5 bar
 debit: 45 ml/min.

Temperaturi:
 injector: 150° C
 detector: 150° C
 încălzitor coloană: 65° C

Măsurarea suprafețelor picurilor poate fi îmbunătățită prin integrare electronică.

6.2.2. Pentru probele fără aerosoli

6.2.2.1. Coloana se umple cu Chromosorb 105 sau Porapak QS și se folosește un detector cu ionizare în flacără.

6.2.2.2. Coloana trebuie să realizeze o rezoluție, R, egală sau mai bună decât 1,5 unde:

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

în care:

r_1 și r_2 = timpii de retenție în minute pentru două picuri,
 w_1 și w_2 = lățimea aceluiași picuri la jumătatea înălțimii în mm,
 d' = viteza de înregistrare a graficului în mm per minut.

6.2.2.3. Condițiile care permit obținerea acestei rezoluții sunt:

Coloană material: oțel inoxidabil
 lungime: 2 m
 diametru: 3 mm

Senzitivitate electrometru: 8×10^{-10} A

Gaze:
 purtător: azot
 presiune: 2,1 bar
 debit: 40 ml/min
auxiliar: hidrogen
 presiune: 1,5 bar
 debit: 20 ml/min

Temperaturi:

injector: 150°C
 detector: 230°C
 încălzitor coloană: 120 la 130°C

7. GRAFIC STANDARD

7.1. Pentru procedeul cromatografie de gaze 6.2.1. (coloană Hallcomid M18) se folosesc următoarele amestecuri standard. Aceste amestecuri se prepară prin măsurare cu pipeta, dar se determină cantitatea exactă prin cântărirea imediată a pipetei sau flaconului după fiecare adăugare.

Concentrație relativă (m/m %)	Metanol (ml)	Etanol sau 2-propanol (ml)	Cloroform adăugat până la un volum de
circa 2,5%	0,5	20	100 ml
circa 5,0%	1,0	20	100 ml
circa 7,5%	1,5	20	100 ml
circa 10,0%	2,0	20	100 ml

Se injectează 2÷3 μl în cromatograf folosind condițiile de la 6.2.1.

Se calculează raportul suprafețelor picurilor (metanol/etanol) sau (metanol/2-propanol) pentru fiecare amestec.

Se trasează graficul standard folosind:

Axa X: % metanol față de etanol sau 2-propanol

Axa Y: raport suprafețe picuri (metanol/etanol) sau (metanol/2-propanol)

7.2. Pentru procedeul cromatografie de gaze 6.2.2. (Porapac QS sau Chromosorb 105) se folosesc următoarele amestecuri standard. Aceste amestecuri se prepară prin măsurare cu pipeta, dar se determină cantitatea exactă prin cântărirea imediată a pipetei sau flaconului după fiecare adăugare.

Concentrație relativă (m/m %)	Metanol (μl)	Etanol sau 2-propanol (ml)	Apă adăugată până la un volum de
circa 2,5%	50	2	100 ml
circa 5,0%	100	2	100 ml
circa 7,5%	150	2	100 ml
circa 10,0%	200	2	100 ml

Se injectează 2÷3 μl în cromatograf folosind condițiile de la 6.2.2.

Se calculează raportul suprafețelor picurilor (metanol/etanol) sau (metanol/2-propanol) pentru fiecare amestec.

Se trasează graficul standard folosind:

Axa X: % metanol față de etanol sau 2-propanol

Axa Y: raport suprafețe picuri (metanol/etanol) sau (metanol/2-propanol)

7.3. Graficul standard trebuie să fie o linie dreaptă.

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de metanol de 5% față de etanol sau 2-propanol diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel nu trebuie să depășească 0,25%.

ANEXA Nr. 14

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru formaldehida liberă

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă este reglementată pentru identificare și două determinări în conformitate cu prezența sau absența donozilor de formaldehidă. Este aplicabilă la toate produsele cosmetice.

1.1. Identificare

1.2. Determinare generală prin colorimetria cu pentan-2,4-dionă

Această metodă se aplică când formaldehida este utilizată singură sau împreună cu alți conservanți care nu sunt donozori de formaldehidă.

Când nu se întâlnește această situație sau dacă rezultatul depășește concentrația maximă admisă, trebuie folosită următoarea metodă de confirmare.

1.3. Determinare în prezența donozilor de formaldehidă

În metoda menționată mai sus (1.2.), în timpul procesului de formare a derivaților, donozii de formaldehidă se desfac și conduc la rezultate care sunt prea mari (formaldehidă combinată și polimerizată). Este necesară separarea formaldehidei libere prin cromatografia de lichide.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de formaldehidă liberă al probei determinat în conformitate cu această metodă este exprimat în procente de masă.

3. IDENTIFICARE

3.1. Principiu

În mediu de acid sulfuric, formaldehida liberă și combinată colorează reactivul Schiff în roz sau mov.

3.2. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică, iar apa trebuie să fie demineralizată.

3.2.1. Fucsină

3.2.2. Sulfid de sodiu hidratat cu 7H₂O

3.2.3. Acid clorhidric concentrat (d = 1,19)

3.2.4. Acid sulfuric, circa 1 M

3.2.5. Reactivul Schiff:

Se cântăresc într-un pahar de laborator 100 mg fucsină (3.2.1.) și se dizolvă în 75 ml apă la 80° C. După răcire, se adaugă 2,5 g sulfid de sodiu (3.2.2.). Se completează până la 100 ml.

Se utilizează în interval de două săptămâni.

3.3. Procedeu

3.3.1. Într-un pahar de 10 ml se cântăresc 2 g de probă.

Se adaugă două picături de acid sulfuric (3.2.4.) și 2 ml de reactiv Schiff (3.2.5.). Când este folosit reactivul trebuie să fie absolut incolor. Se agită și se lasă să stea cinci minute.

3.3.2. Dacă în interval de cinci minute se observă o tentă roz sau mov, formaldehida este prezentă în exces de 0,01% și va fi determinată prin metoda liberă sau combinată (4) și, dacă este necesar, prin procedura (5).

4. DETERMINARE GENERALĂ PRIN COLORIMETRIA PENTAN-2,4-DIONEI

4.1. Principiu

Formaldehida reacționează cu pentan-2,4-diona, în prezența acetatului de amoniu, și formează 3,5-diacetil-1,4-dihidrolutidină. Aceasta este extrasă cu 1-butanol și absorbanta extractului este măsurată la 410 nm.

4.2. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică, iar apa trebuie să fie demineralizată.

4.2.1. Acetat de amoniu anhidru

4.2.2. Acid acetic concentrat $d_4^{20} = 1,05$

4.2.3. Pentan-2,4-dionă proaspăt distilată la presiune redusă 25 mm Hg la 25° — nu trebuie să absoarbă la 410 nm.

4.2.4. 1-Butanol

4.2.5. Acid clorhidric, 0,1 M

4.2.6. Acid clorhidric, circa 0,1 M

4.2.7. Hidroxid de sodiu, 1 M

4.2.8. Soluție de amidon proaspăt preparată, în conformitate cu European Pharmacopeea (1g/50 ml apă), ediția II-a 1980, part. I-VII-1-1

4.2.9. Formaldehida 37 — 40% m/v

4.2.10. Soluție de iod standard, 0,05 M

4.2.11. Soluție de tiosulfat de sodiu standard, 0,1 M

4.2.12. Reactiv pentan-2,4-dionă

Într-un balon cotat de 1.000 ml se dizolvă:

— 150 g acetat de amoniu (4.2.1.)

— 2 ml pentan-2,4-dionă (4.2.3.)

— 3 ml acid acetic (4.2.2.)

Se completează cu apă până la semn (pH-ul soluției circa 6,4)

Acest reactiv trebuie să fie proaspăt preparat

4.2.13. Reactiv (4.2.12.) fără pentan-2,4-dionă

4.2.14. (Formaldehidă standard) soluție stoc

Într-un balon cotat se toamnă 5 g de formaldehidă (4.2.9.) și se completează cu apă până la 1.000 ml.

Se determină concentrația soluției după cum urmează:

Se iau 10,00 ml; se adaugă 25,00 ml de soluție de iod standard (4.2.10.) și 10,00 ml soluție hidroxid de sodiu (4.2.7.). Se lasă să stea 5 minute.

Se acidificază cu 11,00 ml HCl (4.2.5.) și se determină excesul de iod cu soluție de tiosulfat de sodiu standard (4.2.11.), utilizând soluție de amidon (4.2.8.) ca indicator.

1 ml de iod 0,05 M (4.2.10.) consumat este echivalent cu 1,5 mg formaldehidă;

4.2.15. (Formaldehidă standard): soluție diluată

Se diluează soluția stoc de formaldehidă succesiv cu 1/20 și apoi 1/100 cu apă.

1 ml din această soluție conține circa 1 μ g de formaldehidă.

Se calculează conținutul exact.

4.3. Aparatură

4.3.1. Aparatură standard de laborator

4.3.2. Filtru de separare de faze, Whatman 1 PS (sau echivalent)

4.3.3. Centrifugă

4.3.4. Baie de apă, reglată la 60° C

4.3.5. Spectrofotometru

4.3.6. Cuve de sticlă cu cale optică de 1 cm

4.4. Procedeu

4.4.1. Soluție probă

Într-un balon cotat de 100 ml se cântărește cu precizie de 0,001 g o cantitate (în g) de probă pentru testare corespunzătoare unei presupuse cantități de formaldehidă de circa 150 μ g. Se completează până la 100 ml cu apă și se amestecă (soluție S).

[Verificați pH-ul pentru a fi apropiat de 6, dacă nu, diluați cu soluție de acid clorhidric (4.2.6.)].

Într-un pahar Erlenmayer de 50 ml se pun:

— 10,00 ml soluție S

— 5,00 ml reactiv pentan-2,4-dionă (4.2.12.)

— apă demineralizată până la un volum final de 30 ml.

4.4.2. Soluție de referință

Posibilele interferențe datorate culorii de fond a acest probei de test sunt eliminate prin utilizarea acestei soluții de referință:

Într-un pahar Erlenmayer de 50 ml se pun:

- 10,00 ml soluție S
- 5,00 ml reactiv (4.2.13.)
- apă demineralizată până la un volum final de 30 ml.

4.4.3. Test orb

Într-un pahar Erlenmayer de 5,0 ml se pun:

- 5,00 ml reactiv pentan-2,4-dionă (4.2.12.);
- apă demineralizată până la un volum final de 30 ml.

4.4.4. Determinare

4.4.4.1. Se agită amestecurile de 4.4.1., 4.4.2. și 4.4.3. Se introduc paharele Erlenmayer într-o baie de apă la 60° C pentru exact 10 minute. Se lasă la răcit într-o baie de apă cu gheață pentru două minute.

4.4.4.2. Se transferă în pâinii de separare de 50 ml conținând 10 ml de butanol (4.2.4.). Se clătește fiecare pahar cu 3 până la 5 ml de apă. Se agită puternic amestecul exact 30 secunde. Se lasă să se separe.

4.4.4.3. Se filtrează faza de 1-butanol în cuvele de măsurare (4.3.2.) printr-un filtru cu separare a fazelor. Poate fi de asemenea utilizată centrifugarea (3000 g_n pentru cinci minute).

4.4.4.4. Se măsoară absorbanta A₁ a extractului soluției probă de la 4.4.1., față de extractul soluției de referință 4.4.2., la 410 nm.

4.4.4.5. Similar se măsoară absorbanta A₂ a extractului soluției oarbe 4.4.3. față de 1-butanol.

N.B.: Toate aceste operații trebuie efectuate într-un interval de timp de 25 minute de când paharele Erlenmayer au fost introduse în baia de apă de 60° C.

4.4.5. Curba de etalonare

4.4.5.1. Într-un pahar Erlenmayer de 50 ml se pun:

- 5,00 ml de soluție standard diluată de la 4.2.15.
- 5,00 ml de reactiv pentan-2,4-dionă (4.2.12.)
- apă demineralizată până la un volum final de 30 ml.

4.4.5.2. Se continuă conform descrierii de la 4.4.4. și se măsoară absorbanta față de 1-butanol (4.2.4.).

4.4.5.3. Se repetă procedura cu 10, 15, 20 și 25 ml soluție standard diluată (4.2.15.)

4.4.5.4. Pentru a obține valoarea de zero (corespunzătoare colorației reactivilor) se procedează ca în 4.4.4.5.

4.4.5.5. Se construiește curba de etalonare după scăderea valorii de zero din fiecare din absorbantele obținute în 4.4.5.1. și 4.4.5.3. Legea lui Beer este valabilă până la un conținut de 30 μg formaldehidă.

4.5. Calcul

4.5.1. Se scade A₂ din A₁ și se citește din curba de etalonare (4.4.5.5.) cantitatea C, în μg, de formaldehidă din soluția probă (4.4.1.)

Se calculează conținutul de formaldehidă din probă (% m/m) cu ajutorul următoarei formule:

$$\text{conținut formaldehidă în \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

4.6. Repetabilitate (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de formaldehidă de 0,2%, diferența între rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă trebuie să nu depășească 0,005% pentru determinarea prin colorimetria cu pentan-2,4-dionă.

Dacă determinarea formaldehidei libere conduce la rezultate mai mari decât concentrația maximă stipulată în Ordinul ministrului sănătății nr. 1.448/2005, cu modificările ulterioare, de exemplu:

- a) între 0,005% și 0,2% pentru un produs neetichetat;
- b) mai mare decât 0,2% în produs, etichetat sau nu trebuie să se aplice procedeul descris la punctul 5.

5. DETERMINARE ÎN PREZENȚA DONORILOR DE FORMALDEHIDĂ

5.1. Principiu

Formaldehida separată este transformată într-un derivat lutidinic galben printr-o reacție cu pentan-2,4-dionă într-un reactor postcoloană și derivatul obținut este determinat prin absorbanta la 420 nm.

5.2. Reactivi

Toți reactanții trebuie să fie de puritate analitică, iar apa trebuie să fie demineralizată.

5.2.1. Apă de puritate HPLC sau de calitate echivalentă

5.2.2. Acetat de amoniu anhidru

5.2.3. Acid acetic concentrat

5.2.4. Pentan-2,4-dionă (păstrată la 4° C)

- 5.2.5. Fosfat disodic anhidru
5.2.6. Acid ortofosforic 85% (d = 1,7)
5.2.7. Metanol de puritate HPLC
5.2.8. Diclorometan
5.2.9. Formaldehida de 37 la 40% m/v
5.2.10. Hidroxid de sodiu, 1 M
5.2.11. Acid clorhidric, 1 M
5.2.12. Acid clorhidric, 0,002 M
5.2.13. Soluție de amidon proaspăt preparată în conformitate cu European Pharmacopoeia (vezi 4.2.8.)
5.2.14. Soluție de iod standard, 0,05 M
5.2.15. Soluție de tiosulfat de sodiu standard, 0,1 M
5.2.16. Fază mobilă:
Soluție apoasă de fosfat disodic (5.2.5.), 0,006 M reglată cu acid ortofosforic (5.2.6.) la un pH de 2,1.
5.2.17. Reactiv postcoloană
Într-un balon cotat de 1000 ml se dizolvă:
— 62,5 g acetat de amoniu (5.2.2.);
— 7,5 ml acid acetic;
— 5 ml pentan-2,4-dionă (5.2.4.).
Se completează până la 1000 ml cu apă (5.2.1.).
Acest reactiv se păstrează ferit de lumină.
Timp de conservare: maximum trei zile la 25°C.
Nu trebuie să se observe nicio schimbare de culoare.
5.2.18. (Formaldehydă standard): soluție stoc.
Într-un balon gradat de 1000 ml se toarnă 10 g de formaldehydă (5.2.9.) și se completează până la 1000 ml cu apă.
Se determină concentrația soluției în modul următor:
Se îndepărtează 5,00 ml; se adaugă 25,00 ml de soluție de iod standard (5.2.14.) și 10,00 ml de soluție de hidroxid de sodiu (5.2.10.).
Se lasă să stea cinci minute.
Se acidificază cu 11,00 ml de HCl (5.2.11.) și se titrează excesul de soluție de iod standard cu soluție de tiosulfat de sodiu (5.2.15.), utilizând soluție de amidon ca indicator.
1 ml de soluție de iod (5.2.14.) este echivalent cu 1,5 mg formaldehydă.
5.2.19. (Formaldehydă standard): soluție diluată.
Se diluează soluția stoc la 1/100 din concentrația sa inițială în faza mobilă (5.2.16.).
1 ml din această soluție conține circa 37 mg formaldehydă.
Se calculează conținutul exact.
- 5.3. Aparatură**
- 5.3.1. Aparatură standard de laborator
5.3.2. Pompă HPLC, nepulsatorie
5.3.3. Pompă nepulsatorie de joasă presiune pentru reactiv (sau o a doua pompă HPLC).
5.3.4. Injector cu ventil de injecție cu o buclă de 10 μl.
Reactor postcoloană cu următoarele componente:
+ un balon cu trei găuri de 1 l;
+ un dispozitiv de încălzire cu manta pentru balonul de 1 l;
+ două coloane Vigreux cu minimum 10 talere, răcite cu aer;
+ tub din oțel inoxidabil (pentru schimb de căldură) 1,6 mm — diametru interior 0,23 mm, lungime = 400 mm,
+ tub de teflon 1,6 mm — diametru interior 0,300 mm, lungimea 5 m ("French knitting"), vezi anexa 1
+ un teu fără volum mort (tip Valco sau echivalent)
+ trei racorduri fără volum mort
- Sau:* Un modul postcoloană Applied Biosystems PCRS 520 sau echivalent echipat cu un reactor de 1 ml.
- 5.3.5. Filtru cu membrană, dimensiunea porilor 0,45 μm.
5.3.6. Cartuș SEP-PAC^R C₁₈ sau echivalent.
5.3.7. Coloane gata preparate:
— Bischoff hipersil RP 18 (tip NC referință C25.46 1805)
(5 μm, lungime = 250 mm, diametrul interior = 4,6 mm)
— sau Dupont, Zorbax ODS
(5 μm, lungime = 250 mm, diametrul interior = 4,6 mm)
— sau Phase SEP, spherisorb ODS 2
(5 μm, lungime = 250 mm, diametrul interior = 4,6 mm).
5.3.8. Precoloană
— Bischoff K, hypersil RP 18 (referință K1 G 6301 1805)
(5 μm, lungime = 10 mm, sau echivalent)

5.3.9. Coloana și precoloana sunt conectate prin intermediul unui sistem Ecotube (referință A 15020508 Bischoff) sau echivalent.

5.3.10. Se assemblează aparatura (5.3.4. alin 2.) conform schemei bloc din anexa 2.

Conectorii de după injector trebuie să fie cât mai scurți posibil. În acest caz, tubul de oțel inoxidabil dintre ieșirea reactorului și intrarea detectorului răcește amestecul înaintea detecției, iar temperatura în detector este necunoscută, dar constantă.

5.3.11. Detector cu spectru vizibil — UV.

5.3.12. Înregistrator

5.3.13. Centrifugă

5.3.14. Baie ultrasonică

5.3.15. Agitator vibrator (vortex sau echivalent)

5.4. Procedeu

5.4.1. Curbă de etalonare

Aceasta este obținută prin construirea curbei înălțimilor picurilor ca funcție a concentrației standard formaldehidă: diluată.

Se prepară soluțiile standard prin diluarea soluției de referință de formaldehidă (5.2.19.) cu faza mobilă (5.2.16.)

— 1,00 ml de soluție (5.2.19.) diluată la 20,00 ml (circa 185 μg/100 ml).

— 2,00 ml de soluție (5.2.19.) diluată la 20,00 ml (circa 370 μg/100 ml).

— 5,00 ml de soluție (5.2.19.) diluată la 25,00 ml (circa 740 μg/100 ml).

— 5,00 ml de soluție (5.2.19.) diluată la 20,00 ml (circa 925 μg/100 ml).

Soluțiile standard sunt păstrate timp de o oră la temperatura laboratorului și trebuie să fie proaspăt preparate.

Liniaritatea curbei de etalonare este bună pentru concentrații între 1,00 și 15,00 μg/ml.

5.4.2. Prepararea probelor.

5.4.2.1. Emulsii (creme, fond de ten, tuș de ochi)

Într-un flacon cu dop de 100 ml se cântărește cu o precizie 0,001 g o cantitate de probă pentru testare (m grame) corespunzătoare unei presupuse cantități de 100 μg formaldehidă. Se adaugă 20,00 ml diclorometan (5.2.8.) și 20,00 ml acid clorhidric (5.2.12.), măsurate cu precizie. Se amestecă cu agitator vibrator (5.3.16.) și prin intermediul băii ultrasonice (5.3.15.) se separă cele două faze prin centrifugare (3000 gⁿ timp de două minute). Între timp se spală un cartuș (5.3.7.) cu 2 ml metanol (5.2.7.), apoi se condiționează cu 5 ml apă (5.2.1.).

Se trec 4 ml din faza apoasă a extractului prin cartușul pregătit, se îndepărtează primii 2 ml și se recuperează fracția următoare.

5.4.2.2. Loțiuni, șampoane

Într-un flacon cu dop de 100 ml se cântărește cu o precizie 0,001 g o cantitate de probă pentru testare (m grame) corespunzătoare unei presupuse cantități de circa 500 μg formaldehidă. Se completează până la 100 ml cu fază mobilă (5.2.16.).

Se filtrează soluția printr-un filtru (5.3.6.) și se injectează sau se trece printr-un cartuș (5.3.7.) condiționat ca mai sus (5.4.21.). Toate soluțiile trebuie injectate imediat după preparare.

5.4.3. Condiții de cromatografiere

— Debitul fazei mobile: 1 ml/min

— Debitul reactivului: 0,5 ml/min

— Debitul total la ieșirea din detector: 1,5 ml/min

— Volumul injectat: 10 μl

— Temperatura eluției: În cazul separărilor dificile, se introduce coloana într-o baie de gheață topită: se așteaptă ca temperatura să se stabilizeze (15—20 min)

— Temperatura reacției postcoloană: 100° C;

— Detecție: 420 nm.

N.B.: Întregul sistem cromatografic și postcoloana trebuie spălate abundant cu apă după utilizare. Dacă sistemul nu este folosit mai mult de două zile, această spălare trebuie urmată de una cu metanol (5.2.7.). Înainte de recondiționarea sistemului trebuie trecută apă prin el, pentru evitarea recristalizării.

5.5. Calcul

Emulsii: (5.4.2.1.):

Conținut de formaldehidă în % (m/m):

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

Loțiuni, șampoane:

În acest caz formula devine:

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

unde:

m = masa probei de analizat, în g (5.4.2.1.)

c = concentrația de formaldehidă în $\mu\text{g}/100$ ml citită de pe curba de etalonare (5.4.1.)

5.6. Repetabilitate (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de 0,05% formaldehidă diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,001%.

Pentru un conținut de 0,2% formaldehidă diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,005%.

Apendice 1

INSTRUCȚIUNI PENTRU „TRICOTINĂ“

ACCESORII NECESARE

— O bobină din lemn:

diametrul exterior 5 cm, cu un orificiu de 1,5 cm diametru prin centru. Se introduc 4 cuie din oțel (după cum se arată în figurile 1 și 2). Distanța dintre două cuie trebuie să fie de 1,8 cm și ele trebuie să fie la 0,5 cm de orificiu,

— un ac rigid (de tipul croșetei) pentru a lega tubul de teflon,

— un tub din teflon de 1,6 mm, având diametrul interior de 0,3 mm și lungimea de 5 m.

PROCEDURĂ

Pentru a începe „tricotina“, tubul din teflon trebuie poziționat de la partea superioară a bobinei spre partea inferioară prin orificiul central (lăsând în jur de 10 cm din tub să iasă în afară în partea inferioară a bobinei, permițând lanțului să poată fi tras în timpul procesului), apoi se înfășoară tubul în jurul celor patru cuie, ca în figura 3.

Părțile superioară și inferioară ale „tricotinei“ se protejează cu inele metalice și șuruburi de compresiune; trebuie avut grijă să nu se spargă teflonul când se trage tare. Se înfășoară tubul în jurul fiecărui cui, pentru a doua oară, și se fac „bucle“ după cum urmează:

— cu ajutorul cârligului, se ridică tubul inferior peste tubul superior (vezi figura 4). Se repetă acest proces pe fiecare dintre cele patru cuie, în ordine (1, 2, 3, 4 în sens invers acelor de ceasornic), până când se realizează 5 m sau lungimea dorită pentru „tricotină“. Se lasă aproximativ 10 cm din tub pentru a închide lanțul. Se poziționează tubul prin fiecare dintre cele patru bucle și se trage ușor, pentru a închide capătul lanțului.

Nota bene „Tricotina“ fabricată pentru reactorul postcoloană este disponibilă pe piață (Supelco).

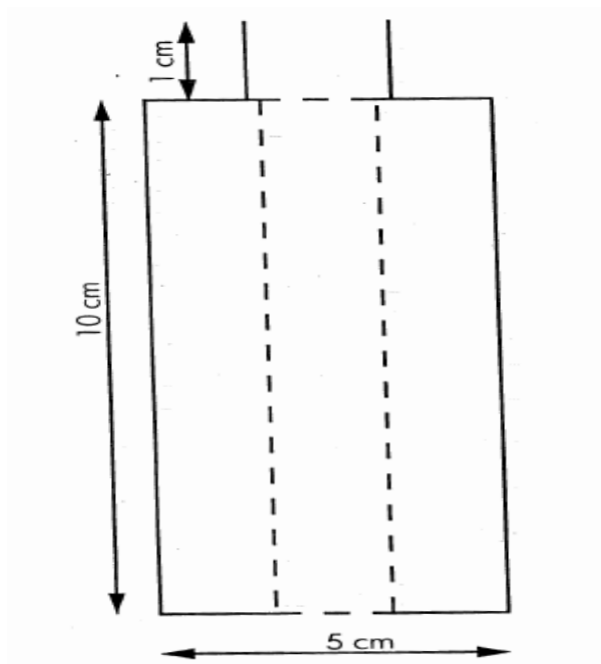


Figura nr. 1 a apendicelui nr. 1—
Schița schematică a bobinei

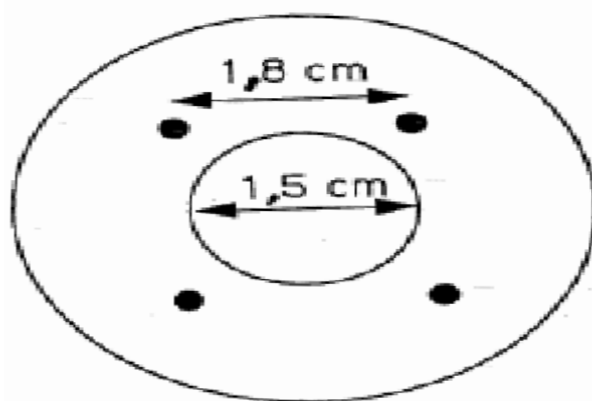


Figura nr. 2 a apendicelui nr. 1

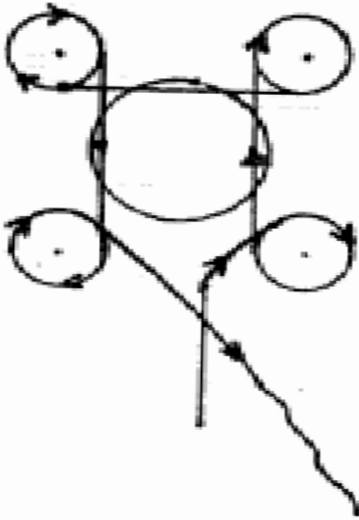


Figura nr. 3 a apendicelui nr. 1 — Primul tub

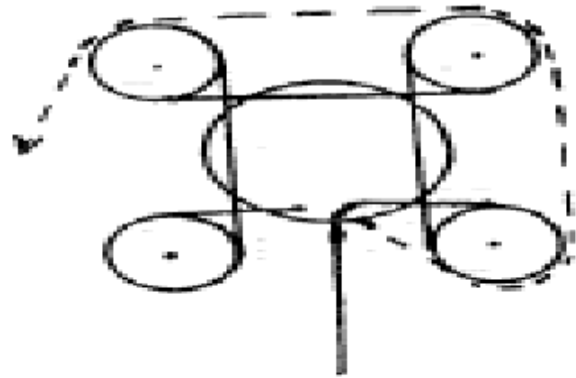
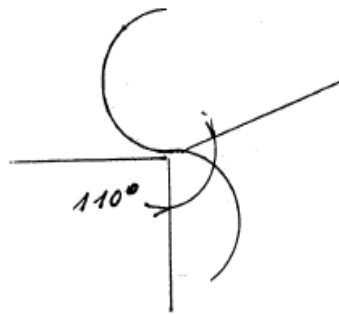
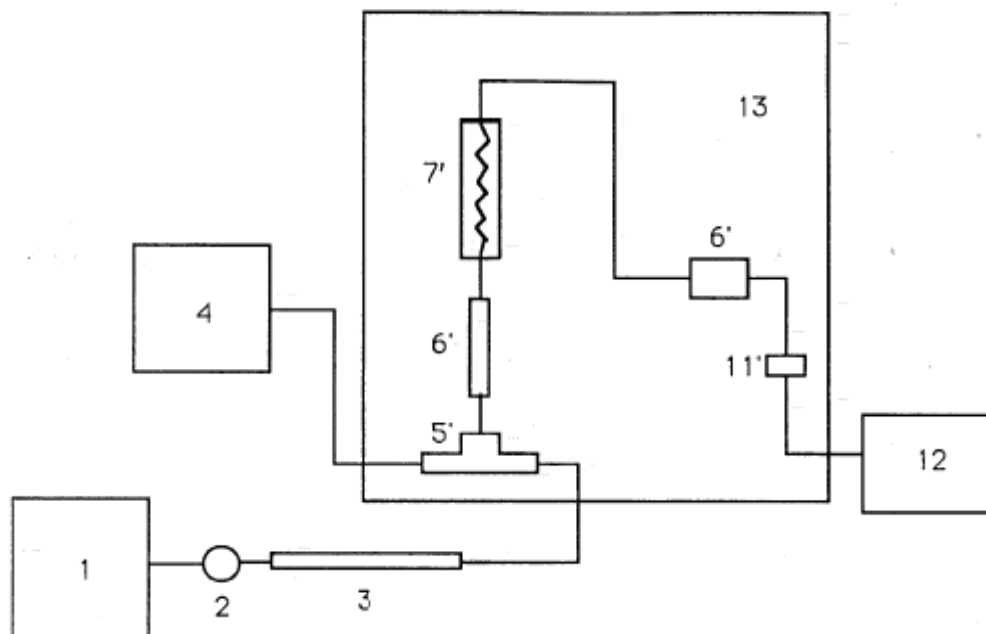
Figura nr. 4 a apendicelui nr. 1 -Al doilea tub
Pentru a forma o „buclă“, se ridică tubul inferior (linia neîntreruptă) peste cel de-al doilea tub (linia întreruptă)

Figura nr. 5 a apendicelui nr. 1

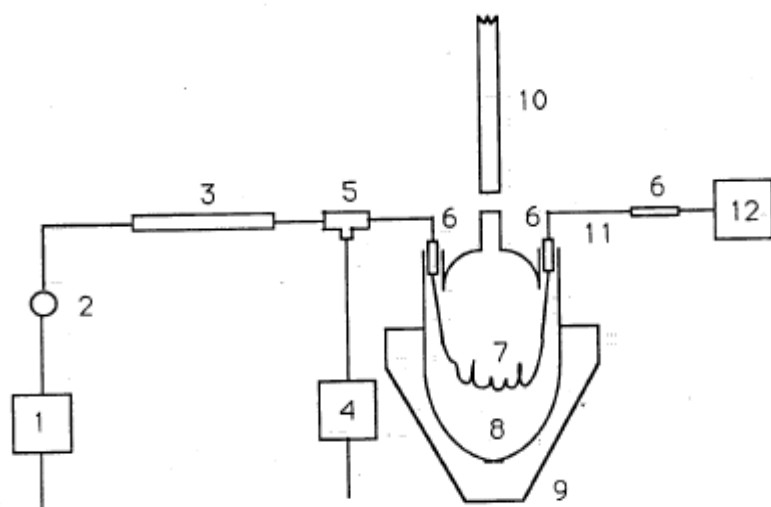
Apendice 2

- 1 = Pompă HPLC
- 2 = Injector
- 3 = Coloană cu precoloană
- 4 = Pompă pentru reactiv
- 5 = Teu fără volum propriu
- 5' = Teu (Vortex)
- 6-6' = Racord fără volum propriu
- 7 = „Tricotina“
- 7' = Reactor
- 8 = Balon cu trei gâturi cu apă fierbinte
- 9 = Retortă
- 10 = Agent de răcire
- 11 = Tub schimbător de căldură din oțel inoxidabil
- 12 = Schimbător de căldură
- 13 = Detector cu spectru vizibil UV
- 14 = Modul postcoloană PCRS 520

5.3.5



5.3.6



Reactiv

Efluent

ANEXA Nr. 15

METODĂ

de determinare cantitativă pentru diclormetan și pentru 1,1,1-triclorețan

1. DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea diclormetanului (clorură de metilen) și a 1,1,1-triclorețanului (metil cloroform) în toate produsele cosmetice în care este posibil să apară acești solvenți.

