

СЛУЖБЕН ВЕСНИК НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

Број 87

Год. LXVI

Петок, 2 јули 2010

Цена на овој број е 280 денари

www.slvesnik.com.mk

contact@slvesnik.com.mk



СОДРЖИНА

	Стр.		Стр.
1581. Указ за поставување на вонреден и ополномоштен амбасадор на Република Македонија и Шеф на мисијата на Република Македонија при Европската Унија.....	2	1585. Правилник за формата и содржината на евиденцијата за секоја употребена единица крв и крвни компоненти.....	170
1582. Указ за поставување на вонреден и ополномоштен амбасадор на Република Македонија во Црна Гора.....	2	1586. Решение за стапување во примена на востановен катастар на недвижности..	175
1583. Правилник за методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ*.....	2	1587. Решение за стапување во примена на востановен катастар на недвижности..	175
1584. Правилник за формата и содржината на документацијата во процесот на употребата на крвта, обрасците и постапката за известување за појава на сериозно неповолните настани и реакции од употребената крв и крвни компоненти*.....	163	1588. Решение за конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности.....	175
		1589. Решение за конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности.....	175
		1590. Решение за конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности.....	175
		Огласен дел.....	1-16

**ПРЕТСЕДАТЕЛ НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА
1581.**

Врз основа на член 84, алинеја втора од Уставот на Република Македонија („Службен весник на Република Македонија“ бр. 52/91), донесувам

У К А З**ЗА ПОСТАВУВАЊЕ НА ВОНРЕДЕН И ОПОЛНОМОШТЕН АМБАСАДОР НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА И ШЕФ НА МИСИЈАТА НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА ПРИ ЕВРОПСКАТА УНИЈА****I**

Г-дин Никола Попоски, се поставува на должноста вонреден и ополномоштен амбасадор на Република Македонија и Шеф на Мисијата на Република Македонија при Европската Унија, со седиште во Брисел.

II

Министерот за надворешни работи ќе го изврши овој указ.

III

Овој указ влегува во сила со денот на објавувањето во „Службен весник на Република Македонија“.

Указ број 65
1 јули 2010 година
Скопје

Претседател
на Република Македонија,
д-р **Ѓорге Иванов**, с.р.

1582.

Врз основа на член 84, алинеја втора од Уставот на Република Македонија („Службен весник на Република Македонија“ бр. 52/91), донесувам

У К А З**ЗА ПОСТАВУВАЊЕ НА ВОНРЕДЕН И ОПОЛНОМОШТЕН АМБАСАДОР НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА ВО ЦРНА ГОРА****I**

Г-дин Александар Василевски, се поставува на должноста вонреден и ополномоштен амбасадор на Република Македонија во Црна Гора, со седиште во Подгорица.

II

Министерот за надворешни работи ќе го изврши овој указ.

III

Овој указ влегува во сила со денот на објавувањето во „Службен весник на Република Македонија“.

Указ број 66
1 јули 2010 година
Скопје

Претседател
на Република Македонија,
д-р **Ѓорге Иванов**, с.р.

МИНИСТЕРСТВО ЗА ЗДРАВСТВО**1583.**

Врз основа на член 20 став 2 од Законот за безбедност на козметичките производи („Службен весник на Република Македонија“ бр. 55/07), министерот за здравство донесе

П Р А В И Л Н И К**ЗА МЕТОДИТЕ ЗА АНАЛИЗА НЕОПХОДНИ ЗА ПРОВЕРКА НА СОСТАВОТ НА КОЗМЕТИЧКИОТ ПРОИЗВОД*****Член 1**

Со овој правилник се пропишуваат методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, како и рамките и границите на нивната употреба.

Член 2

Проверката на составот на козметичките производи започнува со земање на мостри од козметичките производи и нивна лабораториска подготовка.

Идентификацијата и определувањето на содржината на слободните натриумови и калиумови хидроксида во козметичките производи за исправање на коса и препарати за растворање на кутикулите на ноктите се врши со метод на титрација.

Идентификацијата и определувањето на содржината на оксална киселина и нејзините алкални соли во производите за нега на коса се врши со метод на таложење.

Определувањето на содржината на хлороформ во пастите за заби се врши со метод на гасна хроматографија.