2. DEFINIȚIE

Conținutul în diclormetan și 1,1,1-triclorețan în probă determinat în conformitate cu această metodă este exprimat în procente de masă.

3. PRINCIPIU

Metoda folosește cromatografia de gaze, cu cloroform ca standard intern.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

- 4.1. Cloroform (CHCl_3)
- 4.2. Tetraclorură de carbon (CCl_4)
- 4.3. Diclormetan (CH_2Cl_2)
- 4.4. 1,1,1-Triclorețan (CH_3CCl_3)
- 4.5. Acetonă
- 4.6. Azot

5. APARATURĂ

- 5.1. Aparatura uzuală de laborator
- 5.2. Cromatograf de gaze cu detector cu conductivitate termică
- 5.3. Flacoane de transfer, 50 la 100 ml (vezi metoda pentru prepararea în laborator a probei pentru testare, conform punctului 5.3. din anexa nr. 3 la ordin)
- 5.4. Seringă cu gaz comprimat, 25 sau 50 μl (vezi metoda pentru prepararea în laborator a probei pentru testare, conform punctului 5.4.2.2. din anexa nr. 3 la ordin)

6. PROCEDEU

6.1. Probă nepresurizată: se cântărește cu precizie într-un flacon conic cu dop. Se introduce o cantitate precis cântărită de cloroform (4.1.) ca standard intern echivalentă cu cantitatea presupusă de diclormetan și 1,1,1-triclorețan conținută în probă. Se omogenizează.

6.2. Probă presurizată: se folosește metoda pentru prepararea în laborator a probei pentru testare, anexa nr. 3 la ordin, cu următoarele completări:

6.3. După transferarea unei probe într-un flacon de transfer (5.3.), în flaconul de transfer se introduce un volum de cloroform (4.1.) ca standard intern echivalent cu cantitatea presupusă de diclormetan și/sau 1,1,1-triclorețan conținută în probă. Se omogenizează. Se clătește volumul mort al valvei cu 0,5 ml tetraclorură de carbon (4.2.). După uscare, se determină prin diferență, cu precizie, masa adăugată de standard intern.

6.3.1. După umplerea seringii cu probă, ștuțul seringii trebuie purjat cu azot (4.6.) astfel încât să nu rămână niciun reziduu înainte de injectarea în cromatograf.

6.3.2. După ce este luată fiecare probă, suprafețele injectorului și a piesei de transfer trebuie să fie clătite de mai multe ori cu acetonă (4.5.) (folosind o seringă hipodermică) și apoi se usucă complet cu azot (4.6.).

6.3.3. Pentru fiecare analiză, se fac măsurătorile folosind două flacoane de transfer diferite și cinci măsurători per flacon.

7. CONDIȚII DE CROMATOGRAFIERE

7.1. Precolană

Tub: oțel inoxidabil

Lungime: 300 mm

Diametru: 3 sau 6 mm

Umplutură: același material ce se folosește ca umplutură la coloana analitică

7.2. Coloană

Faza staționară este Hallcomid M 18 pe chromosorb. Coloana trebuie să realizeze o rezoluție „R” egală cu sau mai bună decât 1,5, unde:

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

în care:

r_1 și r_2 = timpii de retenție (în minute)

W_1 și W_2 = lățimea picurilor la jumătatea înălțimii (în milimetri)

d' = viteza de înregistrare a graficului (milimetri per minut)

7.3. Exemple de coloane ce produc rezultatele căutate:

Coloană	I	II
Material:	tubulatură de oțel inoxidabil	tubulatură de oțel inoxidabil
Lungime:	350 cm	400 cm
Diametru:	3 mm	6 mm
Suport:		
chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
analiza sitei:	100÷120 ochiuri	60÷80 ochiuri
Fază staționară:	Hallcomid M 18, 10%	Hallcomid M 18, 20%

Condițiile de temperatură pot varia în funcție de aparatură. În teste, acestea au fost setate în următorul mod:

Coloană	I	II
Temperaturi:		
coloană:	65° C	75° C
injector:	150° C	125° C
detector:	150° C	200° C
Gaz purtător:		
debit de heliu:	45 ml/min.	60 ml/min.
presiune de intrare:	2,5 bar	2 bar
Injectie:	15 µl	15 µl

8. AMESTEC PENTRU STABILIREA FACTORILOR DE RĂSPUNS

Într-un flacon conic cu dop se realizează următorul amestec cântărit cu precizie:

Diclorometan (4.3.), 30% (m/m)

1,1,1-triclorețan (4.4.), 35% (m/m)

Cloroform (4.19), 35% (m/m)

9. CALCULE

9.1. Calculul factorului de răspuns al substanței „p” relativ la substanța „a” aleasă ca standard intern.

Fie prima substanță „p”, unde:

k_p = factorul său de răspuns

m_p = masa sa în amestec

A_p = suprafața picului său

Fie a doua substanță „a”, unde:

k_a = factorul său de răspuns (considerat egal cu unitatea)

M_a = masa sa în amestec

A_a = suprafața picului său

atunci:

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

Ca exemple, s-au obținut următorii factorii de răspuns

(pentru cloroform: $k = 1$):

Diclorometan: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

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

9.2. Calculul concentrației în procente % (m/m) de diclorometan și 1,1,1-triclorețan prezente în proba de analizat:

Fie:

m_a = masa de cloroform introdus (în grame)

M_s = masa probei de analizat (în grame)

A_a = suprafața picului cloroformului

A_1 = suprafața picului diclorometanului

A_2 = suprafața picului 1,1,1-triclorețanului

atunci:

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

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

10. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de diclorometan și/sau 1,1,1-triclorețan de 25% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări executate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 2,5% (m/m).

M E T O D Ă**de identificare și determinare cantitativă pentru 8-chinolinol
și pentru bis (8-hidroxicchinolin) sulfat****1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Această metodă reglementează identificarea și determinarea cantitativă a 8-chinolinolului și a sulfatului său.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de 8-chinolinol și de sulfat de bis (8-hidroxicchinolin) din probă determinat prin această metodă este exprimat în procente de masă de 8-chinolinol.

3. PRINCIPIU**3.1. Identificare**

Identificarea se face prin cromatografie în strat subțire.

3.2. Determinare

Determinarea se realizează prin spectrofotometria la 410 nm a complexului obținut prin reacție cu soluție Fehling.

4. REACTANȚI

Toți reactanții trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. 8-chinolinol

4.2. Benzen. Din cauza toxicității sale se lucrează cu mare atenție.

4.3. Cloroform

4.4. Soluție apoasă de hidroxid de sodiu, 50% (m/m)

4.5. Sulfat de cupru pentahidratat**4.6. Tartrat de sodiu și potasiu****4.7. Acid clorhidric M****4.8. Acid sulfuric 0,5M****4.9. Soluție de hidroxid de sodiu M****4.10. Etanol****4.11. 1-butanol****4.12. Acid acetic glacial****4.13. Acid clorhidric 0,1****4.14. „Celită 545” sau echivalent****4.15. Soluții standard**

4.15.1. Într-un balon cotelat de 100 ml se cântăresc 100 mg 8-chinolinol (4.1.). Se dizolvă în puțin acid sulfuric (4.8.). Se umple până la semn cu acid sulfuric (4.8.).

4.15.2. Într-un balon cotelat de 100 ml se cântăresc 100 mg 8-chinolinol (4.1.). Se dizolvă în etanol (4.10.). Se completează până la semn cu etanol (4.10.) și se amestecă.

4.16. Soluție Fehling**Soluția A**

Într-un balon cotelat de 100 ml se cântăresc 7 g de sulfat de cupru pentahidratat (4.5.). Se dizolvă în puțină apă. Se completează până la semn cu apă și se amestecă.

Soluția B

Într-un balon cotelat de 100 ml se cântăresc 35 g de tartrat de sodiu și potasiu (4.6.). Se dizolvă în 50 ml de apă. Se adaugă 20 ml hidroxid de sodiu (4.4.). Se aduce la semn cu apă și se amestecă. Imediat înainte de folosire, într-un balon cotelat de 100 ml, se pun cu pipeta 10 ml de soluție A și 10 ml de soluție B. Se aduce la semn și se amestecă.

4.17. Solvenți de eluție pentru cromatografia în strat subțire

I : 1-butanol (4.11) / acid acetic (4.12) / apă (80 : 20 : 20; v/v/v)

II : Cloroform (4.13) / acid acetic (4.12) (95 : 5; v/v).

4.18. 2,6-dicloro-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienonă, 1% (m/v) soluție în etanol (4.10).**4.19. Carbonat de sodiu, 1% (m/v) soluție în apă.****4.20. Etanol (4.10), 30% (v/v) soluție în apă.****4.21. Etilendiaminotetraacetat dibazic de disodiu, 5% (m/v) soluție în apă.****4.22. Soluție tampon, pH 7**

Într-un balon cotelat de 1 l se cântăresc 27 g ortofosfat dibazic de potasiu anhidru și 70 g ortofosfat monobazic de dipotasiu trihidratat. Se aduce la semn cu apă.

4.23. Prepararea plăcii de strat subțire

Sunt plăci pregătite cu o grosime de 0,25 mm (de exemplu: Merck Kieselgel 60 sau echivalent). Înainte de folosire, se pulverizează 10 ml de reactiv (4.21.) și se usucă la 80° C.

5. APARATURĂ

- 5.1. Balon cu fund rotund și gât rodat de 100 ml
- 5.2. Baloane cotate
- 5.3. Pipete gradate, 10 și 5ml
- 5.4. Pipete cu bulă (rezervor), 20, 15, 10 și 5 ml
- 5.5. Pâlnii de separare, 100, 50 și 25 ml
- 5.6. Hârtie de filtru cutată, diametru 90 mm
- 5.7. Evaporator rotativ
- 5.8. Condensator de reflux cu gât rodat
- 5.9. Spectofotometru
- 5.10. Cuve optice cu lungime de cale de 10 mm
- 5.11. Fierbător cu agitator
- 5.12. Dimensiunile coloanei cromatografice de sticlă: 160 mm lungime cu un diametru de 8 mm, o gătuire la capătul de jos conținând un dop de vată de sticlă și un adaptor la capătul de sus pentru aplicarea presiunii.

6. PROCEDEU

- 6.1. Identificare
 - 6.1.1. Probe lichide
 - 6.1.1.1. pH-ul porțiunii probei de testat se reglează la 7,5 și 10 μ l se spotulează pe linia de start a unei plăci de strat subțire pretratate de silicagel (4.23).
 - 6.1.1.2. 10 și 30 μ l soluție standard (4.15.2.) se picură pe încă două puncte pe linia de start, după care placa este dezvoltată în unul dintre cei doi eluenți (4.17.).
 - 6.1.1.3. Când frontul de solvent a avansat 150 mm, placa se usucă la 110° C (15 minute). Sub o lampă UV (366 nm) spoturile de 8-chinolinol prezintă fluorescență galbenă.
 - 6.1.1.4. Se pulverizează placa cu soluție de carbonat de sodiu (4.19). Se usucă și se pulverizează cu soluție 2,6-dicloro-4-(clorimino)ciclohexa-2,5-dienonă (4.18). 8-chinolinolul devine vizibil ca un spot albastru.
 - 6.1.2. Probe solide sau creme
 - 6.1.2.1. Se dispersează 1 g de probă în 5 ml soluție tampon (4.22.). Apoi se transferă cu 10 ml cloroform (4.3.) într-o pâlnie de separare și se agită. După separarea stratului de cloroform se extrage încă de două ori stratul apos cu 10 ml de cloroform (4.3.). Extractele de cloroform filtrat și combinat se evaporă până aproape de uscare într-un balon cu fundul rotund de 100 ml (5.1.) pe un evaporator rotativ (5.7.). Se dizolvă reziduu în 2 ml de cloroform (4.3.) și se picură 10 și 30 μ l din soluția obținută pe placa de strat subțire de silicagel (4.23.) conform metodei descrise mai sus la 6.1.1.1.
 - 6.1.2.2. Se aplică 10 și 30 μ l de soluție standard (4.15.2.) pe placă și se continuă așa cum s-a descris de la 6.1.1.2. până la 6.1.1.4.
- 6.2. Determinare
 - 6.2.1. Probe lichide
 - 6.2.1.1. Se cântăresc 5 g de probă într-un balon cu fund rotund de 100 ml. Se adaugă 1 ml soluție de acid sulfuric (4.8.) și se evaporă amestecul până aproape de uscare, la presiune redusă și 50° C.
 - 6.2.1.2. Se dizolvă acest reziduu în 20 ml apă caldă. Se transferă într-un balon cotate de 100 ml. Se clătește de trei ori cu 20 ml de apă. Se completează cu apă până la 100 ml și se amestecă.
 - 6.2.1.3. Se pun cu pipeta 5 ml din această soluție într-o pâlnie de separare de 50 ml (5.5.). Se adaugă 10 ml soluție Fehling (4.16.). Se extrage complexul 8-chinolinol cupru [cupru oxină (ISO)] obținut cu de trei ori câte 8 ml de cloroform (4.3.).
 - 6.2.1.4. Se filtrează și se colectează stratul de cloroform într-un balon cotate de 25 ml (5.2.). Se aduce la semn cu cloroform (4.3.) și se agită vasul. Se măsoară densitatea optică a soluției galbene față de cloroform la 410 nm.
 - 6.2.2. Probe solide sau creme
 - 6.2.2.1. Într-un balon cu fund rotund de 100 ml se cântăresc 0,500 g probă (4.1.). Se adaugă 30 ml benzen (4.2.) și 20 ml acid clorhidric (4.7.). Se fierbe conținutul vasului la reflux, cu amestecare, timp de 30 minute.
 - 6.2.2.2. Se transferă conținutul vasului într-o pâlnie de separare de 100 ml (5.5.). Se clătește cu 5 ml de 1 N HCl (4.7.). Se transferă faza apoasă într-un balon cu fund rotund (5.1.) și se spală faza de benzen cu 5 ml de acid clorhidric (4.7.).
 - 6.2.2.3. În cazul emulsiilor care stânjesc tratarea mai departe, se amestecă 0,500 g probă cu 2 g Celită 545 (4.14.) pentru a forma o pudră liber curgătoare. Se transferă amestecul în porțiuni mici într-o coloană cromatografică de sticlă (5.12.).

După fiecare adăugare, se îndeasă umplutura coloanei. De îndată ce tot amestecul a fost transferat în coloană se eluează cu acid clorhidric (4.13.) astfel încât 10 ml de eluat este obținut în circa 10 minute (dacă este necesar, această eluție poate fi realizată sub o ușoară presiune de azot). În timpul eluției trebuie avut grijă ca tot timpul să existe acid clorhidric peste umplutura coloanei. Primii 10 ml de eluat vor fi tratați mai departe conform 6.2.2.4.

6.2.2.4. Se evaporă fazele apoase colectate (6.2.2.2.) sau eluatul (6.2.2.3.) aproape până de uscare într-un evaporator rotativ la presiune redusă.

6.2.2.5. Se dizolvă reziduul în 6 ml soluție hidroxid de sodiu (4.9.). Se adaugă 20 l soluție Fehling (4.16.) și se transferă conținutul balonului într-o pâlnie de separare de 50 ml (5.5.). Se clătește vasul cu 8 ml de cloroform (4.3.). Se agită și se filtrează faza de cloroform într-un balon cotat de 50 ml.

Se repetă extracția de trei ori cu 8 ml de cloroform (4.3.). Se filtrează faza de cloroform și se colectează într-un balon cotat de 50 ml. Se completează până la semn cu cloroform (4.3.) și se agită. Se măsoară densitatea optică a soluției galbene față de cloroform la 410 nm (4.3.).

7. CURBA STANDARD

În patru baloane cu fund rotund de 100 ml (5.1.), fiecare conținând 3 ml soluție apoasă de etanol 30% (4.20.) se pun cu pipeta 5, 10, 15 și 20 ml soluție standard (4.15.1.) corespunzând la 5, 10, 15 și 20 mg de 8-chinolinol. Se procedează conform 6.2.1.

8. CALCUL

8.1. Probe pentru testare lichide.

$$\text{conținut 8 - chinolinol (in \% (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100$$

unde:

a = miligrame de 8-chinolinol pe curba standard (7)

m = masa (în miligrame) a probei pentru testare (6.2.1.1.)

8.2. Probe pentru testare solide sau creme

$$\text{conținut 8 - chinolinol (in \% (m/m))} = \frac{2a}{m} \times 100$$

unde:

a = miligrame de 8-chinolinol pe curba standard (7)

m = masa (în miligrame) a probei pentru testare (6.2.2.1.)

9. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de circa 0,3% 8-chinolinol, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,02%.

ANEXA nr. 17

M E T O D Ă

de determinare cantitativă pentru amoniac liber în produsele cosmetice

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează determinarea amoniacului liber din produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de amoniac din probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de amoniac.

3. PRINCIPIU

Se adaugă soluție de clorură de bariu la o probă pentru testare de produs cosmetic diluată într-un mediu de soluție apoasă de metanol. Precipitatul care se poate forma se filtrează sau se centrifughează. Acest procedeu evită pierderile de amoniac, în timpul distilării cu abur, de la anumite săruri de amoniu cum ar fi carbonatul și carbonații bazici, precum și al acizilor grași, cu excepția acetatului de amoniu.

Amoniacul se distilează cu abur din filtrat sau supernatant și se determină prin titrare potențiometrică sau alt gen de titrare.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Metanol

4.2. Clorură de bariu dihidrată, soluție 25% (m/v)

4.3. Acid ortoboric, soluție 4% (m/v)

4.4. Acid sulfuric, soluție standard 0,25M

4.5. Lichid antispumant

4.6. Hidroxid de sodiu, soluție standard 0,5 M

4.7. Indicator, dacă este necesar: se amestecă 5 ml soluție roșu de metil 0,1% (m/v) în etanol cu 2 ml soluție albastru de metilen 0,1% (m/v) în apă.

5. APARATURĂ

- 5.1. Aparatură uzuală de laborator
- 5.2. Centrifugă cu flacoane cu dop de 100ml
- 5.3. Aparatură de distilare cu abur
- 5.4. Potențiomtru
- 5.5. Electrode de sticlă indicator și electrod de referință diclorură de dimercur (calomel)

6. PROCEDEU

6.1. Într-un balon cotate de 100 ml se cântărește o cantitate (m) de probă pentru testare corespunzătoare unui maximum de 150 mg de amoniac.

6.2. Se adaugă 10 ml apă, 10 ml metanol (4.1.) și 10 ml soluție clorură de bariu (4.2.). Se aduce la semn cu metanol (4.1.).

6.3. Se amestecă și se lasă să stea peste noapte în frigider (5° C).

6.4. Apoi se filtrează sau se centrifughează soluția încă rece în eprubete închise pentru 10 minute, astfel încât să se obțină un strat de filtrat sau supernatant clar.

6.5. Se pun cu pipeta 40 ml din această soluție clară în aparatura de distilare cu abur (5.3.), urmat de 0,5 ml de lichid antispumant (4.5.), acolo unde este necesar.

6.6. Se distilează și se colectează 200 ml de distilat într-un pahar de 250 ml conținând 10 ml acid sulfuric standard (4.4.) și 0,1 ml indicator (4.7.).

6.7. Se retitreză excesul de acid cu soluție standard de hidroxid de sodiu (4.6.).

6.8. Nota bene: Pentru determinarea potențimetrică, se colectează 200 ml de distilat într-un pahar de 250 ml conținând 25 ml soluție acid ortoboric (4.3.) și se titreză cu acid sulfuric standard (4.4.), înregistrând curba de neutralizare.

7. CALCUL

7.1. Calcul în cazul retitrării

Fie:

V_1 = volumul (în mililitri) de soluție de hidroxid de sodiu (4.6.) folosită

M_1 = molaritatea sa reală (4.6.).

M_2 = factorul de molaritate reală al soluției de acid sulfuric (4.4.)

m = masa (în miligrame) probei pentru testare (6.1.) luate

atunci:

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

7.2. Calcul în cazul titrării potențimetrică directe

Fie:

V_2 = volumul (în mililitri) de soluție de acid sulfuric (4.4.) folosită

M_2 = molaritatea sa reală (4.4.).

m = masa (în miligrame) probei pentru testare (6.1.) luate

atunci:

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

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de circa 6% amoniac, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,6%.

ANEXA Nr. 18

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru nitrometan

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă este reglementată pentru identificarea și determinarea nitrometanului până la circa 0,3%, conținut în produsele cosmetice din ambalaje presurizate, pulverizate ca aerosoli.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de nitrometan din probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de nitrometan, din totalul conținutului pulverizatorului de aerosoli.

3. PRINCIPIU

Nitrometanul este identificat prin reacție de culoare. Nitrometanul este determinat prin cromatografie de gaze după adăugarea unui standard intern.

4. IDENTIFICARE

4.1. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1.1. Hidroxid de sodiu, soluție 0,5M

4.1.2. Reactiv Folin

Se dizolvă 0,1 g 3,4-dihidro-3,4-dioxonaftalină-1-sulfonat de sodiu în apă și se diluează până la 100ml.

4.2. Procedeu

La 1 ml probă se adaugă 10 ml de 4.1.1. și 1 ml de 4.1.2. Prezența nitrometanului este indicată printr-o colorare violetă.

DETERMINARE

5.1. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

5.1.1. Cloroform (standard intern 1)

5.1.2. 2,4-dimetilheptan (standard intern 2)

5.1.3. Etanol 95%

5.1.4. Nitrometan

5.1.5. Soluție de referință de cloroform

Într-un balon cotate de 25 ml căruia i s-a luat tara, se introduc circa 650 mg cloroform (5.1.1.). Se recântăresc cu precizie vasul și conținutul. Se aduce la semn cu etanol 95% (5.1.3.). Se cântărește și se calculează procentele de masă de cloroform în această soluție.

5.1.6. Soluție de referință de 2,4-dimetilheptan

Se realizează similar cu soluția de referință de cloroform, dar cântărind 270 mg de 2,4-dimetilheptan (5.1.2.) într-un balon cotate de 25ml.

5.2. Aparatură

5.2.1. Cromatograf de gaze cu detector cu ionizare în flacără

5.2.2. Aparatură de prelevare a probelor de aerosoli (flacon de transfer, conectori de microseringi), conform metodei de preparare în laborator a probelor pentru testare, anexa nr. 3 la ordin.

5.2.3. Aparatură uzuală de laborator

5.3. Procedeu

5.3.1. Prepararea probei

Într-un flacon de transfer tarat de 100ml, degazat conform procedurii descris la punctul 5.4. din anexa nr. 3 la ordin, se introduc circa 5 ml din una dintre soluțiile standard intern (5.1.5. sau 5.1.6.). Se folosește o seringă de sticlă de 10 sau 20ml, fără ac, adaptată la piesa de transfer urmând tehnica descrisă la paragraful 5 al anexei 3 la ordin. Se recântărește pentru a determina cantitatea introdusă. Folosind aceeași tehnică, se transferă în acest flacon circa 50 g din conținutul probei de produs pulverizat ca aerosoli. Din nou se recântărește pentru a determina cantitatea de probă transferată. Se omogeneizează.

Se injectează 10 μl folosind microseringa specificată (5.2.2.). Se efectuează cinci injectări.

5.3.2. Prepararea standardului

Într-un balon cotate de 50 ml se cântăresc cu precizie circa 500 mg nitrometan (5.1.4.) și, sau 500 mg cloroform (5.1.1.) sau 210 mg 2,4-dimetilheptan (5.1.2.). Se aduce la semn cu etanol 95% (5.1.3.). Se amestecă bine. Se pun 5 ml din această soluție într-un balon cotate de 20ml. Se aduce la semn cu etanol 95% (5.1.3.).

Se injectează 10 μl cu microseringa specificată (5.2.2.). Se efectuează cinci injectări.

5.3.3. Condiții pentru cromatografia de gaze

5.3.3.1. Coloană

Coloana este alcătuită din două părți, prima conținând fialat didecilic pe Gaz Chrom Q ca umplutură, a doua având Ucon 50 HB 280X pe Gaz Chrom Q ca umplutură. Coloana combinată astfel pregătită trebuie să producă o rezoluție „R” egală cu sau mai bună decât 1,5, unde:

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

fie:

r_1 și r_2 = timpii de retenție (în minute)

W_1 și W_2 = lățimea picului la jumătatea înălțimii (în milimetri)

d' = viteza de înregistrare a graficului (în milimetri per minut)

Rezoluția cerută se realizează cu următoarele două părți:

Coloana A:

Material: oțel inoxidabil

Lungime: 1,5 m

Diametru: 3 mm

Umplutură: 20% ftalat de didecil pe Gaz Chrom Q (100 la 120 ochiuri)

Coloana B:

Material: oțel inoxidabil

Lungime: 1,5 m

Diametru: 3 mm

Umplutură: 20% Ucon 50 HB 280X pe Gaz Crom Q (100 la 120 ochiuri)

5.3.3.2. Detector

O setare adecvată a sensibilității pentru electrometrul detectorului cu ionizare în flacără este $8 \times 10^{-10} \text{A}$.

5.3.3.3. Condiții de temperatură

S-au găsit următoarele condiții adecvate:

Injector: 150° C

Detector: 150° C

Coloană: între 50 și 80° C depinzând de coloanele individuale și de aparatură.

5.3.3.4. Alimentări cu gaz adecvat

Gaz purtător: azot

Presiune: 2,1 bar

Debit: 40 ml/min.

Alimentări detector: conform specificațiilor fabricantului detectorului.

6. CALCULE

6.1. Factorul de răspuns al nitrometanului, calculat cu referire la standardul intern folosit

Dacă „n” reprezintă nitrometanul:

fie:

k_n = factorul său de răspuns

m'_n = masa sa (în grame) în amestec

S'_n = aria picului său

Dacă „c” reprezintă standardul intern, cloroform sau 2,4-dimetilheptan:

fie:

m'_c = masa sa (în grame) în amestec

S'_c = aria picului său

atunci:

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

(k_n este o funcție de aparatură).

6.2. Concentrația nitrometanului în probă

Dacă „n” reprezintă nitrometanul:

fie:

k_n = factorul său de răspuns

S_n = aria picului său

Dacă „c” reprezintă standardul intern, cloroform sau 2,4-dimetilheptan:

fie:

m_c = masa sa (în grame) în amestec

S_c = aria picului său

M = masa (în grame) de aerosol transferat,

atunci procentul % (m/m) de nitrometan în probă este:

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

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de nitrometan de circa 0,3% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,03% (m/m).

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru acid mercaptoacetic din produsele pentru îngrijirea părului și din depilatoare

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru identificarea și determinarea acidului mercaptoacetic din produsele pentru ondularea părului, pentru întinderea părului și pentru depilare în care pot fi prezenți și alți agenți de reducere.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de acid mercaptoacetic în probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de acid mercaptoacetic.

3. PRINCIPIU

Acidul mercaptoacetic se identifică prin teste în picătură și prin cromatografie în strat subțire și se determină prin iodometrie sau cromatografie de gaze.

4. IDENTIFICARE

4.1. Identificare prin teste spot

4.1.1. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1.1.1. Hârtie cu diacetat de plumb

4.1.1.2. Soluție acid clorhidric (un volum acid clorhidric concentrat plus un volum apă)

4.1.2. Procedeu

4.1.2.1. Identificarea acidului mercaptoacetic prin reacție de culoare cu diacetat de plumb

Se pune o picătură de probă pentru testare pe hârtia cu diacetat de plumb (4.1.1.1.). Dacă apare o culoare galben intens, probabil este prezent acidul mercaptoacetic.

Sensibilitate: 0,5%.

4.1.2.2. Caracterizarea sulfurilor anorganice prin formarea hidrogenului sulfurat la acidifiere

Într-o eprubetă se introduc câteva miligrame de probă pentru testare. Se adaugă 2 ml apă distilată și 1 ml de acid clorhidric (4.1.1.2.). Se eliberează hidrogen sulfurat, recunoscut după miros, și pe hârtia cu diacetat de plumb se formează un precipitat negru de sulfură de plumb.(4.1.1.1.).

Sensibilitate: 50 ppm.

4.1.2.3. Caracterizarea sulfurilor prin formarea dioxidului de sulf la acidifiere

Se procedează conform descrierii de la 4.1.2.2. Se aduce la fierbere. Dioxidul de sulf se recunoaște după miros și prin proprietățile sale reducătoare în raport, de exemplu, cu ionii de permanganat.

4.2. Identificare prin cromatografie în strat subțire

4.2.1. Reactivi

Toți reactivii, exceptându-i pe cei pentru care se specifică neobligativitatea, trebuie să fie de puritate analitică.

4.2.1.1. Acid mercaptoacetic (acid tioglicolic), puritate minimă determinată prin iodometrie 98%.

4.2.1.2. Acid 2,2'-ditiodiacetic, puritate minimă determinată prin iodometrie 99%.

4.2.1.3. Acid 2-mercaptopropionic (acid tiolactic), puritate minimă determinată prin iodometrie 95%.

4.2.1.4. Acid 3-mercaptopropionic, puritate minimă determinată prin iodometrie 98%.

4.2.1.5. 3-mercaptopropan-1,2-diol (1-tioglicerol), puritate minimă determinată prin iodometrie 98%.

4.2.1.6. Plăci de strat subțire, silicagel, gata preparate, 0,25 mm grosime.

4.2.1.7. Plăci de strat subțire, oxid de aluminiu, Merck F 254 E sau echivalent.

4.2.1.8. Acid clorhidric concentrat, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml.

4.2.1.9. Acetat de etil.

4.2.1.10. Cloroform.

4.2.1.11. Eter diizopropilic.

4.2.1.12. Tetraclorură de carbon.

4.2.1.13. Acid acetic glacial.

4.2.1.14. Iodură de potasiu, soluție în apă 1% (m/v).

4.2.1.15. Tetraclorură de platină, soluție în apă 0,1% (m/v).

4.2.1.16. Solvenți de eluție

4.2.1.16.1. Acetat de etil (4.2.1.9.), cloroform (4.2.1.10.), eter diizopropilic (4.2.1.11.), acid acetic (4.2.1.13.) (20 : 20 : 10 : 10, în volume)

4.2.1.16.2. Cloroform (4.2.1.10.), acid acetic (4.2.1.13.) (90 : 20, în volume)

4.2.1.17. Reactivi de detectare

4.2.1.17.1. Se amestecă, imediat înainte de folosire, volume egale de soluție (4.2.1.14.) și soluție (4.2.1.15.)

4.2.1.17.2. Soluție de brom, 5% (m/v);

Se dizolvă 5 g brom în 100 ml tetraclorură de carbon (4.2.1.12.)

4.2.1.17.3. Soluție de fluoresceină, 0,1% (m/v)

Se dizolvă 100 mg fluoresceină în 100 ml etanol

4.2.1.17.4. Heptamolibdat de hexaamoniu, soluție în apă 10% (m/v)

4.2.1.18. Soluții etalon

4.2.1.18.1. Acid mercaptoacetic (4.2.1.1.), soluție în apă 0,4% (m/v)

4.2.1.18.2. Acid ditiodiacetic (4.2.1.2.), soluție în apă 0,4% (m/v)

4.2.1.18.3. Acid 2-mercaptopropionic (4.2.1.3.), soluție în apă 0,4% (m/v)

4.2.1.18.4. Acid 3-mercaptopropionic (4.2.1.4.), soluție în apă 0,4% (m/v)

4.2.1.18.5. 3-mercaptopropan-1,2 diol (4.2.1.5), soluție în apă 0,4% (m/v)

4.2.2. Aparatură

Aparatură uzuală pentru cromatografia în strat subțire.

4.2.3. Procedeu

4.2.3.1. Tratamentul probelor

Se acidulează până la pH 1 cu câteva picături de acid clorhidric (4.2.1.8.) și se filtrează dacă este necesar.

În anumite cazuri poate fi indicată diluarea probei. În acest caz, se acidifiază cu acid clorhidric înainte de diluare.

4.2.3.2. Eluție

Se pune pe placă 1 μ l soluție de probă (4.2.3.1.) și câte un litru din fiecare dintre cele cinci soluții etalon (4.2.1.18.). Se usucă cu grijă în curent ușor de azot și se eluează placa cu solvenți (4.2.1.16.1. sau 4.2.1.16.2.). Se usucă placa cât se poate de repede pentru a minimiza oxidarea tiolilor.

4.2.3.3. Detectare

Se pulverizează placa cu unul dintre cei trei reactivi (4.2.1.17.1., 4.2.1.17.3. sau 4.2.1.17.4.). Dacă placa se pulverizează cu reactiv (4.2.1.17.3.), se tratează mai departe cu vapori de brom (de ex. într-un rezervor conținând un mic pahar de reactiv) până când spoturile devin vizibile. Detectarea cu pulverizare de reactiv (4.2.1.17.4.) va fi satisfăcătoare numai dacă timpul de uscare pentru stratul subțire nu a depășit 30 minute.

4.2.3.4. Interpretare

Se compară valorile R_f și culoarea soluțiilor etalon cu cele ale standardelor. Valorile medii R_f date mai jos ca ghid informativ au numai valoare de comparație. Ele depind de:

- starea de activare a stratului subțire în momentul cromatografierii
- temperatura în rezervorul cromatografic.

Exemple de valori R_f obținute pe un strat de silicagel

	Solvenți de eluție	
	4.2.1.16.1.	4.2.1.16.2.
Acid mercaptoacetic	0,25	0,80
Acid 2-mercaptopropionic	0,40	0,95
Acid 2,2'-ditiodiacetic	0,00	0,35
Acid 3-mercaptopropionic	0,45	0,95
3-mercaptopropan-1,2,-diol	0,45	0,35

5. DETERMINARE:

Determinarea acidului mercaptoacetic trebuie realizată pe un produs nefolosit din recipiente proaspăt deschise, pentru a preveni oxidarea.

Determinarea trebuie să înceapă întodeauna cu procedeul iodometric.

5.1. Iodometrie

5.1.1. Principiu

Determinarea se realizează prin oxidarea grupării „-SH” cu iod într-un mediu acid conform ecuației:



5.1.2. Reactivi

Iod, soluție standard 0,05 M

5.1.3. Aparatură

Echipment obișnuit de laborator

5.1.4. Procedeu

Se cântărește cu precizie o cantitate între 0,5 și 1 g probă într-un flacon conic cu capac de 150 ml conținând 50 ml apă distilată. Se adaugă 5 ml acid clorhidric (4.1.1.2.) (pH-ul soluției circa 0) și se titrează cu soluție de iod (5.1.2.) până la apariția unei culori galbene. Dacă se dorește se poate folosi un indicator (de ex. soluție de amidon sau tetraclorură de carbon).

5.1.5. Calcul

Conținutul de acid mercaptoacetic se calculează cu formula :

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{92 \times n \times 100}{1.000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 \times n}{m}$$

unde :

m = masa (în grame) a probei pentru testare

n = volumul soluției de iod (5.1.2.) folosită

5.1.6. Observații

Dacă rezultatul, calculat ca acid mercaptoacetic, este 0,1% sau mult sub concentrația maximă autorizată, nu este necesară continuarea determinărilor.

Dacă rezultatul este egal cu sau peste concentrația maximă admisă și identificarea a arătat prezența unor agenți de reducere, este necesară realizarea unei determinări prin cromatografie de gaze.

5.2. Cromatografiere de gaze

5.2.1. Principiu

Acidul mercaptoacetic se separă din excipient prin precipitare cu soluție de diacetat de cadmiu. După metilare cu diazometan, preparat in situ sau anterior într-o soluție de dietileter, derivatul metilic al acidului mercaptoacetic este măsurat prin cromatografie de gaz/lichid, octanoatul de metil fiind folosit ca standard intern.

5.2.2. Reactivi

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

5.2.2.1. Acid mercaptoacetic, 98%

5.2.2.2. Acid clorhidric, $d_4^{20} = 1,19$ g/ml

5.2.2.3. Metanol

5.2.2.4. Diacetat de cadmiu dihidratat, soluție în apă 10% (m/v)

5.2.2.5. Octanoat de metil, soluție în metanol 2% (m/v)

5.2.2.6. Soluție tampon de acetat (pH 5)

Acetat de sodiu trihidratat, 77g

Acid acetic (glacial), 27,5g

Apă demineralizată până la un volum final de 1 litru

5.2.2.7. Acid clorhidric, soluție în metanol 3M (5.2.2.3.), proaspăt preparat

5.2.2.8. 1-metil-3-nitro-1-nitrozoguanidină

5.2.2.9. Hidroxid de sodiu, soluție 5 M

5.2.2.10. Iod, soluție standard 0,05 M

5.2.2.11. Dietileter

5.2.2.12. Soluție diazometan preparată din N-metil-N-nitrozotoluen-4-sulfonamidă (Fieser, Reagents for Organic Synthesis (Wiley), 1967)

Soluția obținută conține circa 1,5 g diazometan în 100 ml dietileter. Diazometanul fiind un gaz toxic și foarte instabil, toate experimentele trebuie efectuate sub o hotă puternică și trebuie să se evite folosirea aparatului de sticlă rodată (pentru acest scop există truse speciale).

5.2.3. Aparatură

5.2.3.1. Aparatură obișnuită de laborator

5.2.3.2. Aparatură pentru prepararea diazometanului pentru metilare in situ (vezi Fales, H.M., Jaouni, T.M. și Babashak, J.F. Analyt. Chem. 1973, 45, 2302)

5.2.3.3. Aparatură pentru prepararea avansată a diazometanului (Fieser)

5.2.4. Prepararea probei

Într-o eprubetă de centrifugare de 50 ml se cântărește precis o cantitate suficientă de probă pentru a rezulta o presupusă cantitate de 50 până la 70 mg acid mercaptoacetic. Se acidulează cu câteva picături de acid clorhidric (5.2.2.2.) pentru a obține un pH de circa 3.

Se adaugă 5 ml apă demineralizată și 10 ml soluție tampon de acetat (5.2.2.6.).

Se verifică cu hârtie de pH dacă valoarea pH-ului este circa 5. Apoi se adaugă 5 ml soluție de diacetat de cadmiu (5.2.2.4.).

Se așteaptă 10 minute și apoi se centrifughează pentru cel puțin 15 minute la 4000g. Se elimină supernatantul lichid care poate conține o grăsime insolubilă (în cazul produselor cremă). Această grăsime nu poate fi confundată cu tiolii care colectează într-o masă compactă la fundul eprubetei. Se verifică ca nicio precipitare să nu se producă la adăugarea câtorva picături de soluție de diacetat de cadmiu (5.2.2.4.) la supernatant.

Acolo unde identificarea anterioară nu a relevat alți agenți reducători în afară de tioli, se verifică iodometric dacă tiolul prezent în lichidul supernatant nu depășește 6 până la 8% din cantitatea inițială.

Se introduc 10 ml de metanol (5.2.2.3.) într-o eprubetă de centrifugare conținând precipitatul și se dispersează fin precipitatul cu o tijă agitatoare. Se centrifughează din nou pentru cel puțin 15 minute la 4.000 g. Se scurge supernatantul și se verifică absența tiolilor.

Se spală precipitatul a doua oară urmând același procedeu.

Încă folosind aceeași eprubetă de centrifugă, se adaugă:

- 2 ml soluție octaonat de metil (5.2.2.5.),
- 5 ml de acid clorhidric în metanol (5.2.2.7.).

Se dizolvă complet tiolii (din excipient poate persista puțină materie insolubilă). Aceasta este soluția „S”.

Cu o porțiune din această soluție, se verifică iodometric dacă conținutul de tioli este de cel puțin 90% din cel obținut la 5.1.

5.2.5. Metilare

Metilarea se realizează ori prin preparare in situ (5.2.5.1.) ori cu soluție de diazometan preparată anterior (5.2.5.2.).

5.2.5.1. Metilare in situ

În aparatura de metilare (5.2.3.2.) conținând 1 ml de eter (5.2.2.11.) se introduc 50 μl soluție „S” și se metilează prin metoda (5.2.3.2.) cu circa 300 mg de 1-metil-3-nitro-1-nitrozoguanidină (5.2.2.8.). După 15 minute (soluția de eter trebuie să fie galbenă pentru a indica excesul de diazometan) se transferă soluția de probă într-un flacon de 2 ml având un dop etanș. Se depozitează în frigider peste noapte. Se metilează două probe simultan.

5.2.5.2. Metilare cu soluție de diazometan preparată anterior

Într-un flacon cu dop de 5 ml se introduc 1 ml soluție de diazometan (5.2.2.12.), apoi 50 μl soluție „S”. Se lasă în frigider peste noapte.

5.2.6. Preparare standard

Se prepară o soluție standard de acid mercaptoacetic (5.2.2.1.) de concentrație cunoscută conținând circa 60 mg acid mercaptoacetic pur (5.2.2.1.) la 2 ml.

Aceasta este soluția „E”.

Se precipită, determină și metilează conform 5.2.4. și 5.2.5.

5.2.7. Condiții pentru cromatografia de gaze

5.2.7.1. Coloană

Tip: oțel inoxidabil

Lungime: 2 m

Diametru: 3 mm

5.2.7.2. Umplutură

2% ftalat de didecil /chromosorb, WAW 80 la 100 ochiuri.

5.2.7.3. Detector

Ionizare în flacără. O setare adecvată a sensibilității electrometrului detectorului cu ionizare cu flacără este 8×10^{-10} A.

5.2.7.4. Alimentări cu gaz

Gaz purtător: azot

presiune: 2,2 bar

debit: 35 ml/min.

Gaz auxiliar: hidrogen

presiune: 1,8 bar

debit: 15 ml/min.

Alimentare-detector: conform celor specificate de producătorii instrumentului

5.2.7.5. Condiții de temperatură

Injector: 200° C

Detector: 200° C

Coloană: 90° C

5.2.7.6. Viteza de înregistrare a graficului

5 mm/min.

5.2.7.7. Cantitate injectată

3 μl. Se realizează cinci injectări.

Condițiile cromatografiei sunt date informativ. Ele permit realizarea unei rezoluții „R” egală sau mai bună decât 1,5, unde:

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

fie

r_1 și r_2 = timpii de retenție (în minute) pentru cele două picuri

W_1 și W_2 = lățimile picurilor la jumătatea înălțimii (în milimetri)

d' = viteza de înregistrare a graficului (în milimetri per minut)

Se recomandă ca procesul de cromatografiere să se termine prin reglarea temperaturii de la 90 la 150° C cu o rată de 10° C pe minut pentru a elimina substanțele care sunt susceptibile a interfera cu măsurătorile ulterioare.

5.2.8. Calcul

5.2.8.1. Coeficientul de proporționalitate pentru acidul mercaptoacetic

Acesta se calculează față de octanoatul de metil pe baza unui amestec standard.

Dacă „t” reprezintă acidul mercaptoacetic:

fie:

k_t = factorul său de răspuns
 m'_t = masa sa (în miligrame) în amestec
 S'_t = aria picului său

Dacă „c” reprezintă octanoatul de metil:

fie:

m'_c = masa sa (în miligrame) în amestec
 S'_c = aria picului său

atunci:

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

Acest coeficient variază funcție de aparatura folosită.

5.2.8.2. Concentrația de acid mercaptoacetic prezent în probă

Dacă „t” reprezintă acidul mercaptoacetic:

fie:

k_t = factorul său de răspuns
 S_t = aria picului său

Dacă „c” reprezintă octanoatul de metil:

fie:

m_c = masa sa (în miligrame) în amestec
 S_c = aria picului său

M = masa (în miligrame) a porțiunii de testare inițială

atunci procentul % (m/m) de acid mercaptoacetic prezent în probă este:

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

6. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de acid mercaptoacetic de 8% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,8% (m/m).

ANEXA Nr. 20

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru hexaclorofen

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru identificare hexaclorofen din produsele cosmetice.

2. PRINCIPIU

Hexaclorofenul din probă este extras cu acetat de etil și identificat prin cromatografie în strat subțire.(C.S.S.)

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid sulfuric, soluție 4 M

3.2. Celită AW.

3.3. Acetat de etil

3.4. Solvent de eluție: Benzen conținând 1% (v/v) acid acetic glacial.

3.5. Agent de vizualizare I:

Soluție Rodamină B: se dizolvă 100 mg Rodamină B într-un amestec de 150 ml dietileter, 70 ml etanol absolut și 16 ml apă.

3.6. Agent de vizualizare II:

Soluție 2,6-dibromo-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienonă: se dizolvă 400 mg de 2,6-dibromo-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienonă în 100 ml metanol (zilnic proaspăt preparat).

Soluție carbonat de sodiu: se dizolvă 10 g carbonat de sodiu în 100 ml de apă demineralizată.

3.7. Soluție etalon:

Hexaclorofen, soluție 0,05% (m/v) în acetat de etil.

4. APARATURĂ

4.1. Plăci pentru cromatografie în strat subțire Kiesel gel 254, 200 x 200 mm (sau echivalent)

4.2. Echipament uzual pentru cromatografia în strat subțire

4.3. Baie termostată la 26°C pentru tancul cromatografic

5. PREPARAREA PROBEI PENTRU TESTARE

5.1. Se amestecă foarte bine 1 gram probă omogenizată cu 1 g Celită AW (3.2) și 1 ml acid sulfuric (3.1)

5.2. Se usucă la 100°C pentru 2 ore.

5.3. Se răcește și se mărunțește fin reziduul uscat.

5.4. Se extrage de două ori cu câte 10 ml acetat de etil (3.3), se centrifughează după fiecare extracție și se combină straturile de acetat de etil.

5.5. Se evaporă la 60°C.

5.6. Se dizolvă reziduul în 2 ml acetat de etil (3.3).

6. PROCEDEU

6.1. Se pun 2 μl soluție probă de testat (5.6) și 2 μl soluție etalon (3.7) pe placa de cromatografie în strat subțire (4.1)

6.2. Se saturează tancul (4.3) cu solvent de eluție (3.4).

6.3. Se pune placa CSS în tanc și se eluează până la 150mm.

6.4. Se scoate placa CSS și se usucă într-o etuvă ventilată la o temperatură de circa 105°C.

6.5. Vizualizare

Spoturile de hexaclorofen de pe placă se vizualizează conform indicațiilor 6.5.1 sau 6.5.2.

6.5.1. Se pulverizează uniform pe placă agent de vizualizare I (3.5). După 30 minute se examinează placa la lumină UV 254 nm.

6.5.2. Se pulverizează uniform pe placă soluția de 2,6-dibromo-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienonă, agent de vizualizare II (3.6). Ulterior se pulverizează placa cu soluție de carbonat de sodiu (3.6). Se examinează placa la lumina zilei după 10 minute de uscare la temperatura camerei.

7. INTERPRETARE

7.1. Vizualizare agent I (3.5):

Hexaclorofenul este indicat de un spot albastrui pe un fond fluorescent galben-portocaliu și are o valoare R_f de aproximativ 0,5.

7.2. Vizualizare agent II (3.6)

Hexaclorofenul este indicat de un spot azuriu spre turcoaz pe un fond alb și are o valoare R_f de aproximativ 0,5.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICAȚIE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinare hexaclorfen din produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de hexaclorofen în probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de hexaclorofen.

3. PRINCIPIU

Hexaclorofenul este determinat, după conversia la derivat metilat, prin cromografie de gaze cu detector cu captură de electroni.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Acetat de etil

4.2. N-metil-N-nitrozo-p-toluensulfonamidă (diazald)

4.3. Dietileter

4.4. Metanol

4.5. Carbitol: 2-(2-etoxietoxi)etanol

4.6. Acid formic

4.7. Hidroxid de potasiu, soluție apoasă 50% (m/m) (zilnic proaspăt preparată)

4.8. Hexan pentru spectroscopie

4.9. Bromclorofen (standard nr.1)

4.10. 4,4',6,6'-tetracloro-2,2'-tiodifenol (standard nr.2)

4.11. 2,4,4'-triclouro-2-hidroxi-difenileter (standard nr.3)

4.12. Acetonă

4.13. Acid sulfuric 4M

4.14. Celită AW

4.15. Acid formic/acetat de etil, soluție 10% (v/v)

4.16. Hexaclorofen

5. APARATURĂ

5.1. Sticlărie uzuală de laborator

5.2. Miniaparatură pentru prepararea diazometanului (Analyt.Chem.1973, 45,2302-2)

5.3. Cromatograf de gaze echipat cu un detector cu captură de electroni cu sursă 63 Ni

6. PROCEDEU

6.1. Preparare soluție standard

Standardul este ales astfel încât să nu interfereze cu nicio substanță conținută în excipient produsului de analizat. De obicei standardul nr.1 este cel mai adecvat (4.9)

6.1.1. Într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 50 mg standard nr.1, 2 sau 3 (4.9, 4.10 sau 4.11) și 50 mg de hexaclorofen (4.16). Se aduce la semn cu acetat de etil (4.1) (soluție A). Se diluează 10 ml soluție A cu acetat de etil (4.1) până la 100 ml (soluție B).

6.1.2. Într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 50 mg de standard nr. 1, 2 sau 3 (4.9, 4.10 sau 4.11). Se aduce la semn cu acetat de etil (4.1) (soluție C).

6.2 Preparare probă

Se cântărește cu precizie 1 g probă omogenizată și se amestecă foarte bine cu 1 ml acid sulfuric (4.13), 15 ml acetonă (4.12) și 8 g Celită AW (4.14). Se usucă amestecul la aer pe o baie de abur timp de 30 minute, apoi se usucă o oră și jumătate într-un cuptor cu ventilație. Se răcește, se mărunțește fin reziduul și se transferă într-o coloană de sticlă.

Se eluează cu acetat de etil (4.1) și se colectează 100 ml. Se adaugă 2 ml soluție standard intern (soluție C) (6.1.2).

Observații: deoarece există un domeniu larg de tipuri de produse în care hexaclorofenul poate fi prezent, este important ca mai întâi să se verifice extragerea hexaclorofenului din probă prin acest procedeu înainte de înregistrarea rezultatelor. Dacă extragerile sunt mici, modificările, cum ar fi schimbarea solventului (benzen în loc de acetat de etil), pot fi introduse cu acordul părților interesate.

6.3 Metilare probă

Se răcesc toți reactivii și aparatura între 0 și 4°C timp de două ore. În compartimentul exterior al aparaturii de diazometan se pun 1,2 ml soluție obținută la 6.2. și 0,1 ml metanol (4.4.). Se pun circa 200 mg diazald (4.2) în rezervorul central, se adaugă 1 ml carbitol (4.5) și 1 ml dietileter (4.3) și se dizolvă. Se assemblează aparatul, se imersează pe jumătate într-o baie la 0°C și se introduce cu seringă cam 1 ml soluție hidroxid de potasiu răcită (4.7) în rezervorul central. Se asigură persistența culorii galbene obținută prin formarea diazometanului. Dacă culoarea galbenă nu persistă, se repetă metilarea cu alte 200 mg de diazald (4.2).

Observații: persistența colorației galbene indică un exces de diazometan, care este necesar pentru a asigura o metilare completă a probei.

Aparatul se îndepărtează din baie după 15 minute, apoi se lasă închis la temperatură ambiantă timp de 12 ore. Se deschide aparatul, se tratează excesul de diazometan prin adăugarea câtorva picături de soluție acid formic în acetat de etil (4.15) 10% (v/v) și se transferă soluția organică într-un balon cotat de 25ml. Se aduce la semn cu hexan (4.8).

Se injectează 1,5 μl din această soluție în cromatograf.

6.4. Metilarea standardului

Se răcesc reactivii și aparatura între 0 și 4°C timp de două ore. Se introduc în compartimentul extern al aparaturii de diazometan următoarele:

0,2 ml soluție B (6.1.1)

1 ml acetat de etil (4.1)

0,1 ml metanol (4.4).

Se continuă metilarea conform descrierii de la 6.3. Se injectează în cromatograf 1,5 μl din soluția rezultată.

6. CROMATOGRAFIERE DE GAZE

Coloana trebuie să realizeze o rezoluție „R” egală sau mai bună decât 1,5, unde:

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

r_1 și r_2 = timpii de retenție (în minute)

W_1 și W_2 = lățimea picurilor la jumătatea înălțimii (în milimetri)

d = viteza de înregistrare a graficului (în milimetri per minut)

Următoarele condiții au fost găsite adecvate pentru cromatografia de gaze:

Coloană: oțel inoxidabil

Lungime: 1,7 m

Diametru: 3 mm
 Suport:
 chromosorb: WAW
 analiza sitei: 80 la 100 ochiuri
 Fază staționară: 10% OV 17
 Temperaturi:
 coloană: 280°C
 injector: 280°C
 detector: 280°C
 Gaz purtător: azot fără oxigen
 Presiune: 2,3 bar
 Debit: 30 ml/min.

7. CALCUL

7.1. Coeficient de proporționalitate al hexaclorofenului

Acesta este calculat față de standardele alese, în legătură cu amestecul standard.

Fie:

h = hexaclorofenul
 k_h = coeficientul său de proporționalitate
 m'_h = masa sa (în grame) în amestec
 A'_h = aria picului său
 s = standardul ales
 m'_s = masa sa (în grame) în amestec
 A'_s = aria picului standardului
 atunci:

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

8.2 Cantitatea de hexaclorofen în probă

Fie:

h = hexaclorofenul
 k_h = coeficientul său de proporționalitate
 A_h = aria picului său
 s = standardul ales
 m_s = masa sa (în grame) în amestec
 A_s = aria picului său
 M = masa (în grame) de probă pentru testare luată
 atunci procentul % (m/m) de hexaclorofen din probă este:

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

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de hexaclorofen de 0,1% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,005% (m/m).

ANEXA Nr. 21

METODĂ

de identificare și determinare cantitativă pentru tosilcloramida de sodiu (cloramina -T)

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea cantitativă prin cromatografie în strat subțire a tosilcloramidei de sodiu (cloramină-T) în produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de cloramină-T din probă, determinat conform acestei metode, este exprimat ca procentaj de masă (m/m).

3. PRINCIPIU

Cloramina-T este hidrolizată complet la 4-toluensulfonamidă prin fierbere cu acid clorhidric. Cantitatea de 4-toluensulfonamidă formată este determinată fotodensiometric prin cromatografie în strat subțire.

Cantitatea de 4-toluensulfonamidă formată se determină fotodensiometric prin cromatografie în strat subțire.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Tosilcloramină de sodiu (cloramină-T)

4.2. Soluție standard de 4-toluensulfonamidă: 50 mg de 4-toluensulfonamidă în 100 ml etanol (4.5)

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

4.4. Dietileter

4.5. Etanol, 96% (v/v)

4.6. Solvent de dezvoltare

4.6.1. 1-butanol/etanol (4.5)/apă (40 : 4 : 9; v/v/v), sau

4.6.2. cloroform/acetona (6 : 4; v/v).

4.7. Plăci pentru cromatografie în strat subțire gata pregătite, silicagel 60, fără indicator fluorescent.

4.8. Permanganat de potasiu

4.9. Acid clorhidric, 15% (m/m).

4.10. Reactiv pulverizat: 2-toluidină, soluție în etanol 1% (m/v) (4.5)

5. APARATURĂ

5.1. Aparatură uzuală de laborator

5.2. Echipament uzual pentru cromatografie în strat subțire

5.3. Fotodensitometru

6. PROCEDEU

6.1. Hidroliză

Se cântărește cu precizie într-un balon cu fund rotund de 50 ml circa 1 g de probă („m”). Se adaugă 5 ml apă și 5 ml acid clorhidric (4.3.) și se fierbe o oră folosind un condensator de reflux. Se transferă imediat suspensia fierbinte cu apă într-un balon gradat de 50ml. Se lasă să se răcească și se completează până la semn cu apă. Se centrifughează la cel puțin 3.000 rpm pentru 5 minute și se trece lichidul supernatant printr-un filtru.

6.2. Extracție

6.2.1. Se iau 30 ml filtrat și se extrage de trei ori cu 15 ml dietileter (4.4). Dacă este necesar se usucă fazele eterice și se colectează acestea într-un balon cotat de 50 ml. Se aduce la semn cu dietileter. (4.4).

6.2.2. Se iau 25 ml extract eteric uscat și se evaporă până la uscare totală într-un curent de azot. Se redizolvă reziduu cu 1 ml etanol (4.5).

6.3. Cromatografie în strat subțire

6.3.1. Se picură 20 μ l reziduu etanolic (6.2) pe o placă de cromatografie în strat subțire (4.7). În același timp și în același mod se picură 8, 12, 16 și 20 μ l de soluție standard de 4-toluensulfonamidă (4.2).

6.3.2. Apoi se lasă la dezvoltare circa 150 mm în solvent de dezvoltare (4.6.1 sau 4.6.2).

6.3.3. După evaporarea completă a solventului de dezvoltare, se pune placa pentru două sau trei minute într-o atmosferă de vapori de clor, care este produsă turnând 100 ml acid clorhidric (4.9) peste circa 2 g permanganat de potasiu (4.8) într-un vas închis. Se îndepărtează excesul de clor prin încălzirea plăcii la 100°C timp de cinci minute. Apoi se pulverizează placa cu reactiv (4.10).

6.4. Măsurare

După aproximativ o oră, se măsoară spoturile violete prin intermediul unui fotodensitometru la 525 nm.

6.5. Trasarea curbelor de etalonare

Se trasează valorile înălțimii picului maxim descoperite pentru cele 4 spoturi de 4-toluensulfonamidă față de cantitățile corespondente de 4 -toluensulfonamidă (adică 4, 6, 8, 10 μ g 4-toluensulfonamidă/spot)

7. NOTĂ

Metoda poate fi controlată prin folosirea unei soluții de 0,1 sau 0,2% (m/v) cloramină-T (4.1) tratată în același mod ca proba (6).

8. CALCUL

Conținutul de cloramină-T din probă, exprimat ca procentaj de masă, se calculează astfel:

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

unde:

- 1,33 = factor de conversie 4-toluensulfonamidă—cloramină-T
a = cantitatea (în μg) de 4-toluensulfonamidă în probă citită de pe curbele de etalonare
m = masa (în grame) a probei luate în analiză

9. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de cloramină-T de circa 0,2% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,03% (m/m).

ANEXA Nr. 22

METODĂ

de determinare cantitativă pentru fluorul total din produsele pentru îngrijirea dinților

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea fluorului total în pastele de dinți. Este adecvată pentru concentrații care nu depășesc 0,25%.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de fluor din probă determinat conform acestei metode este exprimat ca procentaj de masă.

3. PRINCIPIU

Determinarea este realizată prin cromatografie de gaze. Fluorul din compusii conținând fluor este convertit la trietilfluorsilan (TEFS) prin reacție directă cu clortriethylsilan (TECS) în soluție acidă și simultan extras cu xilen conținând ciclohexan ca standard intern.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Fluorură de sodiu, uscată la 120° C la masă constantă.

4.2. Apă, dublu distilată, sau de calitate echivalentă.

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

4.4. Ciclohexan (CH)

4.5. Xilen fără vârfuri în cromatogramă anterioare vârfului solventului când se cromatografiază în aceleași condiții ca și proba (6.1). Dacă este necesar se purifică prin distilare.

4.6. Clortriethylsilan (TECS Merck sau un echivalent).

4.7. Soluții standard de fluor

4.7.1. Soluție stoc, 0,250 mg F⁻/ml. Se cântăresc cu precizie 138,1 mg fluorură de sodiu (4.1) și se dizolvă în apă (4.2). Se transferă soluția cantitativ într-un balon cotat de 250 ml (5.5). Se diluează până la semn cu apă (4.2) și se amestecă.

4.7.2. Soluție stoc diluată, 0,050 mg F⁻/ml. Se transferă cu pipeta 20 ml din soluția stoc (4.7.1) într-un balon cotat de 100 ml (5.5). Se diluează până la semn cu apă (4.2) și se amestecă.

4.8. Soluție standard intern

Se amestecă 1 ml ciclohexan (4.4) cu 5 ml xilen (4.5).

4.9. Clortriethylsilan /soluție standard intern

Se transferă, cu pipeta (5.7), 0,6 ml TECS (4.6) și 0,12 ml soluție standard intern (4.8) într-un balon cotat de 10 ml. Se diluează cu xilen (4.5) până la semn și se amestecă. Se prepară proaspăt zilnic.

4.10. Acid percloric, 70% (m/v)

4.11. Acid percloric, 20% (m/v) în apă (4.2)

5. APARATURĂ

5.1. Echipament standard de laborator

5.2. Cromatograf de gaze cu un detector cu ionizare în flacăra.

5.3. Amestecător turbionar Vortex sau echivalent.

5.4. Bühler, agitator, tip SMB₁ sau echivalent.

5.5. Baloane cotate, 100 și 250 ml, din polipropilenă.

5.6. Eprubete de centrifugă (sticlă); 20 ml cu capac filetat teflonat, Sovirel tip 611-56 sau echivalent. Se curăță eprubetele și dopurile prin plasare în acid percloric (4.11) câteva ore, urmată de cinci clătiri ulterioare cu apă (4.2) și în final uscare la 100°C.

5.7. Pipete, reglabile pentru distribuirea de volume între 50 și 200 μl , cu vârfuri de plastic detașabile.

5.8. Aparatură de distilare, echipată cu coloană Schneider cu trei bule sau o coloană echivalentă Vigreux.

6. PROCEDEU

6.1. Analiză probă

6.1.1. Se selectează un tub de pastă de dinți nedeschis anterior, se deschide și se îndepărtează tot conținutul. Se transferă într-un recipient de plastic, se amestecă temeinic și se păstrează în condiții care nu permit deteriorarea.

6.1.2. Se cântăresc cu precizie 150 mg ("m") de probă într-o eprubetă de cetrifugare (5.6), se adaugă 5 ml apă (4.2) și se omogenizează (5.3).

6.1.3. Se adaugă 1 ml xilen (4.5).

6.1.4. Se adaugă cu picătura 5 ml acid clorhidric (4.3) și se omogenizează (5.3).

6.1.5. Se adaugă, cu pipeta, 0,5 ml clorotrietilsilan/soluție standard internă (4.9) într-o eprubetă de centrifugă (5.6).

6.1.6. Se închide eprubeta cu un dop filetat (5.6) și se amestecă temeinic timp de 45 minute pe un vibrator (5.4.) setat la 150 mișcări per minut.

6.1.7. Se centrifughează 10 minute la o asemenea viteză încât să se producă o separare netă a fazelor, se deschide eprubeta, se scoate stratul organic și se injectează 3 μl din faza organică în coloana cromatografului de gaze (5.2).

Observație: Durează circa 20 de minute pentru ca toți componenții să fie eluați.

6.1.8. Se repetă injectarea, se calculează raportul suprafeței de pic mediu (A_{TEFS}/A_{CH}) și se citește cantitatea corespunzătoare de fluor (în miligrame ("m1")) de pe curba de etalonare (6.3)

6.1.9. Se calculează conținutul de fluor total din probă (în procente de masă de fluor) după cum este indicat la paragraful 7.

6.2. Condiții de cromatografiere

6.2.1. Coloana: oțel inoxidabil

Lungime: 1,8 m

Diametru: 3 mm

Suport: Gaschrom 80 până la 100 ochiuri.

Fază staționară: ulei siliconic DC 200 sau echivalent, 20%. Se condiționează coloana peste noapte la 100°C (debit de gaz purtător la 25 ml azot per minut) și se repetă în fiecare noapte. După fiecare 4 sau 5 injectări se recondiționează coloana prin încălzire pentru 30 minute la 100°C.

Temperaturi:

coloană: 70°C

injector: 150°C

detector: 250°C

Debit de gaz purtător: 35 ml azot per minut.

6.3. Curba de etalonare

6.3.1. Se pun cu pipeta în șase eprubete de centrifugă (5.6) 0, 1, 2, 3, 4 și 5 ml soluție standard de fluor diluată (4.7.2). Se aduce la un volum de 5 ml cu apă (4.2).

6.3.2. Se procedează conform descrierii de la 6.1.3 până la 6.1.6 inclusiv.

6.3.3. Se injectează 3 μl de fază organică în coloana cromatografului de gaze (5.2.)

6.3.4. Se repetă injectarea și se calculează raportul vârfului mediu (A_{TEFS}/A_{CH}).

6.3.5. Se trasează curba de etalonare corelând masa de fluor (în miligrame) în soluțiile standard (6.3.1) și raportul suprafeței de vârf A_{TEFS}/A_{CH} măsurat în condițiile 6.3.4.. Se unesc punctele graficului cu linia dreaptă interpolată cel mai bine calculată prin analiză de regresie.

7. CALCUL

Concentrația conținutului de fluor total din probă (în procente de masă de fluor) (% (m/m) F) este dată de:

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

unde:

m = proba pentru testare (în miligrame) (6.1.2)

m_1 = cantitatea de F (în miligrame) citită de pe curba de etalonare (6.1.8)

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de fluor de circa 0,15% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească în valoare absolută de 0,012% (m/m).

METODĂ

de identificare și determinare cantitativă pentru compuși organo-mercurici

SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda descrisă mai jos este reglementată pentru a fi utilizată la identificarea și determinarea derivaților organomercurici introduși cu rol de conservanți în produsele cosmetice pentru ochi. Este aplicabilă tiomersalului (denumire INN) (2-(etilmercur) benzoat de sodiu) și fenilmercurului și sărurilor sale.

A. IDENTIFICARE

1. PRINCIPIU

Compușii organomercurici sunt combinați cu 1,5-difenil-3-tiocarbazonă. După extracția ditizonatului cu tetraclorură de carbon, silicagel, se realizează cromatografia în strat subțire. Spoturile de ditizonați apar colorate oranj.

2. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

2.1. Acid sulfuric, 25% (v/v)

2.2. 1,5-difenil-3— tiocarbazonă (ditizonă): 0,8 mg în 100 ml tetraclorură de carbon (2.4)

2.3. Azot

2.4. Tetraclorură de carbon

2.5. Solvent de dezvoltare: hexan / acetonă, 90 : 10 (v/v)

2.6. Soluție standard, 0,001% în apă, de:

2-(etilmercur)benzoat de sodiu

clorură de etilmercur sau clorură de metilmercur

nitrat de fenilmercur sau acetat de fenilmercur

diclorură de mercur sau diacetat de mercur

2.7. Plăcuțe cu silicagel gata preparate (de ex. Merck 5721 sau echivalent)

2.8. Clorură de sodiu

3. APARATURĂ

3.1. Echipament normal de laborator

3.2. Aparatură normală pentru cromatografie în strat subțire (CSS)

3.3. Filtru separator de faze

4. PROCEDEU

4.1. Extracție

4.1.1. Se diluează 1 g probă într-o eprubetă de centrifugă prin titrare cu 20 ml apă distilată. Se obține dispersia maximă și se încălzește la 60°C pe baie de apă. Se adaugă 4 g clorură de sodiu (2.8). Se agită. Se lasă să se răcească.