* Со овој правилник се врши усогласување со Првата директива 80/1335/ЕЕЗ на Комисијата од 22 декември 1980 година за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31980L1335, Втората директива 82/434/ЕЕЗ на Комисијата од 14 мај 1982 за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31982L0434, Третата Директива 83/514/ЕЕЗ на Комисијата од 27 септември 1983 за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31983L0514, Четвртата директива 85/490/ЕЕЗ на Комисијата од 11 октомври 1985 година за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31985L0490, Петта Директива 93/73/ЕЕЗ на Комисијата од 9 септември 1993 за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31993L0073, Шеста директива 95/32/ЕЗ на Комисијата од 7 јули 1995 за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31995L0032, Седма директива 96/45/ЕЗ на Комисијата од 2 јули 1996 за приближување на законодавството на земјите членки во однос на методите за анализа неопходни за проверка на составот на козметичкиот производ, број 31996L0045.

Определувањето на содржината на цинк во козметичките производи се врши со метод на гравиметрија.

Идентификацијата на 4-хидроксibenзесулфонска киселина во козметичките производи се врши со метод на тенко-слојна хроматографија, а определувањето на содржина со јодометриски метод.

Земањето мостри од козметичките производи и лабораториската подготовка на мострите, како и методите од ставовите 2, 3, 4, 5 и 6 на овој член се дадени во Прилог бр.1, кој е составен дел на овој правилник.

Член 3

Идентификацијата на оксидирачките агенси: персулфатите, броматите, водород пероксидот и бариум пероксид во производи за нега на коса се врши со метод на хроматографија на хартија.

Определувањето на содржината на водороден пероксид во производи за нега на коса се врши со метод на јодометрија.

Идентификацијата и полуквантитативното определување на содржината на одредени оксидациски бои во бои за коса се врши со метод на тенкослојна хроматографија.

Идентификацијата на нитрити во козметички производи се врши со метод на формирање на обоени деривати со нитрин, а определувањето на нивната содржина се врши со метод на спектрофотометрија.

Идентификацијата на слободен формалдехид се врши со метод на колориметрија, а определувањето на содржината на формалдехид во козметичките производи се врши со метод на спектрофотометрија или со метод на титрација.

Определувањето на содржината на резорцинол во шампони и лосиони за коса, и на метанол во однос на етанол или пропан-2-ол во козметичките производи се врши со метод на гасна хроматографија.

Методите од ставовите 1, 2, 3, 4, 5 и 6 на овој член се дадени во Прилог бр.2, кој е составен дел на овој правилник.

Член 4

Определувањето на содржината на дихлорометан и 1,1,1-трихлороетан во козметичките производи се врши со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на хинолин-8-ол и бис (8-хидроксихинолиниум) сулфат во козметичкиот производ се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на спектрофотометрија.

Определување на содржината на амонијак во козметичкиот производ се врши со метод на таложење и титрација.

Идентификацијата на нитрометан во козметичкиот производ се врши со метод на реакција на боја, а определувањето на содржина се врши со метод на јодометрија или со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на меркаптооцетна киселина во производи за кадрење на косата, исправање на косата и производи за депилирање се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на хексахлорофен во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на гасна хроматографија.

Квантитативното определување на содржината на тосилхлорамид натриум во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија.

Определувањето на содржината на вкупен флуор во кремите за заби се врши со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на органските соединенија на жива употребени како конзерванси во козметичките производи за очи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на беспламена атомска апсорпција.

Определувањето на содржината на алкални и земнолакални сулфиди во козметичките производи се врши со метод на јодометрија.

Методите од ставовите 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 на овој член се дадени во Прилог бр.3, кој е составен дел на овој правилник.

Член 5

Идентификацијата на глицерол 1-(4-аминобензоат) во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Определувањето на содржината на хлоробутанол во козметичките производи се врши со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на хинин во шампони и лосиони за коса се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Идентификување на неоргански сулфити и хидроген сулфити во козметичките производи се врши со органолептички метод, а определувањето на содржината се врши со метод на титрација. Идентификацијата на хлорати во пастите за заби и во другите козметички производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на потенциометриска титрација.

Идентификацијата на натриум јодат во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Методите од ставовите 1, 2, 3, 4, 5 и 6 на овој член се дадени во Прилог бр.4, кој е составен дел на овој правилник.

Член 6

Идентификацијата на сребро нитрат во козметичките производи се врши со метод на таложее, а определувањето на содржината се врши со метод на атомска апсорпциона спектрофотометрија.