4.1.2. Se centrifughează cel puțin 20 minute la 4500 rot/minut pentru a separa cea mai mare parte a solidului de lichid. Se filtrează printr-o pâlnie de separare și se adaugă 0,25 ml soluție de acid sulfuric (2.1).

4.1.3. Se extrage de mai multe ori cu 2 sau 3 ml soluție de ditizonă (2.2) până când ultima fază organică rămâne verde.

4.1.4. Se filtrează secvențial fiecare fază organică printr-un filtru separator de faze (3.3).

4.1.5. Se evaporă până la uscare totală într-un curent de azot (2.3).

4.1.6. Se dizolvă cu 0,5 ml de tetraclorură de carbon (2.4.). Se folosește această soluție imediat, conform 4.2.1.

4.2. Separare și identificare

4.2.1. Se pun imediat 50 μl soluție de tetraclorură de carbon obținută la 4.1.6 pe o placă cu silicagel (2.7). Se tratează simultan 10 ml soluție standard (2.6) ca la 4.1. și se pun 50 μl din soluția obținută la 4.1.6. pe aceeași placă.

4.2.2. Se pune placa în solvent (2.5) și se lasă până acesta avansează 150 mm. Compușii organomercurici apar ca spoturi colorate a căror culoare este stabilă, dacă placa este acoperită cu o placă de sticlă imediat după evaporarea solventului.

Ca exemplu, s-au obținut următoarele valori Rf:

	Rf	Culoare
Tiomersal	0,33	oranj
Clorură de etilmercur	0,29	oranj
Clorură de metilmercur	0,29	oranj
Săruri fenilmercurice	0,21	oranj
Săruri mercurice (II)	0,10	oranj
Diacetat de mercur	0,10	oranj
1,5-difenil-3-tiocarbazonă	0,09	roz

B. DETERMINARE

1. DEFINIȚIE

Conținutul de compuși organomercurici determinat prin această metodă este exprimat în procente de masă (m/m) ca mercur în probă.

2. PRINCIPIU

Metoda constă în măsurarea cantității totale de mercur prezent. Este de aceea necesar a ne asigura că nu este prezent mercur într-o stare anorganică și să fie identificat derivatul organomercuric conținut în probă. După mineralizare, mercurul eliberat este măsurat prin absorbție atomică fără flacără.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid azotic concentrat, $d_4^{20} = 1,41$ g/ml

3.2. Acid sulfuric concentrat $d_4^{20} = 1,84$ g/ml

3.3. Apă redistilată

3.4. Permanganat de potasiu, soluție 7% (m/v)

3.5. Clorură de hidroxilamoniu, soluție 1,5% (m/v)

3.6. Peroxodisulfat dipotasic, soluție 5% (m/v)

3.7. Diclorură de staniu, soluție 10% (m/v)

3.8. Acid clorhidric concentrat, $d_4^{20} = 1,18$ g/ml

3.9. Diclorură de paladiu impregnată pe vată de sticlă, 1% (m/m).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Aparatură pentru determinarea mercurului prin absorbție atomică fără flacără (tehnica vaporilor reci) incluzând sticlăria necesară. Lungimea de cale a cuvei este cel puțin 100 mm.

5. PROCEDEU

Se iau toate măsurile normale de protecție pentru analiza urmelor de mercur.

5.1. Separare

5.1.1. Se cântăresc cu precizie 150 mg probă ("m"). Se adaugă 10 ml acid azotic (3.1.) și se lasă pentru 3 ore într-un flacon etanș pus într-o baie de apă la 55°C, agitându-l la intervale regulate. În același timp, se realizează un test orb pe reactivi.

5.1.2. După răcire, se adaugă 10 ml acid sulfuric (3.2.) și se lasă din nou în baia de apă la 55°C timp de 30 minute.

5.1.3. Se pune flaconul într-o baie de gheață și se adaugă cu grijă 20 ml apă (3.3).

5.1.4. Se adaugă o porțiune de 2 ml soluție permanganat de potasiu 7% (3.4) până când soluția rămâne colorată. Se pune din nou în baia de apă la 55°C pentru încă 15 minute.

5.1.5. Se adaugă 4 ml soluție peroxodisulfat de dipotasiu (3.6). Se continuă încălzirea în baie de apă la 55°C pentru 30 minute.

5.1.6. Se lasă la răcit și se transferă conținutul flaconului într-un balon cotat de 100ml. Se clătește vasul cu 5 ml clorură de hidroxilamoniu (3.5) și apoi se clătește de patru ori cu 10 ml apă (3.3). Soluția trebuie să fie complet decolorată. Se aduce la semn cu apă (3.3).

5.2. Determinare

5.2.1. Se pun 10 ml soluție test (5.1.6) într-un vas de sticlă pentru determinarea mercurului în vapori reci (4.2). Se diluează cu 100 ml apă (3.3) și consecutiv cu 5 ml acid sulfuric (3.2) și 5 ml soluție diclorură de staniu (3.7). Se amestecă după fiecare adăugare. Se așteaptă 30 de secunde pentru reducerea tuturor ionilor de mercur la stare metalică și se face o citire ("n").

5.2.2. Se pune vată de sticlă impregnată cu diclorură de paladiu (3.9) între vasul de reducere a mercurului și cuva de curgere a instrumentului (4.2). Se repetă 5.2.1. și se înregistrează citirea. Dacă citirea nu este zero, mineralizarea nu a fost completă și analiza trebuie repetată.

6. CALCUL

Fie:

m = masa (în miligrame) a probei pentru testare

n = cantitatea de mercur (în μg) citită pe instrument

Cantitatea de mercur, exprimată ca mercur, în procente de masă, se calculează cu formula:

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

7. NOTE

7.1 Pentru îmbunătățirea mineralizării poate fi necesar să se înceapă prin diluarea probei.

7.2 Dacă absorbția mercurului pe substrat este suspectabilă, trebuie făcută o determinare cantitativă prin metoda adaosurilor standard.

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

În cazul unei concentrații de mercur de 0,007%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,00035%

*ANEXA Nr. 24***M E T O D Ă****de identificare și determinare cantitativă pentru sulfuri alcaline și alcalino-pământoase****1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea sulfurilor prezente în produsele cosmetice. Prezența tiolilor sau a altor agenți reducători (inclusiv sulfiți) nu interferează.

2. DEFINIȚIE

Concentrația sulfurilor determinată prin această metodă se exprimă ca procente de masă de sulf.

3. PRINCIPIU

După acidifierea mediului, hidrogenul sulfurat este antrenat într-un curent de azot și apoi fixat sub formă de sulfură de cadmiu. Aceasta se filtrează și se clătește și apoi este determinată iodometric.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Acid clorhidric concentrat, $d_4^{20} = 1,19 \text{ g/ml}$.

4.2. Tiosulfat de sodiu, soluție standard 0,1 M

4.3. Iod, soluție standard 0,05 M

4.4. Sulfură disodică

4.5. Diacetat de cadmiu

4.6. Amoniac concentrat, $d_4^{20} = 0,90 \text{ g/ml}$.

4.7. Soluția amoniacală de diacetat de cadmiu: se dizolvă 10 g diacetat de cadmiu (4.5) în circa 50 ml apă. Se adaugă amoniac (4.6) până când precipitatul se redizolvă (de ex. aproximativ 20 ml). Se aduce la 100 ml cu apă.

4.8. Azot

4.9. Soluție de amoniac M

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator

5.2. Balon cu fund rotund și trei gâturi rodate standard de 100 ml

5.3. Două flacoane conice de 150 ml cu gât rodat, echipate cu un dispozitiv alcătuit dintr-un tub plonjor și o țevă de ieșire laterală pentru eliminarea gazelor antrenate.

5.4. Pâlnie cu tijă lungă

6. PROCEDEU

6.1. Antrenarea sulfurilor

6.1.1. Se ia o probă pentru testare care nu a fost deschisă anterior. Se cântărește cu precizie în balonul cu fund rotund (5.2) o cantitate ("m") (exprimată în grame) de produs corespunzând la nu mai mult de 30 mg ioni sulfură (5.2). Se adaugă 60 ml apă și 2 picături lichid antispumant.

6.1.2. Se transferă 50 ml soluție (4.7) în fiecare dintre cele două flacoane conice (5.3.)

6.1.3. Se fixează pâlnia picurătoare, tubul plonjor și țeava de ieșire pe balonul cu fund rotund (5.2). Se conectează țeava de ieșire la flacoanele conice (5.3) montate în serie prin intermediul unor țevi de PVC.

Nota bene: Aparatul de antrenare trebuie să treacă de următorul test de etanșitate: simulând condițiile de testare, se înlocuiește produsul care urmează să fie determinat în 10 ml soluție de sulfură (preparată la 4.4) conținând „X mg” de sulfură (determinată iodometric). Fie „Y” numărul de miligrame de sulfură găsit la sfârșitul acestei operații. Diferența dintre cantitatea „X” și cantitatea „Y” nu trebuie să depășească 3%.

6.1.4. Se trece curent de azot (4.8) prin interior timp de 15 minute, cu un debit de două bule pe secundă, în vederea eliminării aerului conținut în balonul cu fund rotund (5.2.)

6.1.5. Se încălzește balonul cu fund rotund la $85 \pm 5^\circ\text{C}$.

6.1.6. Se oprește curentul de azot (4.8) și se adaugă 40 ml de acid clorhidric (4.1) picătură cu picătură.

6.1.7. Se pornește din nou curentul de azot (4.8) atunci când aproape tot acidul a fost transferat, lăsând un pat de lichid minim pentru a preveni scăpările de hidrogen sulfurat.

6.1.8. Se oprește încălzirea după 30 minute. Se lasă flaconul (5.2) să se răcească și se continuă trecerea curentului de azot (4.8) prin interior pentru cel puțin o oră și jumătate.

6.2. Titrare

6.2.1. Se filtrează sulfura de cadmiu printr-o pâlnie cu tijă lungă (5.4).

6.2.2. Se clătesc flacoanele conice (5.3) mai întâi cu soluție amoniacală (4.9) și se toarnă în filtru. Apoi se clătește cu apă distilată și se folosește apa pentru a spăla precipitatul reținut de filtru.

6.2.3. Se completează apa de spălare a precipitatului cu 100 ml apă.

6.2.4. Se pune hârtie de filtru în primul flacon conic care conține precipitatul. Se adaugă 25 ml („n₁”) soluție de iod (4.3), circa 20 ml acid clorhidric (4.1) și 50 ml apă distilată.

6.2.5. Se determină excesul de iod folosind soluție de tiosulfat de sodiu („n₂”) (4.2).

7. CALCUL

Conținutul de sulfură al probei, exprimat ca sulf, în procente de masă, se calculează cu următoarea formulă:

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

unde:

n₁ = numărul (în mililitri) de soluție standard de iod (4.3) folosit

x₁ = molaritatea acestei soluții

n₂ = numărul (în mililitri) de soluție standard de tiosulfat de sodiu (4.2)

x₂ = molaritatea acestei soluții

m = masa (în grame) a probei pentru testare

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de sulfură de circa 2% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,2% (m/m).

ANEXA Nr. 25

METODĂ

de identificare și determinare cantitativă pentru alfa-monogliceril (4-aminobenzoat)

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează identificarea alfa-mono (gliceril 4-aminobenzoatului sau glicerol (1-(4-aminobenzoat) și identificarea etil -4-aminobenzoatului (benzocaină : INN) ce poate fi prezent ca impuritate.

2. PRINCIPIU

Această identificare este făcută prin cromatografie în strat subțire pe silicagel cu un indicator de fluorescență și detecția grupului de amine primare libere prin formarea unui colorant diazo pe placă.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Amestec solvent: ciclohexan / 2-propanol / diclorometan stabilizat 48 / 64 / 9 (v/v/v).

3.2. Solvent de dezvoltare: gazolină (40-60)/benzen/ acetona/soluție hidroxid de amoniu (NH_3 minim 25%): 35/35/35/1 (v/v/v/v).

3.3. Soluție de dezvoltare:

a) azotit de sodiu: 1 g în 100 ml acid clorhidric 1M (preparat imediat înainte de folosire).

b) 2-naftol: 0,2 g în 100 ml de hidroxid de potasiu 1M

3.4. Soluții standard:

alfa-monogliceril 4-aminobenzoat: 0,05 g în 100 ml solvent amestecat 3.1

etil 4-aminobenzoat : 0,05 g în 100 ml solvent amestecat 3.1

3.5. Plăci cu silicagel 60 F254, 0,25 mm grosime, 200 mm x 200 mm

4. APARATURĂ

4.1. Aparatura uzuală pentru cromatografie în strat subțire

4.2. Vibrator ultrasonic

4.3. Filtru Millipore FH 0,5 μm ori echivalent

5. PROCEDEU

5.1. Prepararea probei

Se cântăresc 1,5 g produs de analizat într-un balon cotat cu dop de 10ml. Se aduce la semn cu solvent (3.1). Se închide și se lasă pentru o oră la temperatura camerei într-un vibrator ultrasonic (4.2). Se filtrează printr-un filtru Millipore (4.3) și se folosește filtratul pentru cromatografiere.

5.2. Cromatografiere în strat subțire

Se pun cu pipeta pe placă (3.5) câte 10 μl soluție probă (5.1) și din fiecare soluție standard (3.4).

Se dezvoltă cromatograma până la o înălțime de 150 mm într-un tanc saturat anterior cu solvent 3.2. Se lasă placa să se usuce la temperatură ambiantă.

5.3. Dezvoltare

5.3.1. Se observă placa în lumină UV la 254 nm.

5.3.2. Se pulverizează placa complet uscată cu soluție 3.3 (a).

Se lasă să se usuce la temperatura camerei pentru 1 minut și imediat se pulverizează cu soluție 3.3. Se usucă placa într-o etuvă la 60°C. Spoturile ce apar au o culoare oranj. Alfa-monogliceril 4-aminobenzoat: Rf 0,07; etil 4-aminobenzoat: Rf 0,5.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează determinarea alfa-monogliceril-(4-aminobenzoat)ului. Se determină de asemenea etil-4-aminobenzoatul. Nu se poate determina mai mult de 5% (m/m) alfa-monogliceril 4-aminobenzoat și mai mult de 1% (m/m) etil- 4-aminobenzoat.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de alfa-monogliceril 4-aminobenzoat și de etil- 4-aminobenzoat măsurat prin această metodă este exprimat în procente de masă (% m/m) de produs.

3. PRINCIPIU

Produsul de analizat este suspendat în metanol și după un tratament adecvat al probei este determinat prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC).

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și trebuie să fie adecvați pentru HPLC.

4.1. Metanol

4.2. Ortofosfat diacid de potasiu (KH_2PO_4)

4.3. Diacetat de zinc ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

4.4. Acid acetic ($d_4^{20} = 1,05$)

4.5. Hexacianoferrat de tetrapotasiu ($\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)

4.6. Etil 4-hidroxibenzoat

4.7 Alfa monogliceril 4-aminobenzoat

4.8. Etil 4-aminobenzoat

4.9. Soluție tampon de fosfat (0,02M): se dizolvă 2,72 g ortofosfat diacid de potasiu (4.2) într-un litru de apă

4.10. Eluent: soluție tampon de fosfat (4,9)/metanol (4.1) 61 / 39 (v/v)

Compoziția fazei mobile poate fi schimbată în scopul de a obține un factor de rezoluție $R \geq 1,5$.

$$R = 2d' \frac{R_2 - R_1}{W_1 + W_2}$$

unde:

R_1 și R_2 = timpii de retenție, în minute, ai picurilor
 W_1 și W_2 = lățimea picurilor la jumătatea înălțimii, în milimetri
 d' = viteza de înregistrare a graficului, în milimetri per minut

4.11. Soluție stoc de alfa monogliceril 4-aminobenzoat: într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 40 mg alfa monogliceril 4-aminobenzoat. Se dizolvă în 40 ml metanol (4.1). Se aduce la semn cu soluție tampon (4.9) și se amestecă.

4.12. Soluție stoc de etil 4-aminobenzoat: într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 40 mg etil 4-aminobenzoat. Se dizolvă în 40 ml metanol (4.1). Se aduce la semn cu soluție tampon (4.9) și se amestecă.

4.13. Soluție standard intern: într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 5 mg etil 4-hidroxi benzoat. Se dizolvă în 40 ml metanol (4.1). Se aduce la semn cu soluție tampon (4.9) și se amestecă.

4.14. Soluții standard: se prepară patru soluții standard prin dizolvarea în 100 ml eluent (4.10) conform tabelului de mai jos:

	Alfa monogliceril 4-aminobenzoat		Etil 4-aminobenzoat		Etil 4-hidroxi benzoat	
	μg/ml (*)	ml (4.11)	μg/ml (*)	ml (4.12)	μg/ml (*)	ml (4.13)
I	8	2	8	2	50	10
II	16	4	12	3	50	10
III	24	6	16	4	50	10
IV	40	10	20	5	50	10
(!) Aceste valori sunt date ca o indicație și corespund la mase exacte din 4.11, 4.12 și 4.13.						
NB: aceste soluții pot fi preparate în moduri diferite.						

4.15 Soluție Carrez I: se dizolvă 26,5 g de hexacianoferat de tetrapotasiu (4.5) în apă și se aduce la volum de 250 ml.

4.16. Soluție Carrez II: se dizolvă 54,9 g de diacetat de zinc (4.3) și 7,5 ml acid acetic (4.4) în apă și se aduce la volum de 250 ml.

4.17. Merck Lichrosorb RP-18, sau echivalent, cu dimensiunea medie a particulelor 5 μm.

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator.

5.2. Echipament pentru cromatografia de înaltă performanță cu detector UV cu lungime de undă variabilă și cameră termostată setată la 45°C.

5.3. Coloană de oțel inoxidabil: lungime 250mm, diametru interior 4,6mm; umplutură Lichrosorb RP-18 (4.17).

5.4. Baie ultrasonică.

6. PROCEDU

6.1. Preparare probă

6.1.1. Se cântărește cu precizie 1 g de probă într-un pahar de 100 ml și se adaugă 10 ml metanol (4.1).

6.1.2. Se pune paharul în baia ultrasonică (5.4) timp 20 de minute pentru a se obține o suspensie. Se transferă cantitativ suspensia astfel obținută într-un balon cotat de 100 ml cu nu mai mult de 75 ml de eluant (4.10).

Se adaugă succesiv 1 ml soluție Carrez I (4.15) și 1 ml soluție Carrez II (4.16) și se amestecă după fiecare adăugare. Se aduce la semn cu eluant (4.10), se reamestecă și se filtrează printr-o hârtie de filtru cutată.

6.1.3. Se transferă cu o pipetă 3,0 ml din filtratul obținut la 6.1.2. și 5,0 ml soluție standard intern (4.13) într-un balon cotat de 50 ml. Se aduce la semn cu eluant (4.10) de și se amestecă. Se folosește soluția astfel obținută pentru realizarea analizei cromatografice descrise la 6.2.

6.2.Cromatografie

6.2.1. Se reglează debitul fazei mobile (4.10) la 1,2 ml/min și se setează temperatura coloanei la 45°C.

6.2.2. Se setează detectorul (5.2) la 274 nm.

6.2.3. Cu o microsiringă se injectează cel puțin de două ori 20 μl de soluție (6.1.3) în cromatograf și se măsoară suprafața picului.

6.3.Curba de etalonare

6.3.1. Se injectează 20 μl din fiecare dintre soluțiile standard (4.1.4) și se măsoară suprafața picului.

6.3.2. Pentru fiecare concentrație se calculează raportul dintre suprafețele picurilor pentru alfamonogliceril 4-aminobenzoat și suprafețele picurilor pentru standardul intern.

Se trasează acest raport pe abscisă, iar pe ordonată raportul maselor corespunzătoare.

6.3.3. Se procedează în același mod pentru etil 4-hidroxibenzoat.

7.CALCUL

7.1. Din curba de etalonare obținută la 6.3. se citesc raporturile de mase (RP1, RP2), corespunzând cu raporturile dintre suprafețele picurilor calculate la 6.2.3, unde:

RP1 = masă alfamonogliceril 4-aminobenzoat / masă etil 4-hidroxibenzoat

RP2 = masă etil 4-aminobenzoat / masă etil 4-hidroxibenzoat

7.2. Din raportul de mase obținute în acest mod se calculează conținutul de alfamonogliceril 4-aminobenzoat și respectiv etil 4-aminobenzoat, ca procente de masă (% m/m) cu ajutorul formulelor:

$$R_p \% (m / m) \text{ alfa - monogliceril 4 - aminobenzoat} = RP1 \times \frac{q}{6 p}$$

$$R_p \% (m / m) \text{ etil 4 - aminobenzoat} = RP2 \times \frac{q}{6 p}$$

q = cantitatea de etil 4-aminobenzoat (standard intern) cântărită, în miligrame, în 4.12

p = cantitatea de probă, în grame, cântărită în 6.1.1

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

8.1 Pentru un conținut de 5% (m/m) alfamonogliceril 4-aminobenzoat, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,25%.

8.2. Pentru un conținut de 1% (m/m) etil 4-aminobenzoat, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,10%.

9. NOTE

9.1. Înainte de efectuarea unei analize, se verifică dacă proba conține substanțe care ar fi pasibile să se suprapună pe cromatogramă peste picul standardului intern (etil 4-aminobenzoat).

9.2. Pentru a verifica absența oricărei interferențe, se repetă determinarea prin schimbarea proporției de metanol în faza mobilă cu 10% relativ.

ANEXA Nr. 26

M E T O D Ă**de determinare cantitativă pentru clorbutanol**

1.SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea clorbutanolului (denumire conform INN) la o concentrație maximă de 0,5% (m/m) în orice produs cosmetic, cu excepția aerosolilor.

2.DEFINIȚIE

Conținutul de clorbutanol măsurat prin această metodă este exprimat în procente de masă % (m/m) de produs.

3.PRINCIPIU

După un tratament adecvat al produsului de analizat determinarea este realizată prin cromatografie de gaze folosind 2,2,2-triclorețanol ca standard intern.

4.REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

4.1. Clorbutanol (1,1,1-triclor-2-metilpropan-2-ol)

- 4.2. 2,2,2-triclorețanol
 4.3. Etanol absolut
 4.4. Soluție standard de clorbutanol: 0,025 g în 100 ml etanol (4.3) (m/v)
 4.5. Soluție standard de 2,2,2-triclorețanol: 4 mg în 100 ml etanol (4.3) (m/v)

5. APARATURĂ

- 5.1. Echipament uzual de laborator.
 5.2. Cromatograf de gaze cu detector cu electroni, Ni 63.

6. PROCEDEU

6.1. Preparare probă

Se cântărește cu precizie între 0,1 și 0,3 g („p”g) de probă. Se pune într-un balon cotat de 100ml. Se dizolvă în etanol (4.3), se adaugă 1 ml soluție standard intern (4.5) și se aduce la semn cu etanol (4.3).

6.2. Condiții pentru cromatografia de gaze

6.2.1. Condițiile de operare trebuie să realizeze un factor de rezoluție $R \geq 1,5$:

$$R = 2d' \frac{R_2 - R_1}{W_1 + W_2}$$

unde:

- R_1 și R_2 = timpii de retenție, în minute, ai picurilor
 W_1 și W_2 = lățimea picurilor la jumătatea înălțimii, în milimetri
 d' = viteza de înregistrare a graficului, în milimetri per minut

6.2.2. Ca exemple, următoarele condiții de operare furnizează rezoluția necesară:

Coloană	I	II
Material	Sticlă	Oțel inoxidabil
Lungime	1,80 m	3 m
Diametru	3 mm	3 mm
Fază staționară	10% Carbolax 20 M TPA pe	5% OV 17 pe Chromosorb WAW DMCS 80-100 ochiuri
Conditionare	Gaschrom Q 80-100	
Temperaturi:	ochiuri	
– injector	2 la 3 zile la 190°C	
– coloană		150°C
– detector	200°C	100°C
Gaz purtător	150°C	150°C
Debit	200°C	Argon / metan (95 / 5 v/v)
	Azot	35 ml/min
	35 ml/min	

6.3. Curbă standard

Folosind 5 baloane cotate de 100ml, se adaugă 1 ml soluție standard (4.5) și respectiv 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 și 0,6 ml soluție 4.4, se aduce la semn cu etanol (4.3) și se amestecă. Se injectează 1 μl din fiecare din aceste soluții în cromatograf în conformitate cu condițiile de operare descrise în 6.2.2. și se construiește o curbă de etalonare prin trasarea pe abscisă a raportului dintre masa de clorbutanol și cea de 2,2,2-triclorețanol și pe ordonată raportul suprafețelor picurilor corespondente.

6.4. Se injectează 1 μl soluție obținută la 6.1. și se procedează în conformitate cu condițiile descrise la 6.2.2.

7. CALCUL

7.1. Se calculează de pe curba standard (6.3) cantitatea „a” exprimată ca μg de clorbutanol, în soluția 6.1

7.2. Conținutul de clorbutanol în probă este calculat folosind următoarea formulă:

$$\% \text{ clorbutanol (m / m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^6} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de clorbutanol de 0,5% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,01%.

Notă

Dacă rezultatul este egal cu sau depășește concentrația maxim admisă este necesară verificarea absenței interferențelor.

ANEXA Nr. 27

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru chinină în produsele pentru îngrijirea părului

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru identificarea și determinarea cantitativă a chininei în șampoane și loțiuni pentru păr.

2. PRINCIPIU

Identificarea este realizată prin cromatografie în strat subțire pe silicagel. Detecția chininei este realizată prin fluorescența albastră a chininei în condiții acide la 360nm.

Pentru confirmare ulterioară, fluorescența poate fi eliminată prin vapori de brom și vaporii de amoniac vor determina apariția unei fluorescențe gălbui.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Plăci cu silicagel, fără indicatori fluorescenți, 0,25 mm grosime, 200 mm x 200 mm.

3.2. Solvent de dezvoltare: toluen / dietileter / diclormetan / dietilamină 20 / 20 / 20 / 8 (v/v/v/v)

3.3. Metanol

3.4. Acid sulfuric (96%; $d_4^{20} = 1,84$)

3.5. Dietileter

3.6. Agent de dezvoltare: se adaugă cu grijă 5 ml de acid sulfuric (3.4) la 95 ml dietileter (3.5) într-un recipient răcit.

3.7. Brom

3.8. Soluție hidroxid de amoniu (28%; $d_4^{20} = 0,90$)

3.9. Chinină, anhidră

3.10. Soluție standard: se cântăresc cu precizie 100,0 mg chinină anhidră (3.9) într-un balon cotelat și se dizolvă în 100 mg metanol (3.3).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual pentru cromatografie în strat subțire.

4.2. Baie ultrasonică.

4.3. Filtru Millipore, FH 0,5 μ m sau echivalent cu echipament de filtrare adecvat.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Într-un balon cotelat de 100 ml se cântărește cu precizie o cantitate de probă ce poate conține circa 100 mg chinină, se dizolvă și se aduce la semn cu metanol.

Se astupă balonul și se lasă pentru o oră la temperatura camerei într-un vibrator ultrasonic. Se filtrează și se folosește filtratul pentru cromatografie.

5.2. Cromatografiere în strat subțire

Se pune cu pipeta 1,0 μ l soluție standard (3.10) și 1,0 μ l soluție probă (5.1) pe placa cu silicagel (3.1). Se dezvoltă cromatograma pe o distanță de 150 mm folosind solvent 3.2 într-un tanc saturat anterior cu solvent (3.2).

5.3. Dezvoltare

5.3.1. Se usucă placa la temperatura camerei

5.3.2. Se pulverizează cu reactivul 3.6.

5.3.3. Se lasă placa la uscat pentru o oră la temperatura camerei.

5.3.4. Se observă în lumina unei lămpi UV reglată la o lungime de undă de 360 nm. Chinina apare ca un spot fluorescent albastru intens.

Ca exemplu tabelul de mai jos indică valorile R_f ale principalilor alcaloizi derivați din chinină când se dezvoltă cu solvent 3.2.

Alcaloid	R _f
Chinină	0,20
Chinidină	0,29
Cinconină	0,33
Cinconidină	0,27
Hidrochinidină	0,17

5.3.5. Pentru confirmarea ulterioară a prezenței chininei, placa este expusă pentru circa o oră la vapori de brom (3.7). Fluorescența dispare. Când aceeași placă este expusă la vapori de amoniac (3.8), spoturile reapar cu o culoare maro, și când placa este examinată din nou sub lumină UV la 360nm se poate observa o fluorescență gălbuie.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea chininei. Poate fi utilizată pentru a determina concentrația maximă admisă de 0,5% (m/m) în șampoane și 0,2% în loțiunile pentru păr.

2. DEFINIȚIE

Conținutul de chinină determinat prin această metodă este exprimat în procente de masă (% m/m) de produs.

3. PRINCIPIU

După un tratament adecvat al produsului de analizat, determinarea este realizată prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC).

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și adecvați HPLC.

4.1. Acetonitril

4.2. Fosfat diacid de potasiu (KH₂PO₄)

4.3. Acid ortofosforic (85%; d₄²⁰ = 1,7)

4.4. Bromură de tetrametilamoniu

4.5. Chinină, anhidră

4.6. Metanol

4.7. Soluție acid ortofosforic (0,1 M): se cântăresc 11,53 g acid ortofosforic (4.3) și se dizolvă în 1 000 ml apă într-un balon cotat.

4.8. Soluție fosfat diacid de potasiu (0,1 M): se cântăresc 13,6 g fosfat diacid de potasiu (4.2) și se dizolvă în 1 000 ml apă într-un balon cotat.

4.9. Soluție bromură de tetrametilamoniu: se dizolvă 15,40 g bromură de tetrametilamoniu în 1 000 ml apă într-un balon cotat.

4.10. Eluent: acid ortofosforic (4.7)/fosfat diacid de potasiu (4.8)/bromură de tetrametilamoniu (4.9)/ apă / acetonitril (4.1) 10 / 50 / 100 / 340 / 90 (v/v/v/v/v)

Compoziția acestei faze mobile poate fi schimbată în scopul de a obține un factor de rezoluție R_s ≥ 1,5

$$R = 2d' \frac{R_2 - R_1}{W_1 + W_2}$$

unde:

R₁ și R₂ = timpii de retenție, în minute, ai picurilor

W₁ și W₂ = lățimea picului la jumătate înălțimii, în milimetri

d' = viteza de înregistrare a graficului, în milimetri per minut

4.11. Silice tratată cu octadecilsilan (10 μm)

4.12. Soluții standard: într-un set de baloane cotate de 100 ml se cântăresc cu precizie cca. 5,0, 10,0, 15,0 și respectiv 20,0 mg chinină anhidridă (4.5). Se aduce la semn cu metanol (4.6) și se agită conținutul baloanelor până la dizolvarea chininei. Se filtrează fiecare probă printr-un filtru de 0,5 μm.

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator.

5.2. Baie ultrasonică.

5.3. Echipament pentru cromatografie de lichid de înaltă performanță, cu detector cu lungime de undă variabilă.

5.4. Coloană: lungime 250mm; diametru interior 4,6mm; umplutură silice (4.11).

5.5. Filtru Millipore FH 0,5 μm, sau echivalent, cu aparatură de filtrare adecvată.

6. PROCEDEU**6.1 Preparare probă**

Într-un balon cotat de 100 ml se cântărește cu precizie o cantitate suficientă de produs pentru a conține 10,0 mg chinină anhidră, se adaugă 20 ml metanol (4.6) și se pune balonul într-o baie ultrasonică (5.2) pentru 20 minute. Se aduce la semn cu metanol (4.6). Se amestecă soluția și apoi se filtrează o porțiune (5.5).

6.2. Cromatografiere

Debit: 1,0 ml/min.

Lungime de undă pentru detector (5.3): 332nm.

Volum de injectare: 10 μl din soluția filtrată (6.1)

Măsurare: suprafața picului.

6.3. Curbă de etalonare

Se injectează de cel puțin 3 ori 10,0 μl din fiecare soluție de referință (4.12), se măsoară suprafața picurilor și se calculează suprafața medie pentru fiecare concentrație.

Se realizează curba de etalonare și se verifică ca aceasta să fie rectilinie.

7. CALCUL

7.1. Din curba de etalonare (6.3) se determină cantitatea în μg de chinină anhidră prezentă în volumul injectat (6.2)

7.2. Concentrația de chinină anhidră în probă, ca procentaj de masă (% m/m), este obținută utilizând formula următoare:

$$\% (m / m) \text{ chinina anhidra} = \frac{B}{A}$$

unde:

B este cantitatea, în micrograme, de chinină anhidră determinată în cei 10 μl de soluție filtrată (6.1)

A este masa probei, în grame (6.1)

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de chinină anhidră de 0,5% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,02%.

Pentru un conținut de chinină anhidră de 0,2% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,01%.