Идентификацијата на селен дисулфид во шампони против првут се врши со метод на боее, а определувањето на содржината се врши со метод на атомската апсорпциона спектрофотометрија.

Определувањето на содржината на растворлив баприум и стронциум во пигменти во форма на соли или лакови се врши со метод на атомска апсорпциона спектрофотометрија.

Идентификацијата и определувањето на содржината на бензил алкохол во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија.

Идентификацијата на циркониум во неаеросолни антиперспиранти се врши со метод на таложее, а определувањето на содржината на циркониум се врши со метод на пламена атомска апсорпциона спектрофотометрија.

Определувањето на содржина на алуминиум во неаеросолни антиперспиранти се врши со метод на пламена атомска апсорпциона спектрофотометрија.

Определувањето на содржината на хлор во неаеросолни антиперспиранти се врши со метод на потенциометриска титрација.

Идентификацијата и определувањето на содржината на хексамидин, дибромохексамидин, дибромпропамидин и хлорхексидин во козметичките производи се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Методите од ставовите 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 на овој член се дадени во Прилог бр.5, кој е составен дел на овој правилник.

Член 7

Идентификацијата на бензоева киселина, 4-хидробензоева киселина, сорбинска киселина, салицилна киселина и пропионска киселина во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија.

Определувањето на содржината на 4-хидробензоева киселина, сорбинска киселина и салицилна киселина во козметичките производи се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Определувањето на содржината на пропионска киселина во козметичките производи се врши со метод на гасна хроматографија.

Идентификацијата на хидрохинон, хидрохинон моноетилетер, хидрохинон моноетилетер и хидрохинон монобензилетер во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Методите од ставовите 1, 2, 3 и 4 на овој член се дадени во Прилог бр.6, кој е составен дел на овој правилник.

Член 8

Идентификацијата на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, и метил, етил, пропил, бутил и бензил 4-хидроксibenзоат во козметичките производи се врши со метод на тенкослојна хроматографија, а определувањето на содржината се врши со метод на течна хроматографија под висок притисок.

Методите од став 1 на овој член се дадени во Прилог бр.7, кој е составен дел на овој правилник.

Член 10

Овој правилник влегува во сила наредниот ден од денот на објавувањето во „Службен весник на Република Македонија“.

Бр. 07-5262/2
2010 година
Скопје

Министер,
д-р Бујар Османи, с.р.

Прилог бр.1

I. ЗЕМАЊЕ МОСТРИ ОД КОЗМЕТИЧКИТЕ ПРОИЗВОДИ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Постапката за земање мостри од козметичките производи е опишана во поглед на нивната анализа во различни лаборатории.

2. ДЕФИНИЦИИ

- 2.1. Основна мостра: единица земена од серија понудена за продажба.
- 2.2. Вкупна мостра: збир од сите основни мостри со ист број на серија.
- 2.3. Лабораториска мостра: репрезентативен дел од вкупната мостра кој треба да се анализира во индивидуални лаборатории.
- 2.4. Дел за тестирање: репрезентативен дел од лабораториската мостра потребен за една анализа.
- 2.5. Сад: артикл во кој е содржан производот и продолжува да биде во контакт со него.

3. ПОСТАПКА ЗА ЗЕМАЊЕ МОСТРИ

- 3.1. Мострите од козметичките производи се земаат во нивните оригинални сад, а до аналитичките лаборатории се проследуваат неотворени.
- 3.2. За козметички производи кои се пуштаат во промет на големо или на мало во контејнер поинаков од оригиналното пакување на производителот, се издаваат соодветни инструкции за земање мостри на местото на употреба или на местото на продажба.
- 3.3. Бројот на основни мостри потребни за изготвување на лабораториска мостра се одредува со аналитички метод, како и бројот на анализи што треба да бидат извршени во секоја лабораторија.

4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА МОСТРАТА

- 4.1. Мострите се запечатуваат онаму каде се земаат и онаму каде се идентификуваат, во согласност со правилата на сила во секоја релевантна земја-членка.
- 4.2. Секоја земена основна мостра се означува со следниве информации:
 - името на козметичкиот производ,
 - датумот, времето и местото на земање на мострата,
 - името на лицето одговорно за земање на мострата,
 - името на инспекторатот.
- 4.3. Извештајот за земање на мострите се изготвува во согласност со правилата во сила во релевантна земја-членка.

5. СКЛАДИРАЊЕ НА МОСТРИТЕ

- 5.1. Основните мостри се складираат во согласност со инструкциите на производителот кои се појавуваат на етикетата доколку ги има.
- 5.2. Доколку не се специфицирани поинакви услови, лабораториските мостри се складираат на темно место на температура помеѓу 10 и 25°C.
- 5.3. Основните мостри не треба да се отвораат сè до започнување на анализите.

II. ЛАБОРАТОРИСКА ПОДГОТОВКА НА ДЕЛОВИТЕ ЗА ТЕСТИРАЊЕ

1. ОПШТО

- 1.1. Кога тоа е возможно, анализата се врши врз секоја основна мостра. Ако основната мостра е премногу мала, треба да се употреби минималниот број на основни моистри. Пред земање на делот за тестирање, тие треба темелно да се промешаат.
- 1.2. Отворањето на контејнерот (садот) под инертен гас, доколку така е специфицирано во аналитичкиот метод, и издвојувањето на потребниот број делови за тестирање, се прави колку што е можно побрзо. Оттаму анализата треба да продолжи со најмало можно оддолжување. Доколку мострата треба да се зачува, контејнерот (садот) повторно се запечатува под инертен гас.
- 1.3. Козметичките производи можат да се подготват во течна, цврста или во полуцврста форма. Доколку дојде до одделување на почетен хомоген производ, пред земање на делот за тестирање, истиот треба повторно да се хомогенизира.
- 1.4. Доколку козметичкиот производ се пушта во продажба на посебен начин, поради што не може да се третира во согласност со овие инструкции и ако нема (не постојат) одредби за релевантните методи на прегледување, може да се усвои оригинална постапка, доколку таа е писмено утврдена како дел од извештајот за анализа.

2. ТЕЧНОСТИ

- 2.1. Овие можат да се појават во вид на производи како раствори во масло, во алкохол и вода, тоалетни води, лосиони или млека и може да се спакувани во колби, шишиња, ампули или туби.
- 2.2. Извлекување на дел за тестирање
 - добро протресете го контејнерот (садот) пред отворање,
 - отворете го контејнерот(садот),
 - истурете неколку милилитри од течноста во епрувета за визуелен преглед на неговите карактеристики за земање дел за тестирање,
 - повторно запечатете го контејнерот (садот), или
 - извлекете го потребниот дел за тестирање,
 - повторно, внимателно запечатете го контејнерот (садот).

3. ПОЛУЦВРСТИ

- 3.1. Овие може да се појават во вид на производи како пасти, креми, густе емулзии и гелови и може да се пакуваат во туби, пластични шишиња или тегли.
- 3.2. Извлекување на дел за тестирање:
 - 3.2.1. од контејнери со тесно грло. Исфрли го најмалку првиот сантиметар од производот. Извлечи го делот за тестирање и веднаш повторно запечатете го контејнерот (садот);
 - 3.2.2. од контејнери(садови) со широко грло. Рамномерно изгребете ја површината за да го отстраните горниот слој. Земете дел за тестирање и веднаш повторно запечатете го контејнерот (садот).

4. ЦВРСТИ

4.1. Овие може да се појават во вид на производи како пудри за продажба на големо, цврсти пудри, стапче и може да се спакувани во различни садови.

4.2. Извлекување на дел за тестирање:

4.2.1. од пудри за продажба на големо - добро протресете пред одзатнување или пред отворање. Отворете и одделете го делот за тестирање.

4.2.2. од цврсти пудри или стикови - отстранете го површинскиот слој со еднакво гребење. Делот за тестирање го земате од под површинскиот слој.

5. ПРОИЗВОДИ ВО ПАКУВАЊА ПОД ПРИТИСОК ('аеросолни диспензери')

5.1. Овие производи се дефинирани во член 2 од Директивата 75/324/ЕЕЗ на Советот од 20 мај 1975[†].

5.2. Дел за тестирање:

После добро протресување, репрезентативното количество од содржината од аеросолен диспензер се пренесува со помош на соодветен конектор (види на пример слика 1: во специфични случаи аналитичкиот метод може да бара употреба на други конектори) во стаклено шише обложено со пластика (слика 4) затворено со аеросолен вентил но не се затворени со цевка-црпалка. При преносот, шишето се држи со вентилот надолу. Овој пренос овозможува јасно видлива содржина соодветно на еден од следниве четири случаи:

5.2.1. Аеросолен производ во вид на хомоген раствор за директна анализа.