*ANEXA Nr. 28***M E T O D Ă****de identificare și determinare cantitativă pentru sulfiți anorganici și sulfiți acizi****SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Metoda reglementează identificarea și determinarea sulfiților anorganici și sulfiților acizi în produsele cosmetice. Este aplicabilă numai produselor care au o fază apoasă sau alcoolică și pentru concentrații de până la 0,2% dioxid de sulf.

A. IDENTIFICARE**1. PRINCIPIU**

Proba se încălzește în acid clorhidric și dioxidul de sulf care se eliberează este identificat prin mirosul său sau prin efectul său asupra hârtiei indicatoare.

2. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

- 2.1. Acid clorhidric (4M).
- 2.2. Hârtie iod-amidonată (iodat de potasiu) ori echivalent.

3. APARATURĂ

- 3.1. Echipament uzual de laborator.
- 3.2. Flacon (25 ml) echipat cu un condensator de reflux scurt.

4. PROCEDEU

- 4.1. Se pun circa 2,5 g probă în flacon (3.2) cu 10 ml de acid clorhidric (2.1)
- 4.2. Se amestecă și se încălzește până la fierbere.
- 4.3. Se testează emisia de dioxid de sulf prin miros sau cu hârtie indicatoare (2.2).

B. DETERMINARE

1. DEFINIȚIE

Conținutul de sulfat sau sulfat acid în probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de dioxid de sulf.

2. PRINCIPIU

După acidifierea probei, dioxidul de sulf eliberat este distilat într-o soluție de apă oxigenată. Acidul sulfuric format este titrat cu o soluție de hidroxid de sodiu standardizată.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

- 3.1. Apa oxigenată 0,2% (m/v). Se prepară zilnic.
- 3.2. Acid ortofosforic ($d_4^{25} = 1,75$)
- 3.3. Metanol
- 3.4. Soluție standardizată de hidroxid de sodiu (0,01M)
- 3.5. Azot
- 3.6. Indicator: amestec 1:1 (v/v) de roșu de metil (0,03% m/v în etanol) și albastru de metilen (0,05% m/v în etanol). Se filtrează soluția.

4. APARATURĂ

- 4.1. Echipament uzual de laborator
- 4.2. Aparatură de distilare (vezi figura).

5. PROCEDEU

- 5.1. În balonul de distilare A (vezi figura) se cântăresc cu precizie circa 2,5 g probă.
- 5.2. Se adaugă 60 ml apă și 50 ml metanol (3.3) și se amestecă.
- 5.3. Se pun 10 ml apă oxigenată (3.1), 60 ml apă și câteva picături de indicator (3.6) în colectorul de distilare D (vezi figura). Se adaugă câteva picături de hidroxid de sodiu (3.4) până la virarea în verde a indicatorului.
- 5.4. Se repetă 5.3. pentru flaconul de spălare E (vezi figura).
- 5.5. Se assemblează aparatura și se reglează debitul de azot (3.5) la circa 60 bule per minut.
- 5.6. Se pun 15 ml acid ortofosforic (3.2) din până în balonul de distilare A.
- 5.7. Se încălzește rapid până la fierbere și apoi se fierbe ușor la foc mic pe o perioadă totală de 30 minute.
- 5.8. Se detașează colectorul de distilare D. Se clătește tubul și apoi se titrează soluție de hidroxid de sodiu (3.4) până la virarea în verde a indicatorului (3.6)

6. CALCUL

Se calculează conținutul de sulfat sau sulfat acid, în procente de masă, cu formula:

$$\% \text{ m / m dioxid de sulf} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

unde:

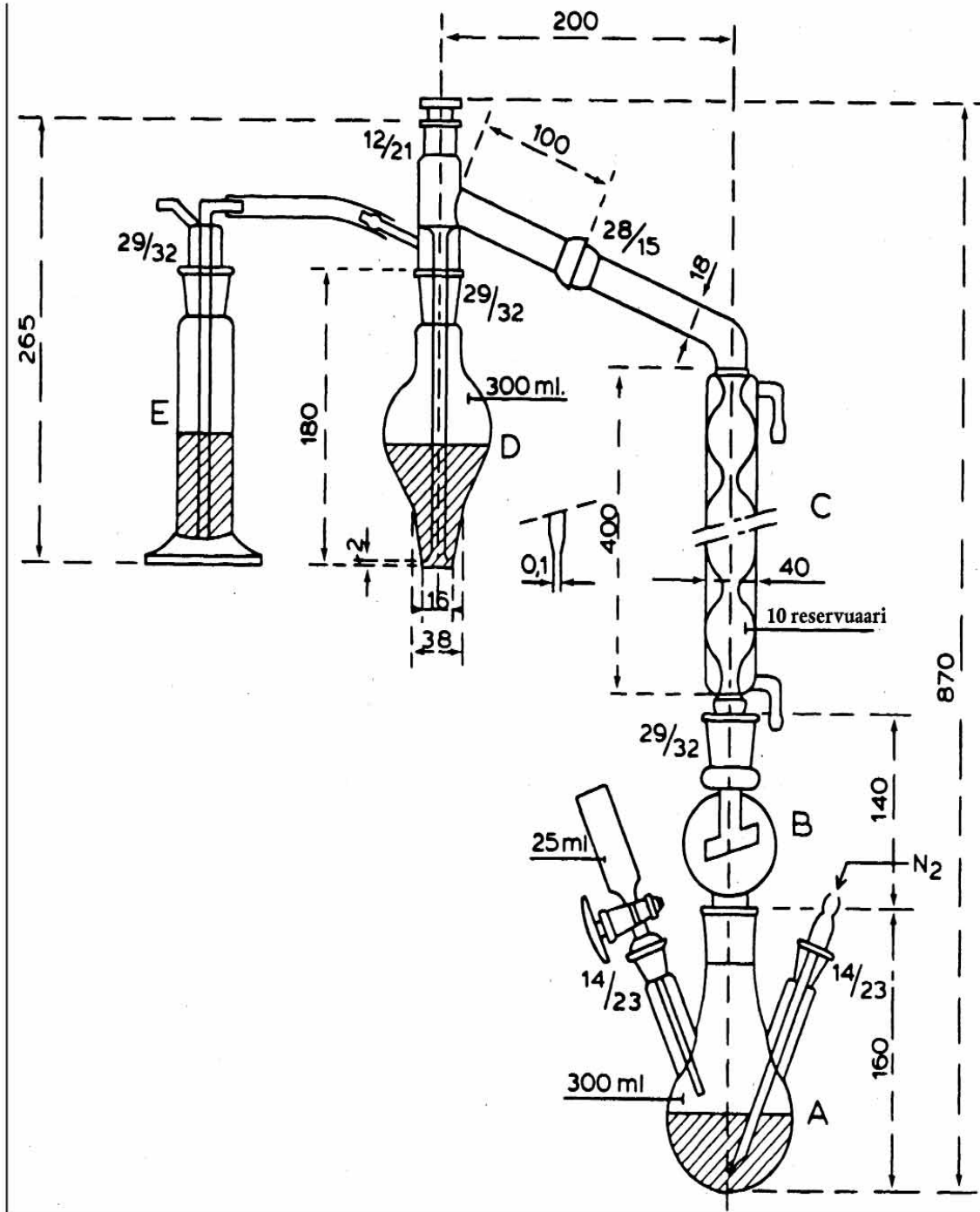
- M = concentrație molară a soluției de hidroxid de sodiu
 V = volum de hidroxid de sodiu (3.4) necesar pentru titrare (5.8), în mililitri
 m = masa probei (5.1), în grame.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de 0,2% m/m dioxid de sulf diferența dintre două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să fie mai mare de 0,006%.

Aparatura de distilare a dioxidului de sulf în conformitate cu Tanner

Toate dimensiunile sunt în mm.



M E T O D Ă**de identificare și determinare cantitativă pentru clorați ai metalelor alcaline****SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Metoda reglementează identificarea și determinarea cloraților metalelor alcaline în pastele de dinți și alte produse cosmetice.

A. IDENTIFICARE**1. PRINCIPIU**

Clorații sunt separați de alți halogenați prin cromatografie în strat subțire și identificați prin oxidarea iodurii cu formare de iod.

2. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

2.1. Soluții de referință: soluții apoase de clorat, bromat și iodat de potasiu (0,2% m/v) proaspăt preparate.

2.2. Solvent de dezvoltare: soluție amoniacală (28% m/v) / acetonă / butanol (60 / 130 / 30 v/v/v)

2.3. Iodură de potasiu, soluție apoasă (5% m/v)

2.4. Soluție de amidon (1 la 5% m/v)

2.5. Acid clorhidric (1M)

2.6. Plăci pentru cromatografie în strat subțire cu celuloză, gata preparate (0,25 mm)

3. APARATURĂ

Echipament normal pentru cromatografia în strat subțire.

4. PROCEDEU

4.1. Se extrage circa 1 g de probă cu apă, se filtrează și diluează la circa 25 ml.

4.2. Se pun cu pipeta 2 μ l de soluție (4.1) pe placă (2.6) împreună cu 2 μ l porțiuni din fiecare din cele trei soluții de referință (2.1).

4.3. Se pune placa într-un tanc și se dezvoltă prin cromatografie ascendentă circa trei sferturi din lungimea plăcii (2.6) cu solvent 2.2.

4.4. Se scoate din tanc și se lasă să se evapore solventul. (Nota bene: aceasta poate dura până la 2 ore.)

4.5. Se pulverizează placa cu iodură de potasiu (2.3) și se lasă la uscat pentru circa 5 minute.

4.6. Se pulverizează placa cu soluție de amidon (2.4) și se lasă la uscat pentru circa 5 minute.

4.7. Se pulverizează placa cu acid clorhidric (2.5).

5. EVALUARE

Dacă cloratul este prezent, un spot albastru (posibil un spot maro) va apărea după o jumătate de oră cu o valoare Rf de aproximativ 0,7 până la 0,8.

Halogenați	Rf
Iodat	0 ÷ 0,2
Bromat	0,5 ÷ 0,6
Clorat	0,7 ÷ 0,8

Trebuie remarcat faptul că bromatii și iodații dau reacție imediată. Trebuie avut grijă a nu se confunda spoturile de la bromatii și clorați.

B. DETERMINARE**1. DEFINIȚIE**

Conținutul de clorat din probă determinat conform acestei metode este exprimat în procente de masă de clorat.

2. PRINCIPIU

Cloratul este redus de pulberea de zinc în condiții acide. Clorura formată este măsurată prin titrare potențimetrică folosind o soluție de nitrat de argint. O determinare similară înaintea reducerii permite determinarea posibilei prezențe a halogenurilor.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid acetic, 80% (m/m)

3.2. Pulbere de zinc

3.3. Soluție standard de azotat de argint (0,1M)

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Potențiomtru echipat cu electrod indicator de argint.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Într-o eprubetă pentru centrifugă se cântărește cu precizie o cantitate „m“ de aproximativ 2 g. Se adaugă circa 15 ml acid acetic (3.1) și se amestecă cu grijă. Se așteaptă 30 de minute și se centrifughează 15 minute la 2.000 rot/min. Se transferă soluția supernatantă într-un balon cotat de 50 ml. Se repetă centrifugarea de două ori prin adăugarea a 15 ml acid acetic (3.1) la reziduu. Se colectează soluția conținând clorat în același balon cotat. Se aduce la semn cu acid acetic (3.1).

5.2. Reducere clorat

Se iau 20 ml soluție 5.1. și se adaugă 0,6 g pulbere de zinc (3.2). Se aduce la fierbere într-un balon echipat cu un tub condensator. După 30 de minute de fierbere, se răcește și se filtrează. Se clătește balonul cu apă. Se filtrează și se reunește filtratul cu apele de clătire.

5.3. Determinare clorură

Se titrează 20 ml soluție 5.2. cu azotat de argint (3.3.) prin folosirea potențiometrului (4.2). Se titrează în același mod 20 ml soluție 5.1. cu azotat de argint (5.3)

Nota Bene: Dacă produsul conține derivați de brom sau iod care pot elibera bromuri sau ioduri după reducere, curba de titrare va avea mai multe puncte de inflexiune. În acest caz volumul soluției titrate (3.3) corespunzând clorurii este diferența dintre ultimul și penultimul punct de inflexiune.

6.CALCUL

Conținutul de clorat al probei (% m/m) este calculat cu formula:

$$\text{Clorat (ClO}_3\text{) \% m / m} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

unde :

V = volumul, în mililitri, de soluție de azotat de argint (3.3) folosit la titrarea soluției 5.2

V' = volum, în mililitri, de soluție de azotat de argint (3.3) folosit la titrarea a 20 ml de soluție 5.1

M = molaritatea soluției standard de azotat de argint (3.3)

m = masa probei, în grame.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de clorat de 3 până la 5% m/m, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,07% m/m.

ANEXA Nr. 30

M E T O D Ă**de identificare și determinare cantitativă pentru iodat de sodiu****SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Metoda reglementează procedeul de identificare și determinare a compoziției chimice a produselor cosmetice conținând iodat de sodiu.

A. IDENTIFICARE**1.PRINCIPIU**

Iodatul de sodiu este separat de alți halogenați prin cromatografie în strat subțire și identificat prin oxidarea iodurii cu formare de iod.

2.REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

- 2.1 Soluții de referință: soluții apoase de clorat, bromat și iodat de potasiu (0,1% m/v) proaspăt preparate
- 2.2. Solvent de dezvoltare: soluție amoniacală 28% (m/v) / acetonă / butanol (60 / 130 / 30 / v/v/v)
- 2.3. Soluție apoasă de iodură de potasiu (5% m/v)
- 2.4. Soluție de amidon (1 până la 5% m/v)
- 2.5. Acid clorhidric (1M)

3. APARATURĂ

- 3.1. Plăci pentru cromatografie în strat subțire cu celuloză (0,25 mm) gata preparate.
- 3.2. Echipament normal pentru cromatografie în strat subțire.

4. PROCEDURE

- 4.1. Se extrage circa 1 g de probă cu apă, se filtrează și se diluează la circa 10ml.
- 4.2. Se pun cu pipeta 2 μl din această soluție pe linia de bază a plăcii (3.1) împreună cu 2 μl porțiuni din fiecare dintre cele trei soluții de referință.
- 4.3. Se pune placa într-un tanc și se dezvoltă prin cromatografie ascendentă circa trei sferturi din lungimea plăcii (2.6) cu solvent (2.2).
- 4.4. Se îndepărtează placa din tanc și se lasă să se evapore solventul la temperatura ambiantă (*Nota Bene*: aceasta poate dura până la două ore)
- 4.5. Se pulverizează placa cu iodură de potasiu (2.3) și se lasă să se usuce circa 5 minute.
- 4.6. Se pulverizează placa cu soluție de amidon (2.4) și se lasă să se usuce circa 5 minute.
- 4.7. În final se pulverizează cu acid clorhidric (2.5)

5. EVALUARE

Dacă iodatul este prezent un spot albastru (culoarea poate fi maro sau poate deveni maro dacă stă) va apărea imediat cu o valoare Rf de aproximativ 0 până la 0,2.

Trebuie remarcat că bromatii dau reacții imediate la valori Rf de aproximativ 0,5 până la 0,6, iar cloratii, după circa 30 minute, la valori Rf de 0,7, respectiv 0,8.

B. DETERMINARE

1. DEFINIȚIE

Conținutul de iodat de sodiu determinat conform acestei metode este exprimat ca procent de masă de iodat de sodiu.

2. PRINCIPIU

Iodatul de sodiu se dizolvă în apă și este determinat prin intermediul cromatografiei de lichid de înaltă performanță, folosind o coloană C18 cu fază inversă și o coloană cu schimbător de anioni înseriate.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și în special adecvați cromatografiei de lichide de înaltă performanță (HPLC).

- 3.1. Acid clorhidric (4M)
- 3.2. Sulfit de sodiu apos, 5% m/v
- 3.3. Soluție stoc iodat de sodiu: se prepară o soluție stoc conținând 50 mg iodat de sodiu per 100 ml apă.
- 3.4. Ortofosfat diacid de potasiu
- 3.5. Ortofosfat acid de disodiu — 2H₂O
- 3.6. Fază mobilă HPLC: se dizolvă 3,88 g ortofosfat diacid de potasiu (3.4) și 1,19 g ortofosfat acid de disodiu — 2 H₂O (3.5) într-un litru de apă. pH-ul soluției rezultate este 6,2.
- 3.7. Hârtie indicatoare universală, pH 1-11.

4. APARATURĂ

- 4.1. Aparatură de laborator obișnuită.
- 4.2. Hârtie de filtru circulară, diametru 110 mm, Schleicher și Sch, Nr. 575, sau echivalent.
- 4.3. Cromatograf de lichid de înaltă performanță cu detector cu lungime de undă variabilă.
- 4.4. Coloane: lungime 120 mm; diametru interior: 4,6 mm; număr: două conectate în serie; prima coloană — Nucleosil^R 5 C18 sau echivalent; a doua coloană — VydacTM -301-SB sau echivalent

5. PROCEDURE

- 5.1. Preparare probă
- 5.1.1. Probe fluide (șampoane)

Se cântărește cu precizie o probă pentru testare de aproximativ 1,0 g probă într-un cilindru gradat cu dop de sticlă sau un balon cotat.

Se aduce la semn cu apă și se amestecă. Dacă este necesar, se filtrează soluția.

Se determină iodatul din soluție prin intermediul HPLC conform descrierii din secțiunea 5.2.

5.1.2. Probe solide (săpunuri)

Se ia o cotă parte din probă și se cântărește cu precizie o probă pentru testare de circa 1,0 g într-un cilindru gradat cu dop de sticlă. Se umple până la 50 ml cu apă și se agită puternic timp de un minut. Se centrifughează și se filtrează prin hârtie de filtru (4.1) sau se lasă amestecul să stea pentru cel puțin o noapte.

5.2. Cromatografiere

Debit: 1 ml/min.

Lungime de undă a detectorului (4.2): 210 nm

Volum de injectare: 10 μl.

Măsurare : suprafața picului

5.3. Etalonare

În baloane cotate de 50 ml se pun cu pipeta 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 și 20,0 ml soluție stoc de iodat de sodiu (3,3). Se aduce la semn cu apă și se amestecă.

Soluțiile astfel obținute conțin 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 și respectiv 0,20 mg iodat de sodiu per mililitru.

Se injectează o porțiune de 10 μl din fiecare soluție standard de iodat în cromatograful de lichide (4.2) și se obține o cromatogramă. Se determină suprafața picului pentru iodat și se trasează o curbă prin relaționarea suprafeței picului cu concentrația de iodat de sodiu.

6. CALCUL

Se calculează conținutul de iodat de sodiu, în procente de masă (% m/m), folosind formula:

$$\% (m / m) \text{ iodat de sodiu} = \frac{Vc}{10 m}$$

unde:

m este masa, în grame, a probei de testare (5.1)

V este volumul total al soluției probă, în mililitri, obținută conform descrierii de la 5.1

c este concentrația, în miligrame per milimetru iodat de sodiu, obținută din curba de etalonare (5.3).

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de iodat de sodiu de 0,1% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,002%.

8. CONFIRMARE

8.1. Principiu

Într-o soluție acidifiată a unui produs cosmetic, iodatul (IO_3^-) este redus la iod (I^-) cu sulfid și soluția rezultată se investighează prin intermediul HPLC. Dacă un pic având un timp de retenție corespunzător timpului de retenție al iodatului dispare după tratament cu sulfid, picul original poate fi cel mai probabil atribuit iodatului.

8.2. Procedeu

Într-un balon cotat se pune cu pipeta o porțiune de 5 ml din soluția probă obținută conform descrierii de la punctul 5.1. Se ajustează pH-ul soluției la valoarea de 3 ori mai mică cu acid clorhidric (3.1); hârtie indicatoare universală (3.7).

Se adaugă 3 picături de soluție de sulfid de sodiu (3.2) și se amestecă.

Se injectează o porțiune de 10 μl de soluție în cromatograful de lichid (4.2)

Se compară această cromatogramă cu cromatograma obținută conform descrierii de la punctul 5 pentru aceeași probă.

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru azotatul de argint în produsele cosmetice

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE.

Această metodă reglementează identificarea azotatului de argint, ca argint, în produsele cosmetice apoase.

2. PRINCIPIU

Argintul este identificat prin precipitatul alb caracteristic format cu ionii de clorură.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Soluție acid clorhidric, 2M

3.2. Soluție amoniacală: se diluează soluția concentrată de hidroxid de amoniu ($d_{20} = 0,88$ g/ml) cu o cantitate egală de apă și se amestecă.

3.3. Soluție acid azotic, 2M

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Centrifugă

5. PROCEDEU

5.1. Într-o eprubetă pentru centrifugă se adaugă, la aproximativ 1 g de probă, soluție de acid clorhidric 2M (3.1), cu picătura, până la precipitarea completă; se amestecă și se centrifughează.

5.2. Se elimină lichidul supernatant și se spală precipitatul o singură dată cu cinci picături de apă rece. Se aruncă apele de spălare.

5.3. Se adaugă în eprubeta pentru centrifugă o cantitate de apă egală cu cantitatea de precipitat. Se încălzește până la fierbere și se agită.

5.4. Se centrifughează fiabinte; se elimină lichidul supernatant.

5.5. Precipitatului i se adaugă câteva picături de soluție amoniacală (3.2); se amestecă și centrifughează.

5.6. Pe o lamelă de sticlă la o picătură de lichid supernatant se adaugă câteva picături de soluție acid azotic 2M (3.3).

5.7. Un precipitat alb indică prezența argintului.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea azotatului de argint ca argint în produsele cosmetice folosite pentru vopsirea genelor și sprâncenelor.

2. PRINCIPIU

Argintul este determinat în produs prin spectrometrie de absorbție atomică.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să aibă puritate analitică.

3.1. Soluție acid azotic, 0,02 M.

3.2. Soluții standard de argint

3.2.1. Soluție standard de argint stoc, 1000 (g/ ml în soluție acid azotic 0,5 M („SpectrosoL“ sau echivalent)

3.2.2. Soluție standard de argint, 100 (g/ml; se pipetează cu 10 ml soluție standard de argint stoc (3.2.1) într-un balon cotat de 100 ml. Se aduce la semn cu soluție acid azotic 0,02M (3.1) și se omogenizează. Această soluție standard trebuie proaspăt preparată și depozitată într-un flacon de sticlă de culoare închisă.

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator.

4.2. Spectrofotometru de absorbție atomică echipat cu lampă cu catod tubular de argint.

5. PROCEDEU**5.1. Preparare probă**

Se cântărește cu precizie 0,1 g („m“ grame) de probă omogenă de produs. Se transferă cantitativ într-un balon cotat de 1 litru și se aduce la semn cu soluție acid azotic 0,02M (3.1) și se omogenizează.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: aer — acetilenă.

Lungime de undă: 338,3 nm.

Corecție fond: da

Stare combustibil: sărac; pentru absorbanta maximă, va fi necesară optimizarea înălțimii arzătorului și a stărilor combustibilului.

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se pun cu pipeta 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și 5,0 ml de soluție standard de argint (3.2.2). Se aduce la semn cu soluție acid azotic 0,02M (3.1) și se omogenizează. Aceste soluții conțin 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și respectiv 5,0 μg argint per mililitru.

5.3.2. Se măsoară absorbanta soluției de acid azotic 0,02M și se folosește valoarea obținută drept concentrație de argint zero pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta fiecărui standard de etalonare argint (5.3.1). Se trasează o curbă de etalonare prin punerea în relație a valorilor absorbantei cu concentrația de argint.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1). De pe curba de etalonare se citește concentrația de argint corespunzătoare valorii absorbantei obținute pentru soluția probă (calibrare).

6. CALCUL

Se calculează conținutul de azotat de argint al probei, în procente de masă (% m/m), folosind următoarea formulă:

$$\% (m / m) \text{ azotat de argint} = \frac{1,5748 \times c}{10 \times m}$$

m = masa în grame a probei în analiză (5.1)

c = concentrația de argint în soluția probă (5.1), în micrograme per mililitru, obținută de pe curba de etalonare.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de azotat de argint de 4% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel din aceeași probă nu trebuie să depășească 0,05% (m/m).

ANEXA Nr. 32

M E T O D Ă

**de identificare și determinare cantitativă pentru bisulfura de seleniu
din produsele pentru îngrijirea părului**

A. IDENTIFICARE**1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Aceasta este metoda reglementată pentru identificarea bisulfurii de seleniu ca seleniu în șampoanele antimătreață.

2. PRINCIPIU

Seleniul este identificat prin culoarea caracteristică galben spre oranj produsă la reacția cu uree și iodură de potasiu.

3. REACTIVI

Toți reactanții trebuie să aibă puritate analitică.

3.1. Acid azotic, concentrat ($d_{20} = 1,42$ g/ml).

3.2. Uree

3.3. Soluție iodură de potasiu, 10% (m/v): se dizolvă 10 g iodură de potasiu în 100 ml apă.

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator.

4.2. Tub de mineralizare, capacitate 100 ml.

4.3. Autoclavă cu bloc-încălzit.

4.4. Hârtie de filtru (Whatman No 42 sau echivalent) sau filtru cu membrană 0,45 μm .

5. PROCEDEU

5.1. Într-un tub de mineralizare (4.2), peste circa 1 g de șampon se adaugă 2,5 ml de acid azotic concentrat (3.1) și se lasă la 150°C timp de 30 minute într-o autoclavă cu bloc-încălzit (4.3).

5.2. Se diluează proba astfel pregătită, cu apă până la 25ml, și se filtrează prin hârtie de filtru sau filtru cu membrană 0,45 (m (4.4).

5.3. La 2,5 ml de filtrat se adaugă 5 ml apă, 2,5 g uree (3.2) și se fierbe. Se răcește și se adaugă 1 ml de soluție iodură de potasiu (3.3).

5.4. O culoare galben spre oranj care se închide rapid în timp indică prezența seleniului.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Aceasta este metoda reglementată pentru determinarea disulfurii de seleniu ca seleniu în șampoanele antimătreață conținând până la 4,5% (m/m) disulfură de seleniu.

2. PRINCIPIU

Proba este tratată cu acid azotic și seleniul din extrasul rezultat se determină cu ajutorul spectrometriei de absorbție atomică.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să aibă puritate analitică.

3.1. Acid azotic, concentrat ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$).

3.2. Soluție acid azotic, 5% (v/v): într-un pahar se adaugă 50 ml acid azotic concentrat (3.1) la 500 ml apă, amestecând continuu. Se transferă această soluție într-un balon cotat de 1 litru și se aduce la semn cu apă.

3.3. Soluție standard de seleniu stoc, 1.000 $\mu\text{g/ml}$ în soluție de acid azotic 0,5 M („Spectrosol“ sau echivalent).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Tub de mineralizare cu capacitate de 100ml.

4.3. Autoclavă cu bloc-încălzit.

4.4. Hârtie de filtru (Whatman No. 42 sau echivalent) sau filtru cu membrană 0,45 μm .

4.5. Spectrofotometru de absorbție atomică echipat cu lampă cu catod tubular de seleniu.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

5.1.1. Se cântăresc cu precizie circa 0,2 g („m“ grame) de probă omogenă de șampon într-un tub de mineralizare (4.2).

5.1.2. Se adaugă 5 ml de acid azotic concentrat (3.1) și se lasă la 150°C timp de o oră într-o autoclavă cu bloc-încălzit (4.3).

5.1.3. Se lasă soluția să se răcească și se diluează până la 100 ml cu apă. Se filtrează prin hârtie de filtru sau prin filtru cu membrană 0,45 μm (4.4) și se reține soluția filtrată pentru determinare.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: aer — acetilenă.

Lungime de undă: 196,0 nm.

Corecție fond: da

Stare combustibil: sărac; pentru absorbantă maximă, va fi necesară optimizarea înălțimii arzătorului și a stărilor combustibilului.

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se pun cu pipeta 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și 5,0 ml de soluție standard de seleniu stoc (3.3). Se aduce la semn cu soluție acid azotic 5% (v/v) (3.3) și se amestecă. Aceste soluții conțin 10, 20, 30, 40 și respectiv 50 μg seleniu per mililitru.

5.3.2. Se măsoară absorbanta unei soluții de acid azotic 5% (v/v) (3.2) și se folosește valoarea obținută drept concentrație de seleniu zero, pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta pentru fiecare standard de etalonare seleniu (5.3.1). Se trasează curba de etalonare prin punerea în relație a valorilor absorbantei cu concentrația seleniului.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1.3). De pe curba de etalonare se citește concentrația de seleniu corespunzătoare valorii absorbantei obținute pentru soluția probă.

6.CALCUL

Se calculează conținutul de disulfură de seleniu din probă, în procente de masă (% m/m), folosind formula:

$$\% \text{ (m/m) bisulfura de seleniu} = \frac{1,812 \times c}{100 \times m}$$

m = masa în grame a probei în analiză (5.1.1)

c = concentrația seleniului în soluția probă (5.1.3), în micrograme per mililitru, obținută de pe curba de etalonare.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de disulfură de seleniu de 1% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,05% (m/m).

ANEXA Nr. 33

M E T O D Ă

**de identificare și determinare cantitativă pentru bariul solubil și pentru stronțitul solubil
(din pigmenți sub formă de săruri sau lacuri)**

A. DETERMINAREA BARIULUI SOLUBIL**1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE**

Această metodă reglementează procedeul pentru extragerea și determinarea bariului solubil din pigmenți în formă de săruri sau lacuri.

2. PRINCIPIU

Pigmentul este extras cu soluție de acid clorhidric 0,07 M în condiții definite și cantitatea de bariu din extractant se determină prin spectrometrie de absorbție atomică.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Etanol, absolut

3.2. Soluție acid clorhidric, 0,07M.

3.3. Soluție acid clorhidric, 0,5M.

3.4. Soluție clorură de potasiu, 8% (m/m): se dizolvă 16 g clorură de potasiu în 200 ml soluție acid clorhidric 0,07M (3.2).

3.5. Soluții standard de bariu

3.5.1. Soluție standard de bariu stoc, 1.000 μg/ml în soluție acid azotic 0,5M („SpectrosoL“ sau echivalent)

3.5.2. Soluție standard de bariu, 200 μg/ml: se pun cu pipeta 20 ml soluție standard de bariu stoc (3.5.1) într-un balon cotate de 100 ml. Se aduce la semn cu soluție acid clorhidric 0,07M (3.2) și se amestecă.

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. pH-metru cu precizie de ± 0,02 unități

4.3. Vibrator de flacon acționat din încheietura mâinii

4.4. Filtru cu membrană cu dimensiunea porilor de 0,45 μm

4.5. Spectrofotometru de absorbție atomică cu lampă cu catod tubular de bariu.

5. PROCEDEU**5.1. Preparare probă**

5.1.1. Într-un flacon conic se cântăresc cu precizie circa 0,5 g pigment („m“ grame). Nu se va folosi un flacon cu o capacitate mai mică de 150 ml pentru a se asigura un volum suficient pentru agitarea eficientă a acestuia.

5.1.2. Se pun cu pipeta 1,0 ml etanol (3.1) și se rotește flaconul pentru a asigura umezirea completă a pigmentului. Se adaugă dintr-o biuretă cantitatea exactă de soluție acid clorhidric 0,07M (3.2) necesară pentru a rezulta un raport volum de acid la cantitate de pigment de exact 50 mililitri per gram. Fie V ml volumul total de extractant inclusiv etanolul. Se agită vasul timp de cinci secunde pentru a asigura o omogenizare completă a conținutului.

5.1.3. Folosind un pH-metru (4.2) se măsoară pH-ul suspensiei rezultate și, dacă este peste 1,5, se adaugă cu picătura soluție acid clorhidric 0,5M (3.3) până la o valoare cuprinsă între 1,4-1,5.

5.1.4. Se astupă flaconul și se agită imediat timp de 60 minute folosind vibratorul (4.3). Vibratorul trebuie să fie operat la o viteză suficient de mare pentru a produce o spumă. Se

filtrează prin filtru cu membrană de 0,45 μm (4.4) și se colectează filtratul. Nu se centrifughează extractul înainte de filtrare. Se pun cu pipeta 5,0 ml de filtrat într-un balon cotat de 50 ml; se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se omogenizează. Această soluție se folosește de asemenea pentru determinarea stronțului (capitolul B).

5.1.5. Într-un balon cotat de 100 ml se pun cu pipeta 5 ml soluție clorură de potasiu (3.4) și o porțiune (W_{Ba} ml) de filtrat diluat (5.1.4) pentru a rezulta o concentrație necesară între 3 și 10 μg bariu per mililitru (o porțiune de 10 ml ar fi un punct de început satisfăcător). Se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se omogenizează.

5.1.6. Se determină concentrația în bariu a soluției (5.1.5) prin spectrometrie de absorbție atomică, în aceeași zi.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: oxid azotos/acetilenă.

Lungime de undă: 553,5 nm.

Corecție de fond: nu.

Stare combustibil: sărac; pentru absorbanta maximă va fi necesară optimizarea înălțimii arzătorului și a stărilor combustibilului.

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se pun cu pipeta 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și 5,0 ml soluție standard de bariu (3.5.2). În fiecare balon se pun cu pipeta 5 ml soluție clorură de potasiu (3.4); se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se omogenizează. Aceste soluții conțin 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 și respectiv 10,0 μg bariu per mililitru.

Similar se prepară o soluție martor omițând soluția standard de bariu.

5.3.2. Se măsoară absorbanta soluției martor (5.3.1) și se folosește valoarea obținută drept concentrație de bariu zero pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta fiecărui standard de etalonare bariu (5.3.1). Se trasează curba de etalonare prin punerea în relație a valorilor absorbantei cu concentrația de bariu.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1.5). De pe curba de etalonare se citește concentrația bariului corespunzând valorii absorbantei obținute pentru soluția probă.

6. CALCUL

Conținutul de bariu solubil (% m/m) al pigmentului este dat de formula:

$$\% (m/m) \text{ bariu solubil} = \frac{c \times V}{10 W_{\text{Ba}} \times m}$$

m = masa în grame a probei luate în analiză (5.1.1)

c = concentrația de bariu în soluția probă (5.1.5), în micrograme per mililitru, obținută de pe curba de etalonare.

V = volumul total de extractant în mililitri (5.1.2)

W_{Ba} = volumul de extract, în mililitri, considerat la 5.1.5.

7. REPETABILITATE

Pentru un conținut de bariu solubil de 2% (m/m), cea mai bine estimată repetabilitate (SR ISO 5725) pentru această metodă este de 0,3%.

8. OBSERVAȚII

8.1.1 În anumite condiții absorbanta bariului poate fi crescută de prezența calciului. Aceasta poate fi contracarată prin adăugarea ionului de magneziu la o concentrație de 5 g per litru

8.1.2. Folosirea spectrometriei de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv este permisă ca o alternativă la spectrometria de absorbție atomică în flacără.

B. DETERMINAREA STRONȚIULUI SOLUBIL

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează procedeul pentru extragerea și determinarea stronțului solubil din pigmenți în formă de săruri sau lacuri.

2. PRINCIPIU

Pigmentul este extras cu soluție de acid clorhidric 0,07M în condiții definite și cantitatea de stronțiu în extractant este determinată prin spectrometrie de absorbție atomică.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să aibă puritate analitică.

3.1. Etanol, absolut

3.2. Soluție de acid clorhidric 0,07M

3.3. Soluție de clorură de potasiu 8% (m/v): se dizolvă 16 g clorură de potasiu în 200 ml soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2)

3.4. Soluții standard de stronțiu

3.4.1. Soluție standard de stronțiu stoc, 1.000 µg/ml în soluție acid azotic 0,5M („Spectrosol“ sau echivalent).

3.4.2. Soluție standard de stronțiu, 100 µg/ml: se pun cu pipeta 10,0 ml soluție standard de stronțiu stoc (3.4.1) într-un balon cotat de 100 ml. Se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se amestecă.

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Filtru cu membrană cu dimensiunea porilor de 0,45 µm

4.3. Spectrofotometru de absorbție atomică echipat cu lampă cu catod tubular de stronțiu.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Soluția preparată la A.5.1.4. se folosește pentru a determina conținutul de stronțiu solubil.

5.1.1. Într-un balon cotat de 100 ml se pun cu pipeta 5 ml soluție clorură de potasiu (3.3) și o porțiune de filtrat diluat (W_{sr} ml) (A.5.1.4.) pentru a rezulta o concentrație între 2 și 5 µg de stronțiu per mililitru (o porțiune de 25 ml ar fi un punct de început satisfăcător). Se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se omogenizează.

5.1.2. Se determină concentrația de stronțiu a soluției (5.1.1) prin spectrometrie de absorbție atomică, în aceeași zi.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: oxid azotos/acetilenă.

Lungime de undă: 460,7 nm.

Corecție de fond: nu

Stare combustibil: sărac; pentru o absorbantă maximă va fi necesară optimizarea înălțimii arzătorului și a stărilor combustibilului.

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se pun cu pipeta 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și 5,0 ml soluție standard de stronțiu (3.4.2). În fiecare balon se pun cu pipeta 5 ml soluție clorură de potasiu (3.3); se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 0,07M (3.2) și se omogenizează. Aceste soluții conțin 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 și respectiv 5,0 µg stronțiu per mililitru. Similar se prepară o soluție martor omițând soluția standard de stronțiu.

5.3.2. Se măsoară absorbanta soluției martor (5.3.1) și se folosește valoarea obținută drept concentrație de stronțiu zero pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta fiecărui standard de etalonare stronțiu (5.3.1). Se trasează curba de etalonare punând în relație valorile picului cu concentrația de stronțiu.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1.1). De pe curba de etalonare se citește concentrația de stronțiu corespunzătoare valorii absorbantei obținute pentru soluția probă.

6. CALCUL

Conținutul de stronțiu solubil % (m/m) al pigmentului este dat de formula:

$$\% \text{ stronțiu solubil} = \frac{c \times V}{10 W_{sr} \times m}$$

m = masa în grame a probei pentru testare (A.5.1.1)

c = concentrația de stronțiu în soluția probă (5.1.1), în micrograme per mililitru, obținută din curba de etalonare

V = volumul de extractant în mililitri (A.5.1.2).

W_{sr} = volum de extract, în mililitri, considerat la 5.1.1.

7. REPETABILITATE

Pentru un conținut de stronțiu solubil de 0,6% (m/m), cea mai bine estimată repetabilitate (SR ISO 5725) pentru această metodă este de 0,09%.

8. OBSERVAȚIE

Folosirea spectrometriei de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv este permisă ca o alternativă la spectrometria de absorbție atomică în flacără.

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru alcoolul benzilic în produsele cosmetice

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează identificarea alcoolului benzilic în produsele cosmetice.

2. PRINCIPIU

Alcoolul benzilic este identificat prin intermediul cromatografiei în strat subțire pe plăci cu silicagel.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Alcool benzilic

3.2. Cloroform

3.3. Etanol absolut

3.4. n-Pentan

3.5. Solvent de dezvoltare: dietileter

3.6. Soluție standard de alcool benzilic: se cântăresc 0,1 g alcool benzilic (3.1) într-un balon cotat de 100 ml, se aduce la semn cu etanol (3.3) și se omogenizează.

3.7. Plăci pentru cromatografie în strat subțire, din sticlă, 100 x 200 mm sau 200 x 100mm, acoperite cu un strat de silicagel 60 F₂₅₄ de 0,25 mm

3.8. Agent de vizualizare: acid 12-molibdofosforic, 10% (m/v) în etanol (3.3).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Tanc de cromatografiere, cameră cu dublu compartiment, dimensiuni de gabarit de cca. 80 mm x 230 x 240 mm.

4.3. Hârtie pentru cromatografiere: Whatman sau echivalent.

4.4. Lampă de ultraviolet, lungime de undă 254 nm.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Se cântărește 1 g de produs de analizat într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă 3 ml cloroform (3.2) și se agită puternic până când produsul s-a dispersat. Se aduce la semn cu etanol (3.3) și se agită puternic pentru a produce o soluție clară sau aproape clară.

5.2. Cromatografie în strat subțire

5.2.1. Se saturează tancul de cromatografiere (4.2) cu n-pentan (3.4) astfel: se căptușește cu hârtie pentru cromatografie (4.3) peretele camerei adiacent compartimentului din spate, asigurându-se ca marginea inferioară a hârtiei să fie în compartiment. Se transferă 25 ml n-pentan (3.4) în compartimentul din spate prin turnarea acestui solvent peste suprafața expusă a hârtiei pentru cromatografie care căptușește tancul. Se repune imediat capacul și se lasă vasul să stea timp de 15 minute.

5.2.2. Se pun 10 μ l de soluție probă (5.1) și 10 μ l soluție standard de alcool benzilic (3.6) în puncte adecvate pe linia de start a plăcii pentru cromatografie în strat subțire (3.7). Se lasă să se usuce.

5.2.3. Se pun cu pipeta 10 ml dietileter (3.5) în compartimentul din față al tancului și imediat după aceea se pune placa (5.2.2) în același compartiment. Se repune repede capacul tancului și se dezvoltă placa pe o distanță de 150 mm. Se scoate placa din tancul de cromatografiere și se lasă să se usuce la temperatura camerei.

5.2.4. Se observă placa (5.2.3) în lumină ultravioletă și se marchează poziția spoturilor violete. Se pulverizează placa cu agent de vizualizare (3.8) și apoi se încălzește placa la 120°C timp de 15 minute. Alcoolul benzilic apare ca un spot albastru închis.

5.2.5. Se calculează valoarea R_f obținută pentru soluția standard de alcool benzilic. Un spot albastru cu aceeași valoare R_f obținut din soluția probă indică prezența alcoolului benzilic.

Limită de detecție: 0,1 μ g alcool benzilic.

B. DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE.

Această metodă reglementează determinarea cantitativă a alcoolului benzilic în produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Cantitatea de alcool benzilic determinată prin această metodă este exprimată în procente de masă (% m/m).

3. PRINCIPIU

Proba este extrasă cu metanol și cantitatea de alcool benzilic din extract este determinată prin cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC).

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și să fie adecvați pentru HPLC.

4.1. Metanol

4.2.4. Etoxifenol

4.3. Alcool benzilic

4.4. Fază mobilă: metanol (4.1)/ apă (45 : 55; v/v).

4.5. Soluție stoc alcool benzilic: se cântărește cu precizie circa 0,1 g alcool benzilic (4.3) într-un balon cotat de 100 ml. Se aduce la semn cu metanol (4.1) și se omogenizează.

4.6. Soluție stoc standard intern: se cântăresc cu precizie circa 0,1 g de 4-etoxifenol (4.2) într-un balon cotat de 100 ml. Se aduce la semn cu metanol (4.1) și se omogenizează.

4.7. Soluții standard: într-o serie de baloane cotate de 25 ml se pun cu pipeta cantități de soluție stoc alcool benzilic (4.5) și soluție stoc standard intern (4.6) conform tabelului de mai jos. Se aduce la semn cu metanol (4.1) și se omogenizează.

Soluție	Concentrație alcool benzilic		Concentrație 4-etoxifenol	
	ml (4.5) adăugați	μg/ml (*)	ml (4.6) adăugați	μg/ml (*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Aceste valori sunt date ca indicație și corespund concentrațiilor de soluții standard preparate folosind soluții de alcool benzilic (4.5) și de 4-etoxifenol (4.6) care conțin exact 0,1% alcool benzilic (m/v) și respectiv exact 0,1% 4-etoxifenol (m/v)

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator

5.2. Echipament pentru cromatografie de înaltă performanță cu detector UV cu lungime de undă variabilă și buclă de injecție 10 μl.

5.3. Coloană analitică: coloană de oțel inoxidabil 250 mm x 4,6 mm umplută cu Spherisorb ODS 5 μm, sau echivalent.

5.4. Baie de apă

5.5. Baie ultrasonică

5.6. Centrifugă

5.7. Eprubete pentru centrifugă, capacitate 15 ml

6. PROCEDEU

6.1. Preparare probă

6.1.1. Se cântărește cu precizie circa 0,1 g („m“ grame) de probă într-o eprubetă pentru centrifugă (5.7) și se adaugă 5 ml de metanol (84.1).

6.1.2. Se încălzește timp de 10 minute într-o baie de apă (5.4) menținută la 50°C, apoi se pune eprubeta într-o baie ultrasonică până când proba este complet dispersată.

6.1.3. Se răcește, apoi se centrifughează la 3.500 rot/min, timp de cinci minute.

6.1.4. Se transferă lichidul supernatant într-un balon cotat de 25 ml.

6.1.5. Se reextrage proba cu încă 5 ml metanol (4.1). Se combină extractele într-un balon cotat de 25ml.

6.1.6. Se pun cu pipeta 2,0 ml soluție stoc standard intern (4.6) într-un balon cotat de 25 ml. Se aduce la semn cu metanol (4.1) și se amestecă. Această soluție este folosită la etapa de determinare a analizei descrise la 6.4.

6.2. Cromatografiere

6.2.1. Se montează echipamentul pentru cromatografie de lichid de înaltă performanță (5.2) în modul uzual. Se reglează debitul fazei mobile (4.4) la 2,0 ml per minut.

6.2.2. Se setează lungimea de undă a detectorului UV la 210 nm.

6.3. Etalonare

6.3.1. Se injectează 10 µl din fiecare soluție standard de alcool benzilic (4.7) și se măsoară suprafețele picurilor pentru alcool benzilic și respectiv 4-etoxifenol.

6.3.2. Pentru fiecare soluție standard alcool benzilic (4.7) se calculează raportul suprafețelor picurilor alcoolului benzilic față de 4-etoxifenol. Se trasează curba de etalonare folosind aceste rapoarte pe ordonată și concentrațiile corespondente de alcool benzilic în µg per mililitru pe abscisă.

6.4. Determinare

6.4.1. Se injectează 10 µl soluție probă (6.1.6) și se măsoară suprafețele picurilor alcoolului benzilic și respectiv 4-etoxifenolului. Se calculează raportul suprafețelor picurilor alcoolului benzilic față de 4-etoxifenol. Se repetă acest proces cu porțiuni ulterioare de 10 µl soluție probă până se obțin valori suficiente.

6.4.2. De pe curba de etalonare (6.3.2) se citește concentrația de alcool benzilic corespunzătoare raportului suprafețelor picurilor alcoolului benzilic față de 4-etoxifenol.

7. CALCUL

Se calculează conținutul de alcool benzilic în probă, ca procent de masă, folosind formula:

$$\% (m / m) \text{ alcool benzilic} = \frac{c}{400 \times m}$$

m = masa în grame a probei luată în analiză (6.1.1)

c = concentrația de alcool benzilic în soluția probă (6.1.6), în micrograme per mililitru, obținută de pe curba de etalonare.

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de alcool benzilic de 1% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,1%.

ANEXA Nr. 35

M E T O D Ă

de identificare pentru zirconiu și metodă de determinare cantitativă pentru zirconiu, aluminiu și clor din antiperspirante nonaerosolice

Metoda cuprinde cinci capitole:

- A. Identificarea zirconului
- B. Determinarea zirconului
- C. Determinarea aluminiului
- D. Determinarea clorului
- E. Calcularea raportului dintre atomii de aluminiu și atomii de zirconiu și a raportului dintre atomii de aluminiu plus zirconiu și atomii de clor.

A. IDENTIFICAREA ZIRCONIULUI

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICAȚIE

Metoda reglementează identificarea zirconului în produsele cosmetice tip antiperspirant non-aerosol. Nu există metode stabilite pentru identificarea complexului hidroxiclorig de aluminiu și zirconiu $[Al_xZr(OH)_y Cl_z \cdot nH_2O]$.

2. PRINCIPIU

Zirconiu este identificat prin precipitatul caracteristic roșu-violet pe care îl formează cu alizarin roșu S în condiții puternic acide.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid clorhidric, concentrat ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)

3.2. Alizarin roșu S soluție (Cl. 58005): soluție apoasă 2% (m/v) de alizarin sulfonat de sodiu

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

5. PROCEDEU

5.1. Într-o eprubetă se adaugă 2 ml apă la circa 1 g de probă. Se astupă și se agită.

5.2. Se adaugă trei picături de soluție alizarin roșu S (3.2) urmată de 2 ml acid clorhidric concentrat (3.1). Se astupă și se agită.

5.3. Se lasă să stea circa 2 minute.

5.4. O soluție supranatantă colorată roșu-violet și precipitat indică prezența zirconului.

B. DETERMINAREA ZIRCONIULUI

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează determinarea zirconului în complexii hidroxiclururii de aluminiu și zirconiu până la o concentrație de 7,5% (m/m) zirconiu în antiperspiranții non-aerosolici.

2. PRINCIPIU

Zirconul este extras din produs în condiții acide și determinat prin spectrometrie de absorbție atomică în flacără.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid clorhidric, concentrat ($d_{20} = 1,18$ g/ml)

3.2. Soluție de acid clorhidric, 10% (v/v): într-un pahar se adaugă 100 ml acid clorhidric concentrat (3.1) la 500 ml de apă, amestecând continuu. Se aduce această soluție într-un balon cotelat de un litru și se adaugă apă până la semn.

3.3. Soluție standard de zirconiu stoc, 1.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ în soluție de acid clorhidric 0,5 M („Spectrosol“ sau echivalent).

3.4. Reactiv clorură de aluminiu (hidratată) $[\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$: se dizolvă 22,6 g clorură de aluminiu hexahidratată în 250 ml soluție de acid clorhidric 10% (v/v) (3.2).

3.5. Reactiv clorură de amoniu: se dizolvă 5,0 g clorură de amoniu în 250 ml soluție de acid clorhidric 10% (v/v) (3.2).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Agitator magnetic prevăzut cu încălzire sau plită electrică prevăzută cu agitator magnetic

4.3. Hârtie de filtru (Whatman nr. 41 sau echivalent)

4.4. Spectrofotometru de absorbție atomică echipat cu lampă cu catod tubular de zirconiu.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

5.1.1. Se cântărește cu precizie circa 1,0 g („m“ grame) de probă omogenă de produs într-un pahar de 150 ml. Se adaugă 40 ml apă și 10 ml acid clorhidric concentrat (3.1).

5.1.2. Se pune paharul pe agitatorul magnetic prevăzut cu încălzire (4.2). Se pornește agitarea și se încălzește până la fierbere. Pentru a preveni evaporarea rapidă se pune peste pahar o sticlă de ceas. Se fierbe cinci minute, se ia paharul de pe plita de încălzire și se răcește la temperatura camerei.

5.1.3. Se filtrează conținutul paharului folosind hârtie de filtru (4.3), într-un balon cotelat de 100 ml. Se clătește paharul cu două porții a câte 10 ml apă și se adaugă apele de clătire după filtrare în balon. Se adaugă apă până la semn și se omogenizează. Această soluție se folosește de asemenea pentru determinarea aluminiului (Partea C).

5.1.4. Într-un balon cotelat de 50 ml se pun cu pipeta 20,00 ml din soluția probă (5.3.1), 5,00 ml de reactiv clorură de aluminiu (3.4), și 5,00 ml de reactiv clorură de amoniu (3.5). Se aduce la semn prin adăugarea unei soluții de acid clorhidric 10% (v/v) (3.2) și se omogenizează.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: oxid azotos/acetilenă

Lungime de undă: 360,1 nm

Corecție fond: nu

Stare combustibil: bogat; pentru o absorbantă maximă, este necesară optimizarea înălțimii arzătorului și stărilor combustibilului

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 50 ml se pun cu pipeta 5,00, 10,00, 15,00, 20,00, 25,00 ml de soluție standard de zirconiu stoc (3.3). În fiecare balon se pun cu pipeta 5,00 ml reactiv clorură de aluminiu (3.4) și 5,00 ml reactiv clorură de amoniu (3.5). Se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric 10% (v/v) (3.2) și se amestecă. Aceste soluții conțin 100, 200, 300, 400 și respectiv 500 μg de zirconiu per mililitru.

În mod similar, se prepară o soluție martor omițând soluția standard de zirconiu.

5.3.2. Se măsoară absorbanta soluției oarbe (5.3.1) și se folosește valoarea obținută drept concentrație de zirconiu zero pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta fiecărui standard

de etalonare de zirconiu (5.3.1). Se trasează curba de etalonare prin punerea în relație a valorilor absorbantei cu concentrația de zirconiu.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1.4). De pe curba de etalonare se citește concentrația de zirconiu corespunzătoare valorii absorbantei obținute pentru soluția probă.

6. CALCUL

Folosind formula următoare, se calculează conținutul de zirconiu din probă, în procente de masă:

$$\% (m/m) \text{ zirconiu} = \frac{c}{40 \times m}$$

în care:

m = masa în grame a probei pentru testare (5.1.1)

c = concentrația de zirconiu în soluția probă (5.1.4), în micrograme per mililitru, obținută din curba de etalonare.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de zirconiu de 3,00% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,10% (m/m).

8. OBSERVAȚIE

Folosirea spectrometriei de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv este permisă ca o alternativă la spectrometria de absorbție atomică în flacără.

C. DETERMINAREA ALUMINIULUI

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează determinarea aluminiului prezent în complexii hidroxilor de aluminiu și zirconiu până la o concentrație a aluminiului în antiperspiranții nonaerosolici de 12% (m/m).

2. PRINCIPIU

Aluminiul este extras din produs în condiții acide și determinat prin spectrometrie de absorbție atomică în flacără.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid clorhidric, concentrat ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)

3.2. Soluție de acid clorhidric, 1% (v/v): într-un pahar se adaugă 10 ml acid clorhidric concentrat (3.1) la 500 ml de apă, amestecând continuu. Se transferă această soluție într-un balon cotat de un litru și se adaugă apă până la semn.

3.3. Soluție standard de aluminiu stoc, 1000 $\mu\text{g/ml}$ în soluție acid azotic 0,5 M („SpectrosoL“ sau echivalent).

3.4. Reactiv clorură de potasiu: se dizolvă 10,0 g clorură de potasiu în 250 ml soluție acid clorhidric 1% (v/v) (3.2).

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Spectrofotometru de absorbție atomică echipat cu lampă cu catod tubular de aluminiu

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Soluția preparată la B.5.1.3 se folosește pentru determinarea conținutului de aluminiu.

5.1.1. Într-un balon cotat de 100 ml se pun cu pipeta 5,00 ml din soluția probă (B.5.3.1) și 10,00 ml de reactiv clorură de potasiu (3.4). Se aduce la semn prin adăugarea unei soluții 1% (v/v) acid clorhidric (3.2) și se omogenizează.

5.2. Condiții pentru spectrometria de absorbție atomică

Flacără: oxid azotos/acetilenă

Lungime de undă: 309,3 nm

Corecție de fond: nu

Starea combustibilului: bogat; pentru o absorbantă maximă, este necesară optimizarea înălțimii arzătorului și stărilor combustibilului

5.3. Etalonare

5.3.1. Într-o serie de baloane cotate de 100 ml se pun cu pipeta 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 și 5,00 ml soluție standard de aluminiu stoc (3.3). În fiecare balon se pun cu pipeta 10,00 ml reactiv clorură de potasiu (3.4). Se aduce la semn cu soluție de acid clorhidric (3.2) 1% (v/v) și se omogenizează. Aceste soluții conțin 10, 20, 30, 40 și respectiv 50 μg aluminiu per mililitru.

În mod similar, se prepară o soluție martor omițând soluția standard de aluminiu.

5.3.2. Se măsoară absorbanta soluției martor (5.3.1) și se folosește valoarea obținută drept concentrație zero de aluminiu pentru curba de etalonare. Se măsoară absorbanta fiecărui standard de etalonare aluminiu (5.3.1). Se trasează curba de etalonare prin punerea în relație a valorilor absorbantei cu concentrația de aluminiu.

5.4. Determinare

Se măsoară absorbanta soluției probă (5.1.4). De pe curba de etalonare se citește concentrația de aluminiu corespunzătoare valorii absorbantei obținute pentru soluția probă.

6. CALCUL

Folosind formula următoare, se calculează conținutul de aluminiu din probă:

$$\% (m/m) \text{ aluminiu} = \frac{c}{5 \times m}$$

în care:

m = masa în grame a probei luate în analiză (B.5.1.1)

c = concentrația de aluminiu în soluția probă (5.1.4), în micrograme per mililitru, obținută de pe curba de etalonare.

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de aluminiu de 3,50% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,10% (m/m).

8. OBSERVAȚII

Folosirea spectrometriei de emisie optică cu plasmă cuplată inductiv este permisă ca o alternativă la spectrometria de absorbție atomică în flacără.

D. DETERMINAREA CLORULUI

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează determinarea clorului prezent ca ion de clorură în complexii hidroxiclururii de aluminiu și zirconiu în antiperspirantele nonaerosolice.

2. PRINCIPIU

Ionul clorură din produs este determinat prin titrare potențiomtrică cu soluție de azotat de argint standard.

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Acid azotic, concentrat ($d_{20} = 1,42$ g/ml)

3.2. Soluție acid azotic, 5% (v/v): într-un pahar se adaugă 25 ml acid azotic concentrat (3.1) la 250 ml de apă, amestecând continuu. Se aduce această soluție într-un balon cotate de un litru și se adaugă apă până la semn.

3.3. Acetonă

3.4. Azotat de argint, soluție volumetrică 0,1 M („AnalaR“ sau echivalent)

4. APARATURĂ

4.1. Echipament uzual de laborator

4.2. Agitator magnetic cu încălzire

4.3. Electrode de argint

4.4. Electrode de referință de calomel

4.5. pH-metru/milivoltmetru adecvat titrării potențiomtrice

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

5.1.1. Într-un pahar de 250 ml se cântărește cu precizie circa 1,0 g („m“ grame) de probă omogenă de produs. Se adaugă 80 ml apă și 20 ml soluție de acid azotic 5% (v/v) (3.2).

5.1.2. Se pune paharul pe agitatorul magnetic cu încălzire (4.2). Se pornește amestecarea și se încălzește până la fierbere. Pentru a preveni uscarea rapidă se pune peste pahar o sticlă de ceas. Se fierbe cinci minute, se ia paharul de pe încălzitor și se răcește la temperatura camerei.

5.1.3. Se adaugă 10 ml acetonă (3.3), se scufundă electrozii (4.3 și 4.4) în soluție și se pornește amestecarea. Se titrează potențiomtric cu soluție de azotat de argint 0,1 M (3.4) și se trasează o curbă diferențială pentru a determina punctul final („V“ ml).

6.CALCUL

Folosind formula următoare, se calculează conținutul de clor din probă în procente de masă:

$$\% (m / m) \text{ clor} = \frac{0,3545 \times V}{m}$$

în care:

m = masa în grame a probei pentru testare (5.1.1)

V = volumul de azotat de argint 0,1 M, în mililitri, titrat la punctul final

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de clor de 4,00% (m/m), diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,10% (m/m).

E. CALCULAREA RAPORTULUI ATOMILOR DE ALUMINIU LA ATOMII DE ZIRCONIU, ȘI A ATOMILOR DE ALUMINIU PLUS ZIRCONIU LA ATOMII DE CLOR

1. CALCULAREA RAPORTULUI ATOMILOR DE ALUMINIU LA ATOMII DE ZIRCONIU

Pentru calcularea raportului Al : Zr se folosește formula:

$$\text{raport Al : Zr} = \frac{\text{Al \% (m / m)} \times 91,22}{\text{Zr \% (m / m)} \times 26,98}$$

2. CALCULAREA RAPORTULUI ATOMILOR DE ALUMINIU PLUS ZIRCONIU LA ATOMII DE CLOR

Pentru calcularea raportului (Al + Zr) : Cl se folosește formula:

$$\text{raport (Al + Zr) : Cl} = \frac{\frac{\text{Al \% (m / m)}}{26,98} + \frac{\text{Zr \% (m / m)}}{91,22}}{\text{Cl \% (m / m)}} \times 35,45$$

ANEXA Nr. 36

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru hexamidină, dibromohexamidină, dibromopropamidină și clorhexidină

1.SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Acesta este metoda reglementată pentru determinarea cantitativă și calitativă a:

- hexamidinei și sărurilor sale, inclusiv izetionatul și 4-hidroxibenzoatul,
- dibromohexamidinei și sărurilor sale, inclusiv izetionatul,
- dibromopropamidinei și sărurilor sale, inclusiv izetionatul,
- diacetatului, digluconatului și dihidroclorurii de clorhexidină în produsele cosmetice

2.DEFINIȚIE

Concentrațiile de hexamidină, dibromohexamidină, dibromopropamidină și clorhexidină determinate prin această metodă sunt exprimate în procente de masă (% m/m).

3.PRINCIPIU

Identificarea și determinarea sunt realizate prin cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC), în fază inversă, cu pereche de ioni, urmată de detecție spectrofotometrică în ultraviolet. Hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina și clorhexidina sunt identificate prin timpii lor de retenție în coloana cromatografică.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și adecvați HPLC, unde este cazul.

4.1. Metanol

4.2. Acid 1-heptansulfonic, sare de sodiu, monohidratat

4.3. Acid acetic, glacial ($d_{20} = 1,05$ g/ml)

4.4. Clorură de sodiu

4.5. Faze mobile:

4.5.1. Solvent I : acid 1-heptansulfonic soluție 0,005 M, sare de sodiu, monohidratat (4.2) în metanol (4.1), adus la un pH aparent de 3,5 cu acid acetic glacial (4.3).

4.5.2. Solvent II : acid 1-heptansulfonic soluție 0,005 M, sare de sodiu, monohidratat (4.2) în apă, adus la un pH de 3,5 cu acid acetic glacial (4.3).

Observație : Dacă este necesară îmbunătățirea formei picurilor, fazele mobile pot fi modificate și preparate după cum urmează:

— solvent I: se dizolvă 5,84 g clorură de sodiu (4.4) și 1,1013 g acid 1-heptansulfonic, sare de sodiu, monohidratat (4.2) în 100 ml apă. Se adaugă 900 ml metanol (4.1) și se aduce la un pH aparent de 3,5 cu acid acetic glacial (4.3);

— solvent II: se dizolvă 5,84 g clorură de sodiu (4.4) și 1,1013 g acid 1-heptansulfonic, sare de sodiu, monohidratat (4.2) într-un litru de apă și se aduce la un pH de 3,5 cu acid acetic glacial (4.3).

4.6. Diizetionat de hexamidină [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.7. Diizetionat de dibromohexamidină [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.8. Diizetionat de dibromopropamidină [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.9. Diacetat de clorhexidină [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]

4.10. Soluții de referință: se prepară soluții 0,05% (m/v) din fiecare dintre cei patru conservanți (4.6 până la 4.9) în solvent I (4.5.1)

4.11. 3,4,4'-Triclorocarbanilidă (triclocarban)

4.12. 4,4'-Dicloro-3-(trifluorometil)carbanilidă (halocarban)

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator

5.2. Cromatograf de lichid de înaltă performanță cu detector UV cu lungime de undă variabilă

5.3. Coloană analitică: oțel inoxidabil, lungime 30 cm, diametru interior 4 mm, umplută cu μ -Bondapack C_{18} , 10 μ m sau echivalent

5.4. Baie ultrasonică

6. IDENTIFICARE

6.1. Preparare probă

Se cântăresc circa 0,5 g probă într-un balon cotate de 10 ml și se aduce la semn cu solvent I (4.5.1). Se pune balonul pe o baie ultrasonică (5.4) timp de 10 minute. Se filtrează sau se centrifughează soluția. Se colectează filtratul sau supernatantul pentru cromatografie.

6.2. Cromatografiere

6.2.1. Gradient fază-mobilă

Timp (min)	solvent I (% v/v) (4.5.1)	solvent II (% v/v) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Se reglează debitul fazei mobile (6.2.1) la 1,5 ml/min și temperatura coloanei la 35°.

6.2.3. Se fixează lungimea de undă a detectorului la 264 nm.

6.2.4. Se injectează 10 μ l din fiecare dintre soluțiile de referință (4.10) și se înregistrează cromatogramele lor.

6.2.5. Se injectează 10 μ l din soluția probă (6.1) și se înregistrează cromatograma sa.

6.3. Se identifică dacă hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina sau clorhexidina este prezentă prin compararea timpului (timpilor) de retenție al picului (ai picurilor) înregistrat(e) în (6.2.5) cu cele obținute din soluțiile de referință în 6.2.4.

7. DETERMINARE

7.1. Preparare soluții standard.

Se folosește drept standard intern unul dintre conservanții (4.6 până la 4.9) care este absent din probă. Dacă aceasta nu este posibil, poate fi folosit ca standard intern triclocarbanul (4.11) sau halocarbanul (4.12).

7.1.1. O soluție stoc 0,05% (m/v) în solvent I (4.5.1) de conservant identificat la 6.3.

7.1.2. O soluție stoc 0,05% (m/v) în solvent I (4.5.1) de conservant ales drept standard intern.

7.1.3. Pentru fiecare conservant identificat, se prepară patru soluții standard prin transferarea într-o serie de baloane cotate de 10 ml a unor cantități de soluție stoc de conservant identificat (7.1.1) și a unor cantități adecvate de soluție stoc de standard intern (7.1.2) în conformitate cu tabelul de mai jos. Se aduce fiecare balon la semn cu solvent I (4.5.1) și se amestecă.

Soluție	Soluție stoc standard intern	Soluție stoc conservant identificat	
standard	ml (7.1.2) adăugați	ml (7.1.1) adăugați	μg/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

(*) Aceste valori sunt date ca indicație și corespund concentrațiilor de conservanți identificați în soluții standard preparate folosind o soluție stoc care conține exact 0,05% conservant identificat.

7.2. Preparare probă

7.2.1 Se cântăresc cu precizie circa 0,5 g („p” grame) probă într-un balon cotat de 10ml, se adaugă 1,0 ml soluție standard intern (7.1.2) și 6 ml solvent I (4.5.1) și se omogenizează.

7.2.2. Se pune balonul pe o baie ultrasonică (5.4) pentru 10 minute. Se răcește. Se aduce la semn cu solvent I și se omogenizează. Se centrifughează sau se filtrează prin hârtie de filtru cutată. În funcție de caz, se colectează pentru cromatografie supernatantul sau filtratul.

7.3. Cromatografie

7.3.1. Se reglează gradientul fazei mobile, debitul de curgere, temperatura coloanei și lungimea de undă a detectorului echipamentului HPLC (5.2) la condițiile cerute de etapa de identificare (6.2.1 până la 6.2.3).

7.3.2. Se injectează 10 μl soluție probă (7.2.2) și se măsoară suprafețele picurilor. Se repetă procesul cu noi porțiuni de 10 μl soluție probă până când se obțin rezultate consistente. Se calculează raportul dintre suprafața picului produsă de compusul de analizat și suprafața picului produs de standardul intern.

7.4. Etalonare

7.4.1. Se injectează 10 μl din fiecare soluție standard (7.1.3) și se măsoară suprafețele picurilor

7.4.2. Pentru fiecare soluție standard (7.1.3), se calculează raportul dintre suprafața picului hexamidinei, dibromohexamidinei, dibromopropamidinei sau clorhexidinei și suprafața picului standardului intern. Se trasează o curbă de etalonare folosind aceste raporturi ca ordonată, iar ca abscisă concentrațiile corespondente ale conservantului identificat în soluțiile standard, în micrograme per mililitru.

7.4.3. De pe curba de etalonare (7.4.2) se citește concentrația de conservant identificat, corespunzătoare raportului suprafețelor picurilor calculat la 7.3.2

8. CALCUL

8.1 Se calculează conținutul de hexamină, dibromohexamină, dibromopropamină sau clorhexidină în probă, ca procent de masă, folosind următoarea formulă:

$$\% (m/m) = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

în care:

p = masa în grame a probei pentru testare (7.2.1);

c = concentrația conservantului în soluția probă, în micrograme per mililitru, obținută din curba de etalonare;

MW₁ = masa moleculară a formei bazice a conservantului prezent;

MW₂ = masa moleculară a sării corespunzătoare (vezi punctul 10).

9. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru o concentrație de hexamină, dibromohexamină, dibromopropamină sau clorhexidină de 0,1% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,0005%.

10. TABEL DE GREUTĂȚI MOLECULARE

Hexamidină	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Diizetionat de hexamidină	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Di-p-hidroxibenzoat de hexamidină	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromohexamidină	$C_{20}H_{26}Br_2N_4O_2$	512,24
Diizetionat de dibromohexamidină	$C_{20}H_{26}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibromopropamidină	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Diizetionat de dibromopropamidină	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Clorhexidină	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Diacetat de clorhexidină	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Digluconat de clorhexidină	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Dihidroclorură de clorhexidină	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

ANEXA Nr. 37

M E T O D Ă**de identificare și determinare cantitativă pentru acidul benzoic, acidul 4-hidroxibenzoic, acidul sorbic, acidul salicilic și acidul propionic**

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează identificarea și determinarea acidului benzoic, acidului 4-hidroxibenzoic, acidului sorbic, acidului salicilic și a acidului propionic în produsele cosmetice. În secțiuni separate sunt prezentate:

- A. identificarea acestor conservanți;
- B. determinarea acidului 4-hidroxibenzoic, acidului salicilic, acidului sorbic și acidului benzoic;
- C. determinarea acidului propionic.

2. DEFINIȚIE

Cantitățile de acid benzoic, acid 4-hidroxibenzoic, acid sorbic, acid salicilic și acid propionic determinate prin această metodă sunt exprimate ca procente de masă de acizi liberi.

A. IDENTIFICARE

1. PRINCIPIU

După extracția acid/bază a conservanților, extractul este analizat prin cromatografie în strat subțire (CCS) implicând derivatizarea probei „pe loc”.

În funcție de rezultate, identificarea este confirmată prin cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC) sau în cazul acidului propionic prin cromatografie de gaze (CG).

2. REACTIVI

2.1. Generalități

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică. Apa folosită trebuie să fie apă distilată sau apă de puritate cel puțin echivalentă.

2.2. Acetonă

2.3. Dietileter

2.4. Acetonitril

2.5. Toluen

2.6. n-Hexan

2.7. Parafină, lichidă

2.8. Acid clorhidric, 4M

2.9. Soluție hidroxid de potasiu, 4M

2.10. Clorură de calciu, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2.11. Carbonat de litiu, Li_2CO_3

2.12. 2-bromo-2'-acetonaftonă

2.13. Acid 4-hidroxibenzoic

2.14. Acid salicilic

2.15. Acid benzoic

2.16. Acid sorbic

2.17. Acid propionic

2.18. Soluții de referință

Se prepară soluții 0,1% (m/v) (100 mg/100 ml) din fiecare dintre cei cinci conservanți (2.13 ÷ 2.17) în dietileter.

2.19. Reactiv de derivatizare

soluție de 2-bromo-2'-acetonafonă (2.12) 0,5% (m/v) în acetonitril (2.4) (50 mg/10 ml). Această soluție trebuie preparată săptămânal și depozitată în frigider.

2.20. Soluție catalitică

soluție de carbonat de litiu (2.11) 0,3% (m/v) în apă (300 mg/100ml). Această soluție trebuie să fie proaspăt preparată.

2.21. Solvent de dezvoltare

Toluen (2.5) / acetonă (2.2) (20 : 0,5, v/v)

2.22. Parafină lichidă (2.7) / n-hexan (2.6) (1 : 2, v/v).

3. APARATURĂ

Echipament obișnuit de laborator.

3.1. Baie de apă, capabilă să mențină temperatura la 60°C

3.2. Tanc de dezvoltare

3.3. Sursă de lumină UV, 254 și 366nm

3.4. Plăci pentru cromatografie în strat subțire CSS, Kieselgel 60, fără indicator de fluorescență, 20 x 20 cm, grosime strat 0,25 mm cu zonă de concentrare 2,5 x 20 cm (Merck 11845 sau echivalent).

3.5. Microseringă, 10 μl

3.6. Microseringă, 25 μl

3.7. Etuvă capabilă să mențină temperaturi până la 105°C.

3.8. Vase de sticlă cu dop filetat, 50ml

3.9. Hârtie de filtru, diametru 90 mm, Schleicher & Schull, Weissband No. 5892 sau echivalent

3.10. Hârtie indicatoare de pH universală, pH 1–11

3.11. Fiole de probe, din sticlă, 5 ml

3.12. Evaporator cu film rotativ (Rotavapor sau echivalent)

3.13. Plită electrică.

4. PROCEDEU

4.1. Preparare probă

Într-un vas de sticlă cu dop filetat se cântărește circa 1 g probă (3.8). Se adaugă patru picături de acid clorhidric 4M (2.8) și 40 ml acetonă (2.2). Pentru produși puternic bazici cum ar fi săpunul de toaletă, trebuie adăugate 20 picături acid clorhidric 4M (2.8). Se verifică ca pH-ul să fie aproximativ doi, folosind hârtie indicatoare (3.10). Se închide eprubeta și se agită puternic timp de un minut.

Dacă este necesară facilitarea extracției conservanților în faza de acetonă, se încălzește ușor amestecul la circa 60°C pentru topirea fazei grase.

Se răcește soluția la temperatura camerei și se filtrează prin hârtie de filtru (3.10) într-un flacon conic.

Se transferă 20 ml de filtrat într-un flacon conic de 200ml, se adaugă 20 ml apă și se amestecă. Se ajustează pH-ul amestecului la circa 10 cu hidroxid de potasiu 4M (2.9), folosind hârtie indicatoare (3.10) pentru măsurarea acestuia.

Se adaugă 1 g clorură de calciu (2.10) și se agită puternic. Se filtrează prin hârtie de filtru (3.9) într-o pâlnie de separare de 250 ml conținând 75 ml dietil eter (2.3) și se agită puternic timp de un minut. Se lasă să se separe și se colectează stratul apos într-un flacon conic de 250ml. Se îndepărtează stratul de eter. Folosind hârtie indicatoare (3.10) se ajustează pH-ul soluției apoase la circa doi cu ajutorul acidului clorhidric 4M (2.8). Se adaugă 10 ml dietileter (2.3), se astupă flaconul și se agită puternic conținutul timp de un minut. Se lasă să se separe și se transferă stratul eteric într-un evaporator cu film rotativ (3.12). Se îndepărtează stratul apos.

Se evaporă stratul de eter până aproape de uscare și se redizolvă rezidul în 1 ml dietileter (2.3). Se transferă soluția într-o fiolă de probă (3.11).

4.2. Cromatografiere în strat subțire.

Pentru fiecare dintre referințele și probele ce vor fi cromatografiate. Se pun cu o seringă (3.5) circa 3 μl soluție carbonat de litiu (2.2) la distanțe egale față de linia de start în zona de concentrare a plăcii C.S.S. (3.4) și se usucă într-un curent de aer rece.

Se transferă placa C.S.S. pe o plită electrică (3.13), încălzită la 40°C, pentru a menține spoturile cât mai mici cu putință. Se pun cu o seringă 10 μl din fiecare dintre soluțiile de referință (2.18) și soluția probă (4.1) pe linia de start a plăcii, exact pe punctele unde a fost aplicată soluția de carbonat de litiu.

Se pun cu o seringă circa 15 μl reactiv de derivatizare (2.19) (soluție 2-bromo-2'-acetonafonă) din nou exact pe punctele unde au fost aplicate soluțiile de referință/probă și soluția de carbonat de litiu.

Se încălzește placa cromatografică într-o etuvă (3.7) la 80°C timp de 45 minute. După răcire, se eluează placa într-un tanc (3.2) care a fost echilibrat timp de 15 minute (fără a fi fost

căptușit cu hârtie de filtru), folosind ca eluent amestecul de solvenți 2.21 (toluen/acetona), până ce frontul solventului a migrat pe o distanță de 15 cm (poate dura 80 minute).

Se usucă placa într-un curent de aer rece și se examinează spoturile obținute în lumină UV (3.3). Pentru a îmbunătăți fluorescența spoturilor slabe, placa C.S.S. poate fi cufundată în amestec parafină lichidă / n-hexan (2.22).

5. IDENTIFICARE.

Se calculează Rf pentru fiecare spot.

Se compară Rf și comportarea la radiație UV obținută pentru probă cu cea obținută pentru soluțiile de referință.

Se trage o concluzie preliminară privind prezența și identitatea conservanților prezenți. Se realizează cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) descrisă în capitolul B sau, când este prezent acidul propionic, cromatografia de gaze (CG) descrisă în capitolul C. Se compară timpii de retenție obținuți cu cei ai soluțiilor de referință.

Se combină rezultatele din CSS și HPLC sau CG și se face identificarea finală a conservanților prezenți în probă pe baza rezultatelor combinate.

B. DETERMINAREA CANTITATIVĂ A ACIDULUI BENZOIC, ACIDULUI 4—HIDROXIBENZOIC, ACIDULUI SORBIC ȘI ACIDULUI SALICILIC

1. PRINCIPIU

După acidifiere, proba este extrasă cu un amestec de etanol și apă. După filtrare, conservanții sunt determinați prin cromatografie de lichide de înaltă performanță (HPLC).

2. REACTIVI

2.1. Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și adecvați HPLC. Apa folosită trebuie să fie apă distilată sau apă de cel puțin puritate echivalentă.

2.2. Etanol, absolut

2.3. Acid 4-hidroxibenzoic

2.4. Acid salicilic

2.5. Acid benzoic

2.6. Acid sorbic

2.7. Acetat de sodiu ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)

2.8. Acid acetic, $d_4^{20} = 1,05$ g/ml

2.9. Acetonitril

2.10. Acid sulfuric, 2M

2.11. Soluție hidroxid de potasiu, 0,2M

2.12. Acid 2-metoxibenzoic

2.13. Amestec etanol / apă

Se amestecă 9 volume de etanol (2.2) și un volum de apă (2 : 1)

2.14. Soluție standard intern

Se prepară o soluție conținând circa 1 g acid 2 metoxibenzoic (2.12) în 500 ml amestec etanol / apă (2.13)

2.15. Fază mobilă pentru HPLC

2.15.1. Tampon acetat: la 1l apă se adaugă 6,35 g acetat de sodiu (2.7) și 20 ml acid acetic (2.8) și se amestecă.

2.15.2. Se prepară faza mobilă prin amestecarea a nouă volume de tampon acetat (2.15.1) și un volum de acetonitril (2.9).

2.16. Soluție stoc de conservant

Într-un balon cotat de 50 ml se cântăresc cu precizie circa 0,05 g acid 4-hidroxibenzoic (2.3), 0,2 g acid salicilic (2.4), 0,2 g acid benzoic (2.5) și 0,05 g acid sorbic și se aduce la semn cu amestec etanol / apă (2.13). Această soluție se depozitează în frigider. Soluția este stabilă pentru o săptămână.

2.17. Soluții de conservanți standard

Într-o serie de baloane cotate de 20 ml se transferă 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 și respectiv 0,5 ml soluție stoc (2.16). În fiecare balon cotat se adaugă 10,0 ml soluție standard intern (2.14) și 0,5 ml acid sulfuric 2M (2.10). Se aduce la semn cu amestec etanol / apă (2.13). Aceste soluții trebuie să fie proaspăt preparate.

3. APARATURĂ

Echipament uzual de laborator, și:

3.1. Baie de apă, setată la 60°C

3.2. Cromatograf de lichide de înaltă performanță HPLC cu detector UV cu lungime de undă variabilă și ciclu de injecție de 10 μl.

- 3.3. Coloană analitică de oțel inoxidabil, lungime 12,5 până la 25 cm, diametru interior 4,6 mm, umplută cu Nucleosil 5C18 sau echivalent
- 3.4. Hârtie de filtru, diametru: 90 mm, Schleicher și Schull, Weissband No 5892 sau echivalent.
- 3.5. Vase de sticlă cu dop (filetat) 50ml.
- 3.6. Fiole de probă, din sticlă, 5ml
- 3.7. Granule de porțelan pentru fierbere, carborund, dimensiuni de la 2 la 4 mm, sau echivalent.

4. PROCEDEU

4.1. Preparare probă

4.1.1. Preparare probă fără adaos de standard intern

Într-un vas de sticlă de 50 ml cu dop filetat (3.5) se cântărește 1 g probă. Cu pipeta se pun în eprubetă 1,00 ml acid sulfuric 2M (2.10) și 40,0 ml amestec etanol/apă (2.13). Se adaugă circa 1 g granule de porțelan pentru fierbere (3.7), se închide eprubeta și se agită puternic pentru cel puțin un minut până la obținerea unei suspensii omogene. Pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol, se pune eprubeta pentru exact cinci minute într-o baie de apă (3.1) menținută la 60°C.

Se răcește imediat eprubeta într-un curent de apă rece și se păstrează extractul la 5°C pentru o oră.

Se filtrează extractul prin hârtie de filtru (3.4). Se transferă circa 2 ml extract într-o fiolă de probă (3.6). Se păstrează extractul la 5°C și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 de ore de la preparare.

4.1.2. Prepararea probei cu adaos de standard intern

Într-un vas de sticlă de 50 ml cu dop filetat (3.5) se cântărește cu precizie la a treia zecimală $1 \pm 0,1$ g („a” grame) de probă.

Se adaugă cu pipeta 1,00 ml acid sulfuric 2M (2.10) și 30,0 ml amestec etanol/apă (2.13). Se adaugă circa 1 g bucățele de porțelan pentru fierbere (3.7) și 10,00 ml soluție standard intern (2.14). Se închide eprubeta și se agită puternic cel puțin un minut până la obținerea unei suspensii omogene. Pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol, se pune eprubeta pentru exact cinci minute într-o baie de apă (3.1) menținută la 60°C.

Se răcește imediat eprubeta într-un curent de apă rece și se ține extractul la 5°C pentru o oră.

Se filtrează extractul prin hârtie de filtru (3.4). Se transferă circa 2 ml extract într-o fiolă de probă (3.6). Se depozitează extractul la 5°C și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 de ore de la preparare.

4.2. Cromatografiere de lichide de înaltă performanță (HPLC)

Fază mobilă: acetonitril/ tampon acetat (2.15)

Se reglează debitul fazei mobile prin coloană la $2,0 \pm 0,5$ μ l/ min. Se setează lungimea de undă a detectorului la 240 nm.

4.2.1. Etalonare

Se injectează porțiuni de 10 μ l din fiecare soluție de conservant standard (2.17) în cromatograful de lichide (3.2). Pentru fiecare soluție se determină rapoartele dintre înălțimile picurilor conservanților investigați și înălțimea picului standardului intern, obținute din cromatograme. Se trasează un grafic pentru fiecare conservant punând în relație raportul înălțimii picului cu concentrația fiecărei soluții standard.

Asigurați-vă că în procedeul de etalonare, pentru soluțiile standard, se obține un răspuns linear.

4.2.2. Determinare

Se injectează 10 μ l extract de probă (4.1.1) în cromatograful de lichide (3.2) și se înregistrează cromatograma. Se injectează 10 μ l soluție de conservant standard (2.17) și se înregistrează cromatograma. Se compară cromatogramele obținute. Dacă în cromatograma extractului de probă (4.1.1) nu apare prezent niciun pic având aproximativ același timp de retenție ca acidul 2-metoxibenzoic (standardul intern recomandat), se injectează 10 μ l extract de probă cu adaos de standard intern (4.1.2) în cromatograful de lichide și se înregistrează cromatograma.

Dacă se observă în cromatograma extractului de probă (4.1.1) un pic ce interferează, având același timp de retenție ca acidul 2-metoxibenzoic, trebuie selectat un alt standard intern adecvat. (Dacă unul dintre conservanții investigați este absent din cromatogramă, acest conservant poate fi folosit drept standard intern).

Asigurați-vă ca cromatogramele obținute pentru o soluție standard și solutia probă să îndeplinească următoarele cerințe:

— separarea picului celei mai prost separate perechi trebuie să fie de cel puțin 0,90 (pentru definirea separării picului, vezi figura 1)

5. CALCUL

Se folosesc rapoartele dintre înălțimile picurilor conservanților investigați la înălțimea picului acidului 2-metoxibenzoic (standard intern) și graficul de etalonare pentru a calcula concentrația conservanților acizi în soluția probă. Se calculează conținutul de acid benzoic, acid 4-hidroxibenzoic, acid sorbic sau acid salicilic în probă, ca procent de masă (x_i) folosind formula:

$$x_i \% (m/m) = \frac{100 \times 20 b}{10^6 \times a} = \frac{b}{500 \times a}$$

în care:

a = masa (g) a probei pentru analiza (4.1.2.)

b = concentrația ($\mu\text{g/ml}$) de conservant în extractul de probă (4.1.2) obținută din graficul de etalonare.

6. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de acid 4-hidroxibenzoic de 0,40%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,035%.

Pentru un conținut de acid benzoic de 0,50%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,050%.

Pentru un conținut de acid salicilic de 0,50% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,045%.

Pentru un conținut de acid sorbic de 0,60% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,035%.

7. OBSERVAȚII

7.1 Rezultatele unui test efectuat metodei indică următoarele: cantitatea de acid sulfuric adăugată pentru extragerea acizilor din probă este critică, și limitele pentru cantitatea de probă luată în lucru trebuie să fie menținute în granițele prescrise.

7.2. Dacă se dorește, poate fi folosită o coloană de siguranță adecvată.

C. DETERMINAREA ACIDULUI PROPIONIC

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează determinarea acidului propionic, de concentrație maximă 2% (m/m), în produsele cosmetice.

2. DEFINIȚIE

Concentrația acidului propionic măsurată prin această metodă este exprimată ca procent de masă (% m/m) de produs.

3. PRINCIPIU

După extragerea acidului propionic din produs, determinarea se realizează cu ajutorul cromatografiei de gaz cu folosirea acidului 2-metilpropionic ca standard intern.

4. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică; trebuie să se folosească apă distilată sau apă de calitate echivalentă.

4.1. Etanol 96% (v/v)

4.2. Acid propionic

4.3. Acid 2-metilpropionic

4.4. Acid ortofosforic, 10% (m/v)

4.5. Soluție acid propionic

Într-un balon cotat de 50 ml se cântărește cu precizie circa 1,00 g („p“ grame) acid propionic și se aduce la semn cu etanol (4.1)

4.6. Soluție standard intern

Într-un balon cotat de 50 ml se cântărește cu precizie circa 1,00 g („e“ grame) acid 2-metilpropionic și se aduce la semn cu etanol (4.1)

5. APARATURĂ

5.1. Echipament uzual de laborator și:

5.2. Cromatograf de gaze cu detector cu ionizare în flacără

5.3. Vas de sticlă cu dop filetat (20 x 150 mm)

5.4. Baie de apă la 60°C

5.5. Seringă de sticlă de 10 ml cu membrană de filtrare (diametrul porilor: 0,45 μm)

6. PROCEDEU

6.1. Preparare probă

6.1.1. Preparare probă fără standard intern

Într-o eprubetă de sticlă (5.3) se cântărește circa 1 g probă. Se adaugă 0,5 ml acid fosforic (4.4) și 9,5 ml etanol (4.1).

Se închide eprubeta și se agită bine. Dacă este necesar se pune eprubeta într-o baie de apă la 60°C (5.4) pentru cinci minute, pentru dizolvarea completă a fazei grase.

Se răcește rapid în curent de apă.

Se filtrează cotă parte din soluție printr-o membrană de filtrare (5.5). Se cromatografiază filtratul în aceeași zi.

6.1.2. Preparare probă cu standard intern

Într-o eprubetă de sticlă se cântărește cu precizie la a treia zecimală 1 g ± 0,1 („a” grame) probă. Se adaugă 0,5 ml acid fosforic (4.4), 0,5 ml soluție standard intern (4.6) și 9 ml etanol (4.1)

Se închide eprubeta și se agită bine. Dacă este necesar se pune eprubeta într-o baie de apă la 60°C (5.4) pentru cinci minute, pentru dizolvarea completă a fazei grase. Se răcește rapid în curent de apă. Se cromatografiază filtratul în aceeași zi.

6.2. Condiții pentru cromatografia de gaze.

Se recomandă următoarele condiții de operare:

Coloană

Tip Oțel inoxidabil

Lungime

2m

Diametru

1/8”

Umplutură

10% SPTM 1.000 (sau echivalent) + 1% H₃PO₄ pe Chromosorb

WAW 100 până la 120 ochiuri

Temperatură

Injector 200°C

Coloană 120°C

Detector 200°C

Gaz purtător azot

Debit de curgere 25ml/min

6.3. Cromatografie

6.3.1. Etalonare

Într-o serie de baloane cotate de 20 ml se pun cu pipeta 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, respectiv 4,00 ml soluție acid propionic (4,5). În fiecare balon cotat se pun cu pipeta 1,00 ml soluție standard intern (4.6); se aduce la semn cu etanol (4.1) și se amestecă. Soluțiile preparate în acest mod conțin „e” mg/ ml acid 2-metilpropionic ca standard intern (adică, 1 mg/ ml dacă e = 1000) și p/4, p/2, p,

2p, 4p mg/ml acid propionic (adică 0,25, 0,50, 1,00, 2,00, 4,00 mg/ ml dacă p = 1.000).

Se injectează 1 μl din fiecare dintre aceste soluții și se obține curba de etalonare prin trasarea pe axa X a raportului de masă acid propionic / acid 2-metilpropionic iar pe axa Y a raportului suprafețelor picurilor corespondente.

Se efectuează trei injectări din fiecare soluție și se calculează raportul mediu al suprafețelor picurilor.

6.3.2. Determinare

Se injectează 1 μl filtrat de probă (6.1.1). Se compară cromatograma cu cea a soluțiilor standard (6.3.1). Dacă un pic are aproximativ același timp de retenție ca acidul 2-metilpropionic, se schimbă standardul intern. Dacă nu este observată nicio interferență, se injectează 1 μl filtrat de probă 6.1.2 și se măsoară suprafețele picurilor acidului propionic și ale standardului intern.

Se efectuează trei injectări din fiecare soluție și se calculează raportul mediu al suprafețelor picurilor.

7. CALCUL

7.1. Din curba de etalonare obținută la 6.3.1 se obține raportul de masă (K) corespunzător raportului suprafețelor picurilor calculat la 6.3.2.

7.2. Din raportul de masă astfel obținut se calculează conținutul de acid propionic al probei (x) ca procent de masă, folosind următoarea formulă:

$$x \% (m / m) = K \frac{0,5 \times 100 \times e}{50 \times a} = K \frac{e}{a}$$

în care:

K = raportul calculat la 7.1

e = masa în grame a standardului intern cântărit la 4.6

a = masa în grame a probei, cântărită la 6.1.2

Rezultatele se rotunjesc la o zecimală.

8. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

Pentru un conținut de acid propionic 2% (m/m) diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească 0,12%.

ANEXA Nr. 38

M E T O D Ă

de identificare și determinare cantitativă pentru hidrochinonă, monometileter hidrochinonă, monoetileter hidrochinonă și monobenzileter hidrochinonă în produsele cosmetice

A. IDENTIFICARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Metoda reglementează detectarea și identificarea hidrochinonei, monometileter hidrochinonei, monoetileter hidrochinonei și monobenzileter hidrochinonei (monobenzonă) în produsele cosmetice pentru albirea pielii.

2. PRINCIPIU

Hidrochinona și eterii săi sunt identificați prin cromatografie în strat subțire (CSS).

3. REACTIVI

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică.

3.1. Etanol, 96% (v/v)

3.2. Cloroform

3.3. Dietileter

3.4. Solvent de dezvoltare

Cloroform / dietileter, 66 : 33 (v/v)

3.5. Amoniac, 25% (m/m) ($d_4^{20} = 0,91\text{g/ml}$)

3.6. Acid ascorbic

3.7. Hidrochinonă

3.8. Monometileter hidrochinonă

3.9. Monoetileter hidrochinonă

3.10. Monobenzileter hidrochinonă (monobenzonă)

3.11. Soluții de referință

Următoarele soluții de referință trebuie proaspăt preparate și sunt stabile doar o zi:

3.11.1. Într-o eprubetă gradată de 10 ml se cântăresc 0,05 g hidrochinonă (3.7). Se adaugă 0,250 g acid ascorbic (3.6) și 5 ml etanol (3.1). Se adaugă amoniac (3.5) până când pH-ul devine 10 și se aduce la semn cu etanol (3.1).

3.11.2. Într-o eprubetă gradată de 10 ml se cântăresc 0,05 g monometileter hidrochinonă (3.8). Se adaugă 0,250 g acid ascorbic (3.6) și 5 ml etanol (3.1). Se adaugă amoniac (3.5) până când pH-ul devine 10 și se aduce la semn cu etanol (3.1).

3.11.3. Într-o eprubetă gradată de 10 ml se cântăresc 0,05 g monoetileter hidrochinonă (3.9). Se adaugă 0,250 g acid ascorbic (3.6) și 5 ml etanol (3.1). Se adaugă amoniac (3.5) până când pH-ul devine 10 și se aduce la semn cu etanol (3.1).

3.11.4. Într-o eprubetă gradată de 10 ml se cântăresc 0,05 g (monobenzileter) hidrochinonă (3.10). Se adaugă 0,250 g acid ascorbic (3.6) și 5 ml etanol (3.1). Se adaugă amoniac (3.5) până când pH-ul devine 10 și se aduce la semn cu etanol (3.1).

3.12. Azotat de argint

3.13. Acid 12-molibdofosforic

3.14. Fericianură de potasiu hexahidrată

3.15. Clorură ferică hexahidrată

3.16. Reactivi de pulverizare

3.16.1. La o soluție apoasă 5% (m/v) azotat de argint (3.1.2), se adaugă amoniac (3.5) până la dizolvarea precipitatului care se formează.

Atenție:

În timp soluția devine exploziv-instabilă, deci trebuie aruncată după folosire.

3.16.2. Soluție 10% (m/v) acid 12-(molibdofosforic) (3.13) în etanol (3.1).

Se prepară o soluție apoasă 1% (m/v) de fericianură de potasiu (3.14) și o soluție apoasă 2% (m/v) de clorură ferică (3.15). Se amestecă părți egale din ambele soluții chiar înainte de folosire.

4. APARATURĂ.

Echipment uzual de laborator și:

- 4.1. Echipament uzual pentru cromatografie în strat subțire CSS
- 4.2. Plăci pentru cromatografie în strat subțire CSS, gata preparate: silicagel GHR/UV₂₅₄; 20 x 20 cm (Machery, Nagel sau echivalent). Grosime strat: 0,25 mm.
- 4.3. Baie ultrasonică
- 4.4. Centrifugă
- 4.5. Lampă UV, 254 nm.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Într-o eprubetă gradată se cântăresc 3 g probă. Se adaugă 0,250 g acid ascorbic (3.6) și 5 ml etanol (3.1). Se reglează pH-ul soluției la 10, folosind amoniac (3.5). Se aduce la semn cu etanol. (3.1). Se închide eprubeta cu un dop și se omogenizează pe o baie ultrasonică timp de 10 minute. Se filtrează prin hârtie de filtru sau se centrifughează la 3.000 rot/min.

5.2. Cromatografiere în strat subțire

5.2.1. Se saturează un tanc cromatografic cu solvent de dezvoltare (3.4)

5.2.2. Se pun pe o placă 2 μl soluții de referință (3.11) și 2 μl soluție probă (5.1).

Se dezvoltă în întuneric la temperatură ambiantă până când frontul de solvent a migrat 15 cm față de start.

5.2.3. Se îndepărtează placa și se lasă să se usuce la temperatura camerei.

5.3. Detecție

5.3.1. Se observă placa în lumină UV la 254 nm și se marchează poziția spoturilor.

5.3.2. Se pulverizează cu:

- reactiv azotat de argint (3.16.1) sau
- reactiv acid 12-molibdofosforic (3.16.3); se încălzește la circa 120°C sau
- soluție fericianură de potasiu și soluție clorură ferică (3.16.3).

6. IDENTIFICARE

Se calculează valoarea R_f pentru fiecare spot.

Se compară spoturile obținute pentru soluția probă cu cele pentru soluțiile de referință din punct de vedere al: valorilor R_f, culorilor spoturilor la radiație UV și culorilor spoturilor după vizualizarea cu reactiv pulverizat.

Se realizează cromatografierea de lichide de înaltă performanță HPLC conform descrierii din capitolul următor (B) și se compară timpii de retenție obținuți pentru picul (picurile) probei cu cei ai soluțiilor de referință.

Se combină rezultatele obținute prin CSS și HPLC pentru a identifica prezența hidrochinonei și/sau a eterilor săi.

7. OBSERVAȚII

În condițiile descrise au fost observate următoarele valori R_f:

hidrochinonă	0,32
monometileter hidrochinonă	0,53
monoetileter hidrochinonă	0,55
monobenzileter hidrochinonă	0,58

B DETERMINARE

1. SCOP ȘI DOMENIU DE APLICARE

Această metodă reglementează procedeul pentru determinarea hidrochinonei, monometileter hidrochinonei, monoetileter hidrochinonei, monobenzileter hidrochinonei în produsele cosmetice pentru albirea pielii.

2. PRINCIPIU

Proba este extrasă cu un amestec de apă / metanol în condiții de încălzire ușoară pentru topirea oricărui material gras. Determinarea analiților în soluția rezultată este realizată prin cromatografie de lichide cu fază inversă cu detecție UV.

3. REACTIVI

3.1. Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică. Apa folosită trebuie să fie apă distilată sau apă de puritate cel puțin echivalentă.

3.2. Metanol

3.3. Hidrochinonă

3.4. Monometieter hidrochinonă

3.5. Monoetileter hidrochinonă

3.6. Monobenzileter hidrochinonă (monobenzonă)

3.7. Tetrahidrofuran, puritate HPLC

3.8. Amestec apă/metanol 1 : 1 (v/v). Se amestecă un volum de apă și un volum de metanol (3.2)

3.9. Fază mobilă: amestec tetrahidrofuran / apă 45 : 55 (v/v). Se amestecă 45 volume tetrahidrofuran (3.7) și 55 volume apă.

3.10. Soluție de referință

Într-un balon cotate de 50 ml se cântăresc 0,06 g hidrochinonă (3.4), 0,08 g monometileter hidrochinonă (3.4), 0,10 g monoetileter hidrochinonă (3.5) și 0,12 g monobenzileter hidrochinonă (3.6). Se dizolvă și se aduce la semn cu metanol (3.2). Se prepară soluția de referință prin diluarea a 10,00 ml din această soluție la 50,00 ml cu amestec apă/metanol (3.8). Aceste soluții trebuie să fie proaspăt preparate.

4. APARATURĂ

Echipament normal de laborator și:

4.1. Baie de apă, capabilă de menținerea temperaturii la 60°C.

4.2. Cromatograf de lichide de înaltă performanță HPLC cu detector UV cu lungime de undă variabilă și ciclu de injecție de 10 μl.

4.3. Coloană analitică:

Coloană cromatografică de oțel inoxidabil, lungime 250 mm, diametru interior 4,6 mm, umplută cu fenil Zorbax (fenetilsilan legat chimic pe Zorbax SIL, la capete cu trimetiltorsilan), dimensiune de particule 6 μm sau echivalent. Nu se folosește o coloană de siguranță, cu excepția siguranței de fenil sau echivalent.

4.4. Hârtie de filtru diametru 90mm, Schleicher și Schull, Weissband nr. 5892 sau echivalent.

5. PROCEDEU

5.1. Preparare probă

Într-un balon cotate de 50 ml se cântăresc cu precizie la a treia zecimală $1 \pm 0,1$ g („a“ grame) probă. Se dispersează proba în 25 ml amestec apă/metanol (3.8). Se închide balonul și se agită puternic până la obținerea unei suspensii omogene. Se agită cel puțin un minut. Se pune balonul într-o baie de apă (4.1) și se menține la 60°C pentru îmbunătățirea extracției. Se răcește balonul și se aduce la semn cu apă/metanol (3.8). Se filtrează extractul folosind hârtie de filtru (4.4). Se realizează determinarea HPLC într-un interval de cel mult 24 ore de la pregătirea extractului.

5.2. Cromatografiere de lichide de înaltă performanță (HPLC)

5.2.1. Se reglează debitul de curgere al fazei mobile (3.9) la 1,0 ml/min și se setează lungimea de undă a detectorului la 295 nm.

5.2.2. Se injectează 10 μl soluție probă obținută conform descrierii de la punctul 5.1 și se înregistrează cromatograma. Se măsoară suprafețele picurilor. Se realizează etalonarea conform descrierii din 5.2.3. Se compară cromatogramele obținute pentru probă și soluțiile de referință. Se folosesc suprafețele picurilor și factorii de răspuns (RF) calculați la 5.2.3. pentru a calcula concentrația substanțelor analizate în soluția probă.

5.2.3. Etalonare

Se injectează 10 μl soluție de referință (3.10) și se înregistrează cromatograma. Se injectează de mai multe ori până când este obținută o suprafață a picului constantă.

Se determină factorul de răspuns RF_i :

$$RF_i = \frac{p_i}{c_i}$$

în care :

p_i = suprafața picului pentru hidrochinonă, monometileter hidrochinonă, monoetileter hidrochinonă sau monobenzileter hidrochinonă, și

c_i = concentrația (g/50 ml) în soluția de referință (3.10) a hidrochinonei, monometileter hidrochinonei, monoetileter hidrochinonei sau monobenzileter hidrochinonei

Asigurați-vă ca cromatogramele obținute pentru o soluție standard și soluția probă să îndeplinească următoarele cerințe:

— pentru perechea cel mai puțin separată, picul trebuie să fie de cel puțin 0,90 (pentru definiția separării picului, vezi figura 1)

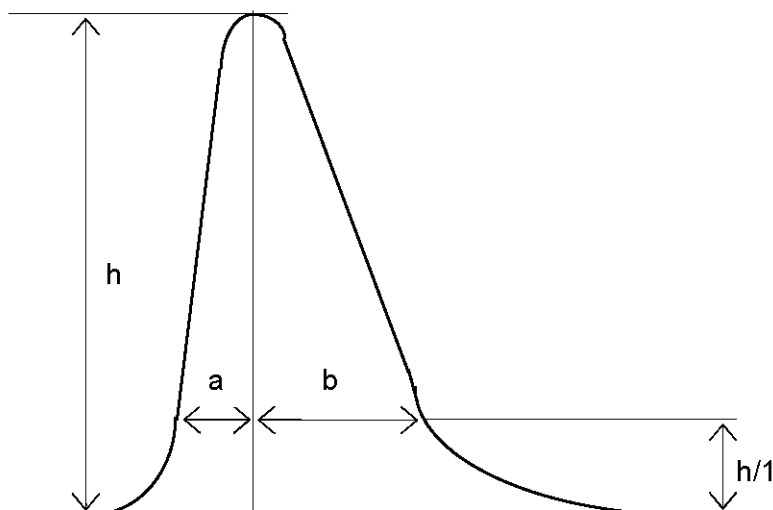


figura 1: Separarea picului

Dacă nu se realizează separarea cerută sau trebuie folosită o coloană mai eficientă sau trebuie ajustată compoziția fazei mobile până la îndeplinirea cerinței.

— factorul de asimetrie A_s al tuturor picurilor obținute trebuie să fie cuprins într-un interval de la 0,9 până la 1,5 (pentru definirea factorului de asimetrie A_s , vezi figura 2). Pentru a înregistra cromatograma pentru determinarea factorului de asimetrie se recomandă o viteză de înregistrare a graficului hârtiei de cel puțin 2 cm/minut.

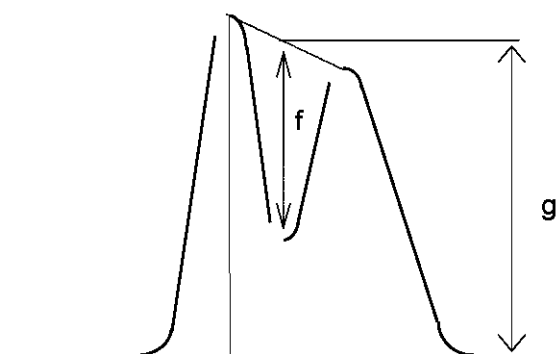


figura 2: Factor de asimetrie a picului

Trebuie să se obțină o linie de bază continuă.

6. CALCUL

Se folosesc suprafețele picurilor corespunzătoare substanțelor analizate pentru a calcula concentrațiile acestora în probă. Se calculează concentrația substanțelor analizate în probă, ca procent de masă (x_i), folosind următoarea formulă

$$x_i \% (m/m) = \frac{b_i \times 100}{RF_i \times a}$$

în care:

a = masa probei în grame, și

b_i = suprafața picului corespunzător substanței analizate „i” în probă

7. REPETABILITATE (SR ISO 5725)

7.1. Pentru un conținut de hidrochinonă de 2,0%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,13%.

7.2. Pentru un conținut de monometiler hidrochinonă de 1,0%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,1%.

7.3. Pentru un conținut de monoetileter hidrochinonă de 1,0%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,11%.

7.4. Pentru un conținut de monobenzileter hidrochinonă de 1,0%, diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate în paralel pe aceeași probă nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,11%.

8. REPRODUCTIBILITATE (SR ISO 5725)

8.1. Pentru un conținut de hidrochinonă de 2,0% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate pe aceeași probă dar în condiții diferite (laboratoare diferite, operatori diferiți, aparatură diferită și/sau moment diferit) nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,37%.

8.2. Pentru un conținut de monometileter hidrochinonă de 1,0% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate pe aceeași probă dar în condiții diferite (laboratoare diferite, operatori diferiți, aparatură diferită și/sau moment diferit) nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,21%.

8.3. Pentru un conținut de monoetileter hidrochinonă de 1,0% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate pe aceeași probă dar în condiții diferite (laboratoare diferite, operatori diferiți, aparatură diferită și/sau moment diferit) nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,19%.

8.4. Pentru un conținut de monobenzileter hidrochinonă de 1,0% diferența dintre rezultatele a două determinări efectuate pe aceeași probă dar în condiții diferite (laboratoare diferite, operatori diferiți, aparatură diferită și/sau moment diferit) nu trebuie să depășească o valoare absolută de 0,11%.

9. OBSERVAȚII

9.1. Când se întâlnește un conținut de hidrochinonă considerabil mai mare decât 2% și este necesară o estimare precisă a conținutului, extractul probă (5.1) trebuie să fie diluat la o concentrație similară cu cea care ar fi obținută dintr-o probă conținând 2% hidrochinonă și determinarea repetată.

(Pentru unele instrumente absorbanta poate depăși limitele de detectare pentru concentrații înalte de hidrochinonă).

9.2. Interferențe

Metoda descrisă mai sus permite determinarea hidrochinonei și a eterilor săi într-un singur ciclu izocratic. Folosirea coloanei de fenil asigură o retenție suficientă pentru hidrochinonă, care nu poate fi garantată când este folosită o coloană C18 cu faza mobilă descrisă.

Oricum, această metodă este predispusă la interferențe din cauza unui număr de parabeni (derivați parabenzenici). În aceste cazuri determinarea trebuie repetată cu un sistem diferit fază mobilă/fază staționară.

Metode adecvate pot fi găsite în lucrările de referință 1 și 2, și anume:

Coloană: Zorbax ODS, 4,6 mm x 25 mm sau echivalent:

temperatură: 36°C

debit: 1,5 ml/min

fază mobilă, pentru:

hidrochinonă: metanol / apă 5 / 95 (V/V)

monometileter hidrochinonă: metanol / apă 30 / 70 (V/V)

monobenzileter hidrochinonă: metanol/apă 80/20(V/V)⁽¹⁾

Coloană: Spherisorb S5-ODS sau echivalent:

fază mobilă: apă / metanol 90 / 10 (V/V)

debit: 1,5 ml/min

Aceste condiții sunt adecvate pentru hidrochinonă ⁽²⁾

⁽¹⁾ M. Herpol-Borremans 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).

⁽²⁾ J. Firth and I. Rix, Determination of hydroquinone in skin toning creams, Analyst (1986), 111, p. 129.

M E T O D Ă

de identificare și determinare pentru 2— fenoxietanol, 1— fenoxipropan-2-ol, 4-hidroxibenzoat de metil, etil, propil, butil și benzil în produsele cosmetice

A. IDENTIFICARE

1. Obiectul și domeniul de aplicare

Prezenta metodă specifică un procedeu de cromatografie în strat subțire (CSS) care, în combinație cu metoda de determinare descrisă în secțiunea B, permite identificarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropan-2-olului, 4-hidroxibenzoatului de metil, 4-hidroxibenzoatului de etil, 4-hidroxibenzoatului de propil, 4-hidroxibenzoatului de butil și 4-hidroxibenzoatului de benzil în produsele cosmetice.

2. Principiu

Conservanții sunt extrași din probele cosmetice acidificate cu acetonă. După filtrare, soluția de acetonă este amestecată cu apă și, într-un mediu alcalin, acizii grași sunt precipitați sub forma sărurilor lor de calciu. Amestecul alcalin acetonă/apă este extras cu dietileter pentru a îndepărta substanțele lipofilice. După acidificare, conservanții sunt extrași cu dietileter. O porțiune din extractul dietileteric este picurată pe o placă pentru cromatografie în strat subțire acoperită cu silicagel. După dezvoltarea plăcii, cromatograma obținută este observată în lumină UV și vizualizată prin utilizarea reactivului Millon.

3. Reactivi

3.1. Generalități

Toți reactivii utilizați trebuie să fie de puritate analitică. Apa este apă distilată sau apă de cel puțin aceeași puritate.

3.2. Acetonă

3.3. Dietileter

3.4. n-Pentan

3.5. Metanol

3.6. Acid acetic glacial

3.7. Soluție de acid clorhidric, $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$

3.8. Soluție de hidroxid de potasiu, $c(\text{KOH}) = 4 \text{ mol/l}$

3.9. Clorură de calciu dihidratată ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.10. Reactiv de detectare: reactiv Millon

Reactivul Millon [azotat de mercur (II)] este o soluție gata preparată, disponibilă în comerț (Fluka 69820).

3.11. 2-Fenoxietanol

3.12. 1-Fenoxipropan-2-ol

3.13. 4-hidroxibenzoat de metil (metilparaben)

3.14. 4-hidroxibenzoat de etil (etilparaben)

3.14 4-hidroxibenzoat de n-propil (propilparaben)

3.15. 4-hidroxibenzoat de n-butil (butilparaben)

3.16. 4-hidroxibenzoat de benzil (benzilparaben)

3.17. Soluții de referință

Se prepară soluții 0,1% (m/v) în metanol din fiecare din substanțele de referință 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 și 3.17.

3.18. Solvent de dezvoltare

Se amestecă 88 volume de n-pentan (3.4.) cu 12 volume de acid acetic glacial (3.6.).

4. Aparatură

Echipament obișnuit de laborator și:

4.1. Baie de apă, capabilă de menținerea unei temperaturi de 60°C

4.2. Tanc de dezvoltare (necăptușit cu hârtie de filtru)

4.3. Sursă de lumină UV, 254 nm

4.4. Plăci pentru cromatografie în strat subțire, 20 cm x 20 cm, preacoperite cu 0,25 mm silicagel 60F₂₅₄, cu zonă concentratoare (Merck No.†11798, Darmstadt sau echivalent)

4.5. Cuptor capabil de menținerea unei temperaturi până la 105°C

4.6. Uscător pentru păr cu aer fierbinte

4.7. Rolă pentru vopsirea lânii, lungime aproximativ 10 cm, diametru exterior aproximativ 3,5 cm. Grosimea stratului de lână va fi de 2 până la 3 mm. Dacă este necesar, lână se ajustează.

A se vedea nota de la 5.2.

4.8. Vase de sticlă de 50 ml cu dop filetat

4.9. Plită cu încălzire electrică, cu termostat pentru controlul temperaturii. Reglarea temperaturii: aproximativ 80°C. Plita se acoperă cu o placă de aluminiu de 20 x 20 cm și grosime de aproximativ 6 mm, pentru a obține o distribuție uniformă a temperaturii.

5. Procedură

5.1. Pregătirea probei

Într-un vas de sticlă de 50 ml cu dop filetat (4.8) se cântărește aproximativ 1 g de probă. Se adaugă patru picături de soluție de acid clorhidric (3.7.) și 40 ml de acetonă.

Pentru produsele cosmetice puternic bazice, cum ar fi săpunul de toaletă, se adaugă 20 de picături de soluție de acid clorhidric. Se închide eprubeta, se încălzește ușor amestecul până la aproximativ 60°C pentru a facilita extragerea conservanților în faza de acetonă și se agită puternic timp de un minut.

Se măsoară pH-ul soluției cu hârtie indicatoare de pH și se reglează pH-ul soluției 3 cu soluție de acid clorhidric. Se agită din nou puternic timp de un minut.

Se răcește soluția la temperatura camerei și se filtrează prin hârtie de filtru într-un pahar conic. Se transferă 20 ml din filtrat într-un pahar conic de 200ml, se adaugă 60 ml apă și se amestecă. Se reglează pH-ul amestecului la aproximativ 10 cu hidroxid de potasiu (3.8.), folosind hârtie indicatoare de pH.

Se adaugă 1 g clorură de calciu dihidratată (3.9.) și se agită puternic. Se filtrează soluția prin hârtie de filtru într-o pâlnie de separare de 250 ml conținând 75 ml dietileter și se agită puternic timp de un minut. Se lasă fazele să se separe și se colectează stratul apos într-un pahar conic de 200 ml. Se reglează pH-ul soluției la aproximativ 2 cu soluție de acid clorhidric, folosind hârtie indicatoare de pH. Ulterior se adaugă 10 ml dietileter și se agită puternic timp de un minut. Se lasă ca fazele să se separe și se transferă aproximativ 2 ml din stratul dietileteric într-o fiolă de probă de 5 ml.

5.2 Cromatografie în strat subțire (CSS)

Se pune o placă pentru (CSS) (4.4) pe placa de aluminiu încălzită (4.9.). Se pun 10 μl din fiecare dintre soluțiile de referință (3.18.) și 100 μl de soluție de probă (5.1.) pe linia de start a zonei concentratoare a plăcii pentru (CSS).

Dacă se dorește, se poate folosi un curent de aer care facilitează evaporarea solventului. Se îndepărtează placa pentru (CSS) de pe plită și se lasă să se răcească la temperatura camerei. Se transferă 100 ml solvent de dezvoltare (2.19) într-un tanc de dezvoltare (4.2.).

Se pune imediat placa pentru (CSS) în camera nesaturată și se dezvoltă la temperatura camerei până când frontul de solvent avansează aproximativ 15 cm față de linia de pornire. Se îndepărtează placa din tancul de dezvoltare și se usucă într-un curent de aer fierbinte cu ajutorul unui uscător pentru păr cu aer fierbinte.

Se examinează placa în lumină UV (4.3.) și se marchează poziția spoturilor. Se încălzește placa timp de 30 de minute într-un cuptor (4.5.) la 100°C pentru a îndepărta excesul de acid acetic. Se vizualizează conservanții din cromatogramă cu ajutorul reactivului Millon, prin înmuierea în reactiv a rolurilor pentru vopsire și rularea peste placa pentru (CSS) până la udare uniformă.

Notă: Ca alternativă, spoturile pot fi vizualizate în lumină UV prin aplicarea cu grijă a unei picături din reactivul Millon pe fiecare spoturi marcată.

Esterii acidului 4-hidroxibenzoic apar ca spoturi roșii, 2-fenoxietanolul și 1-fenoxipropan-2-olul ca spoturi galbene.

De remarcat că acidul 4-hidroxibenzoic însuși, care poate fi prezent în probe drept conservant sau drept produs de descompunere al derivaților hidroxiparabenzoiaci, apare de asemenea ca un spot roșu. A se vedea 7.3. și 4.4.

6. Identificare

Se calculează valoarea R_f pentru fiecare spot. Se compară spoturi obținute pentru soluția de probă cu acelea ale soluțiilor de referință, din punct de vedere al valorilor R_f , al comportamentului în radiație ultravioletă și al culorii după vizualizare. Se trag concluzii preliminare asupra identității conservanților.

Dacă apar ca prezenți derivați hidroxiparabenzoiaci, trebuie realizată procedura prin HPLC descrisă în secțiunea B. Se combină rezultatele obținute prin (CSS) și prin cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC) pentru a confirma prezența a 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropan-2-olului și a derivaților hidroxiparabenzoiaci.

7. Observații

7.1. Din cauza toxicității reactivului Millon, acesta se aplică cel mai bine printr-unul dintre procedeele descrise. Nu este recomandată pulverizarea.

7.2. Alți compuși conținând grupări hidroxil pot de asemenea colora reactivul Millon. Un tabel conținând culori și valori ale R_f obținute pentru un număr de conservanți folosind această procedură prin (CSS) poate fi găsit în: N. de Kruijff, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardhi și A. Schouten (1987): Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products (J. Chromatography 410, 395-411).

7.3. Valorile R_f enumerate în următorul tabel servesc ca indicație a valorilor care ar putea fi obținute.

Compus	hR_f	Culoare
acid 4-hidroxibenzoic	11	roșu
metilparaben	12	roșu
etilparaben	17	roșu
propilparaben	21	roșu
butilparaben	26	roșu
benzilparaben	16	roșu
2-fenoxietanol	29	galben
1-fenoxipropan-2-ol	50	galben

7.4. Nu se obține nicio separare pentru acidul 4-hidroxibenzoic și metilparaben sau pentru benzilparaben și etilparaben. Identificarea acestor compuși trebuie confirmată prin aplicarea procedurii prin HPLC descrise în secțiunea B și compararea timpilor de retenție obținuți pentru probă cu cei ai standardelor.

B. DETERMINARE

1. Obiectul și domeniul de aplicare

Prezenta metodă specifică un procedeu pentru determinarea 2-fenoxietanolului, 1-fenoxipropan-2-olului, 4-hidroxibenzoatului de metil, 4-hidroxibenzoatului de etil, 4-hidroxibenzoatului de propil, 4-hidroxibenzoatului de butil și 4-hidroxibenzoatului de benzil în produsele cosmetice.

2. Definiție

Cantitățile de conservanți determinate prin această metodă sunt exprimate ca procente de masă.

3. Principiu

Proba este acidificată prin adăugare de acid sulfuric și apoi suspendată într-un amestec de etanol și apă. După încălzirea ușoară a amestecului pentru topirea fazei grase în vederea susținerii extracției cantitative, amestecul este filtrat.

Conservanții din filtrat sunt determinați prin HPLC cu fază inversă utilizând 4-hidroxibenzoat de izopropil ca standard intern.

4. Reactivi

4.1. Generalități

Toți reactivii trebuie să fie de puritate analitică și adecvați pentru HPLC, când este cazul. Apa este apă distilată sau apă de puritate cel puțin echivalentă.

4.2. Etanol absolut

4.3. Fenoxietanol

4.4. Fenoxipropan-2-ol

4.5. hidroxibenzoat de metil (metilparaben)

4.6. hidroxibenzoat de etil (etilparaben)

4.7. hidroxibenzoat de n-propil (propilparaben)

4.8. hidroxibenzoat de izopropil (izopropilparaben)

4.9. hidroxibenzoat de n-butil (butilparaben)

4.10. hidroxibenzoat de benzil (benzilparaben)

4.11. Tetrahidrofuran

4.12. Metanol

4.13. Acetonitril

4.14. Soluție de acid sulfuric $C(H_2SO_4) = 2 \text{ mol/l}$

4.15. Amestec etanol / apă

Se amestecă nouă volume de etanol (4.2) și un volum de apă.

4.16. Soluție de standard intern

Se cântăresc cu precizie 0,25 g izopropilparaben (4.8), se transferă într-un balon cotat de 500 ml, se dizolvă și se aduce la semn cu amestec etanol / apă (4.15).

4.17. Faza mobilă: amestec tetrahidrofuran / apă / metanol / acetonitril.

Se amestecă 5 volume tetrahidrofuran, 60 volume de apă, 10 volume de metanol și 25 volume de acetonitril.

4.18. Soluție stoc de conservant

Într-un balon cotat de 100 ml se cântăresc cu precizie 0,2 g 2-fenoxietanol, 0,2 g 1-fenoxipropan-2-ol, 0,05 g metilparaben, 0,05 g etilparaben, 0,05 g propilparaben, 0,05 g butilparaben și 0,025 g benzilparaben, se dizolvă și se aduce la semn cu amestec etanol/apă.

Păstrată în frigider, soluția este stabilă timp de o săptămână.

4.19. Soluții standard de conservant

Din soluția stoc (4.18) se transferă în cinci baloane cotate de 50 ml, 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml și respectiv 1,00 ml. În fiecare balon se adaugă 10,00 ml soluție standard intern (4.16) și 1,0 ml soluție de acid sulfuric (4.14) și se aduce la semn cu amestec etanol/apă. Aceste soluții trebuie să fie proaspăt preparate.

5. Aparatură

Echipament de laborator obișnuit și:

5.1. Baie de apă, capabilă de menținerea temperaturii la $60^\circ C \pm 1^\circ C$.

5.2. Cromatograf de lichid de înaltă performanță cu detector UV, lungime de undă 280 nm.

5.3. Coloană analitică:

Oțel inoxidabil, 25 cm x 4,6 mm diametru interior (sau 12,5 cm x 4,6 mm diametru interior), umplută cu Nucleosil 5C18 sau echivalent (vezi 10.1).

5.4. Vase de sticlă de 100 ml cu dop filetat.

5.5. Granule pentru omogenizarea fierberii, carborundum, dimensiuni 2—4 mm sau echivalent.

6. Procedură

6.1. Prepararea probe

6.1.1. Pregătirea probei fără adaos de standard intern

Într-un vas de sticlă de 100 ml cu dop filetat se cântărește aproximativ 1,0 g de probă. Se pun cu pipeta în eprubetă 1,0 ml soluție de acid sulfuric (4.14) și 50,0 ml amestec etanol/apă (4.15). Se adaugă 1 g de granule pentru omogenizarea fierberii (5.5), se închide eprubeta și se agită puternic până la obținerea unei suspensii omogene. Se agită timp de cel puțin un minut. Se introduce eprubeta pentru cinci minute într-o baie de apă (5.1) menținută la $60^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol.

Vasul se răcește imediat într-un curent de apă rece și se depozitează extractul în frigider pentru o oră. Se filtrează extractul folosind hârtie de filtru. Se transferă aproximativ 2 ml de filtrat într-o fiolă de probă de 5ml. Se depozitează extractele în frigider și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 ore.

6.1.2. Pregătirea probei cu adaos de standard intern

Într-un vas de sticlă de 100 ml cu dop filetat se cântărește cu precizie de trei zecimale $1,0 \text{ g}\pm 0,1 \text{ g}$ de probă.

Se pun cu pipeta în vas 1,0 ml soluție de acid sulfuric și 40,0 ml amestec etanol/apă. Se adaugă aproximativ 1 g de granule pentru omogenizarea fierberii (5.5) și exact 10,00 ml soluție standard. Se închide vasul și se agită puternic până la obținerea unei suspensii omogene. Se agită timp de cel puțin un minut. Se introduce eprubeta pentru cinci minute într-o baie de apă (5.1) menținută la $60^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pentru a facilita extracția conservanților în faza de etanol.

Se răcește imediat tubul într-un curent de apă rece și se depozitează extractul în frigider pentru o oră. Se filtrează extractul folosind hârtie de filtru.

Se transferă aproximativ 2 ml de filtrat într-o fiolă de probă de 5 ml (soluție de analizat). Se depozitează în frigider și se realizează determinarea HPLC într-un interval de 24 ore.

6.2. Cromatografie de lichid de înaltă performanță (HPLC)

6.2.1. Condiții pentru cromatografie

- Faza mobilă: amestec tetrahidrofuran / apă / metanol / acetonitril;
- Debit: 1,5 ml/minut
- Lungime de undă a detecției: 280 nm.

6.2.2. Etalonare

Se injectează 10 μl din fiecare dintre soluțiile standard de conservant (4.19). Din cromatogramele obținute se determină rapoartele dintre picurile pentru soluțiile standard de conservant și picurile pentru standardul intern. Se tratează o curbă pentru fiecare conservant, punând în relație aceste rapoarte cu concentrațiile soluțiilor standard.

6.2.3. Determinare

Se injectează 10 μl soluție de probă fără standard intern (6.1.1) în cromatograf și se înregistrează cromatograma.

Se injectează 10 μl din una dintre soluțiile standard de conservant (4.19) și se înregistrează cromatograma. Se compară cromatogramele obținute.

Dacă în cromatograma extractului probă (6.1.1) nu este prezent niciun pic având aproximativ același timp de retenție ca cel corespunzător isopropilparabenului (standardul intern recomandat), se continuă prin injectarea a 10 μl soluție de probă cu standard intern (6.1.2). Se înregistrează cromatograma și se măsoară înălțimile picurilor.

Dacă se observă un pic ce interferează în cromatograma soluției probă având aproximativ același timp de retenție ca cel corespunzător izopropilparabenului, trebuie selectat alt standard intern.

Dacă unul dintre conservanții examinați este absent în cromatograma probei, acest conservant poate fi utilizat ca standard intern alternativ.

Se calculează rapoartele dintre înălțimile picurilor pentru conservanții investigați și înălțimea picului intern.

Se verifică dacă pentru soluțiile standard folosite în procedura de etalonare se obține un răspuns liniar.

Se verifică dacă următoarele cerințe sunt îndeplinite de cromatogramele obținute pentru o soluție standard și soluția de probă:

- separarea picurilor celei mai prost separate perechi trebuie să fie de cel puțin 0,90 (Pentru definiția picului de separare, vezi figura 1.).

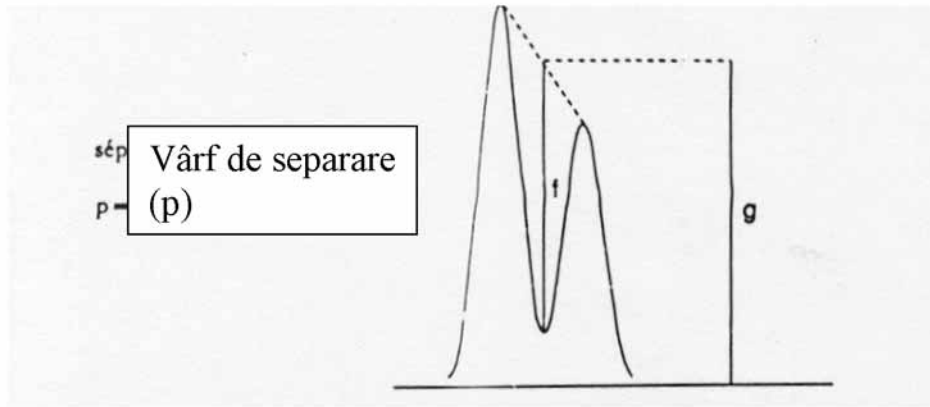


figura 1: Pic de separare

Dacă nu se realizează separarea cerută sau trebuie folosită o coloană mai eficientă sau trebuie ajustată compoziția fazei mobile până la îndeplinirea cerinței.

— Factorul de asimetrie al tuturor picurilor obținute, A_s , trebuie să fie cuprins într-un interval de la 0,9 până la 1,5. (Pentru definiția factorului de asimetrie A_s , vezi figura 2.). Pentru a înregistra cromatograma pentru determinarea factorului de asimetrie se recomandă o viteză a graficului de cel puțin 2 cm/minut.

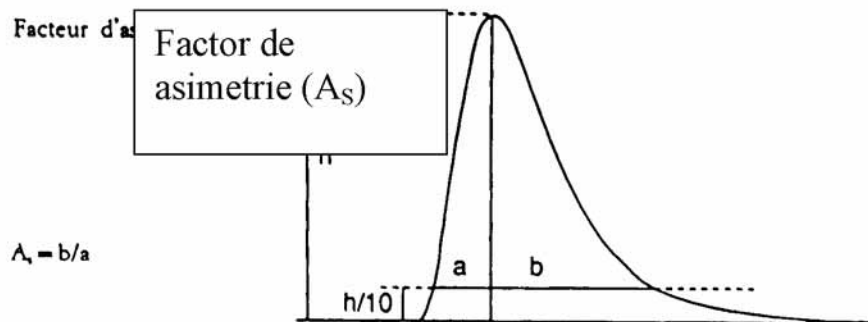


figura 2: Factor de asimetrie a picurilor

— Trebuie să se obțină o linie de bază continuă.

7. Calcul

Pentru a calcula concentrațiile conservanților în soluția de probă se folosesc curba de etalonare (6.2.2) și rapoartele dintre picurile corespunzătoare conservanților investigați și picului corespunzător standardului intern. Se calculează conținutul de 2-fenoxietanol, 1-fenoxipropan-2-ol, 4-hidroxibenzoat de metil, 4-hidroxibenzoat de etil, 4-hidroxibenzoat de propil, 4-hidroxibenzoat de butil și 4-hidroxibenzoat de benzil ca procent de masă (% m/m), folosind formula următoare:

$$\% w_i \text{ (m/m)} = \frac{b_i}{200 \times a}$$

în care:

b_i = concentrația ($\mu\text{g/ml}$) conservantului „i” în soluția analizată, citită de pe curba de etalonare și

a = masa (g) porțiunii analizate.

8. Repetabilitate⁽¹⁾

A se vedea observațiile de la punctul 10.5.

9. Reproducibilitate⁽¹⁾

A se vedea observațiile de la punctul 10.5.

⁽¹⁾ SR ISO 5725.

10. Observații

10.1. Faza staționară

Comportarea de retenție a substanțelor dizolvate în determinările HPLC este puternic dependentă de tipul, calitatea și istoria fazei staționare. Dacă o coloană poate fi folosită pentru separarea conservanților examinați, se poate concluziona din rezultatele obținute pentru soluțiile standard (vezi observații, 6.2.3.). În plus față de materialul propus pentru umplutura coloanei, s-a descoperit că sunt adecvate de asemenea și Hypersil ODS și Zorbax ODS.

Alternativ, compoziția fazei mobile recomandate poate fi optimizată în vederea obținerii separării cerute.

10.2. Lungimea de undă a detecției

Un test de rezistență pe metoda descrisă a arătat că o ușoară schimbare în lungimea de undă a detecției poate avea un efect major asupra rezultatelor determinării.

De aceea, acest parametru trebuie controlat cu atenție pe durata analizelor.

10.3. Interferențe

În condițiile descrise pentru prezenta metodă, mulți alți compuși — cum ar fi conservanții și aditivii cosmetici — sunt de asemenea eluați. Timpii de retenție ai unui mare număr de conservanți menționați în anexa VI a directivei Consiliului privind produsele cosmetice sunt enumerați în: N. de Kruijff, M.A.H. Rijk, L.A. Pranato-Soetardi și A. Schouten, (1989): Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification. (J. Chromatography 469, 317-398).

10.4. Pentru a proteja coloana analitică, se poate folosi o coloană de siguranță adecvată.

10.5. Metoda a fost cercetată într-un test în colaborare la care au participat nouă laboratoare. Au fost analizate trei probe. Următorul tabel conține, pentru fiecare dintre cele trei probe, media în % m/m (m), repetabilitățile (4) și reproductibilitățile (R) descoperite pentru substanțele analizate pe care acestea le conțin:

Probă		2-fenoxi- etanol	1-fenoxi- propan-2-ol	Metilparaben	Etilparaben	Propilparaben	Butilparaben	Benzilparaben
Cremă cu vitamine	m	1,12		0,250	0,0628	0,031	0,0906	
	r	4		0,018	0,0035	0,0028	0,0044	
	R	0,01 6 0,17 6		0,030	0,0068	0,0111	0,0034	
Cremă antirid	m	1,19		0,266	0,076			
	r	6		0,003	0,002			
	R	0,04 0 0,14 7		0,022	0,004			
Cremă de masaj	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

EDITOR: PARLAMENTUL ROMÂNIEI — CAMERA DEPUTAȚILOR

„Monitorul Oficial“ R.A., Str. Parcului nr. 65, sectorul 1, București; C.I.F. RO427282,
IBAN: RO55RNCB0082006711100001 Banca Comercială Română — S.A. — Sucursala „Unirea“ București
și IBAN: RO12TREZ7005069XXX000531 Direcția de Trezorerie și Contabilitate Publică a Municipiului București
(alocat numai persoanelor juridice bugetare)

Tel. 318.51.29/150, fax 318.51.15, E-mail: marketing@ramo.ro, Internet: www.monitoruloficial.ro

Adresa pentru publicitate: Centrul pentru relații cu publicul, București, șos. Panduri nr. 1,
bloc P33, parter, sectorul 5, tel. 411.58.33 și 410.47.30, fax 410.77.36 și 410.47.23

Tiparul: „Monitorul Oficial“ R.A.



5 948368 204089