5.2.2. Аеросолен производ кој се состои од две течни фази. Секоја фаза може да се анализира по одделување на пониската фаза во второто преносно шише. Во овој случај првото преносно шише се држи со вентилот надолу. Во таков случај пониската фаза е честопати водена фаза и ослободена од потиснувач (на пр. формулација бутан/вода).

5.2.3. Аеросолен производ кој содржи пудер во раствор. Течната фаза може да се анализира по отстранување на пудерот.

5.2.4. Пена или кремост производ. Прво, во преносното шише, одмерете точно 5 до 10 грами 2-метоксиетанол. Оваа супстанција спречува пенење при операцијата на отстранување на гасот и тогаш е возможно да се отстрани потисниот гас без загуба на течноста.

5.3. Прибор

Конекторот (слика 1) е направен од дуралумин или од месинг. Дизајниран е на начин да одговара на различни вентилни системи преку полиетиленски адаптер. Истиот е даден како пример: може да се користат и други конектори. (види слика 2 и 3).

Преносното шише (слика 4) е направено од бело стакло кое од надворешната страна е обложено со заштитен слој од просирен пластичен материјал. Тоа собира 50 до 100 ml. Затворено е со аеросолен вентил без цевка-црпалка.

5.4. Метод

[†] OJ No L 147, 9.6.1975, стр. 40.

За да се пренесат доволно моистри, воздухот од преносното шише треба да е истисне. За оваа цел, низ конекторот внесете околу 10 ml дихлородифлуорометан или бутан (во зависност од аеросолниот производ кој треба да се испитува) и тогаш потполно истиснете го гасот сè додека течната фаза не исчезне, држејќи го преносното шише со вентилот нагоре. Отстранете го конекторот. Измерете го преносното шише ('a' грами). Добро протресете го аеросолниот диспензер од којшто се зема мострата. Прицврстете го конекторот со вентилот од аеросолниот контејнер на мострата (вентилот нагоре), поврзете ја преносната колба (отворот надолу) со конекторот и притиснете. Наполнете го преносното шише до околу две третини. Доколку процесот престане предвреме поради изедначување на притисокот, ова може да предизвика разладување на преносното шише. Отстранете го конекторот, измерете го наполнетото шише ('b' грами) и одредете ја тежината на пренесената аеросолна мостра, m_1 ($m_1=b-a$).

Мострата добиен на овој начин може да се користи:

1. за нормална хемиска анализа;
2. за анализа на испарливи компоненти со гасна хроматографија.

5.4.1. Хемиска анализа

Држејќи го преносното шише со вентилот нагоре, продолжете како што следува:

- дегазирање. Доколку операцијата на дегазирање предизвикува запенување, употребете преносно шише во кое претходно е внесено точно измерено количество (5 до 10 g.) 2-метоксиетанол со шприц преку конекторот,
- завршете со отстранување на испарливи составни делови без загуба со протресување во водена бања на 40°C. Отстранете го конекторот,
- повторно измерете го преносното шише ('c' грами) за да се одреди тежината на остатокот m_2 ($m_2=c-a$).
(Забелешка: При пресметување на тежината на остатокот, одбиете ја тежината на секој употребен 2-метоксиетанол.)
- отворете го транспортното шише со отстранување на вентилот,
- потполно растворете го остатокот со веќе познато количество на соодветен растворувач,
- извршете го саканото одредување на точно саканиот дел.

Формули за пресметка се:

$$R = \frac{r \cdot m_2}{m_1} \quad \text{и} \quad Q = \frac{R \cdot P}{100}$$

каде:

m_1 = маса на аеросолот земена во преносното шише;

m_2 = маса на остатокот по загревање на 40°C;

r = процент од конкретна супстанција во m_2 (одреден според соодветен метод);

R = процент од конкретна супстанција во аеросолниот диспензер;

Q = вкупната маса на конкретна супстанција во аеросолниот диспензер;

P = нето маса на почетниот аеросолен диспензер (основна мостра).

5.4.2. Анализа на испарливи компоненти со гасна хроматографија

5.4.2.1 Начело

Употребувајќи гасен-хроматографски шприц, земете соодветно количество од преносното шише. Тогаш инјектирајте ја содржината од шприцот во гасниот-хроматограф..

5.4.2.2 Прибор

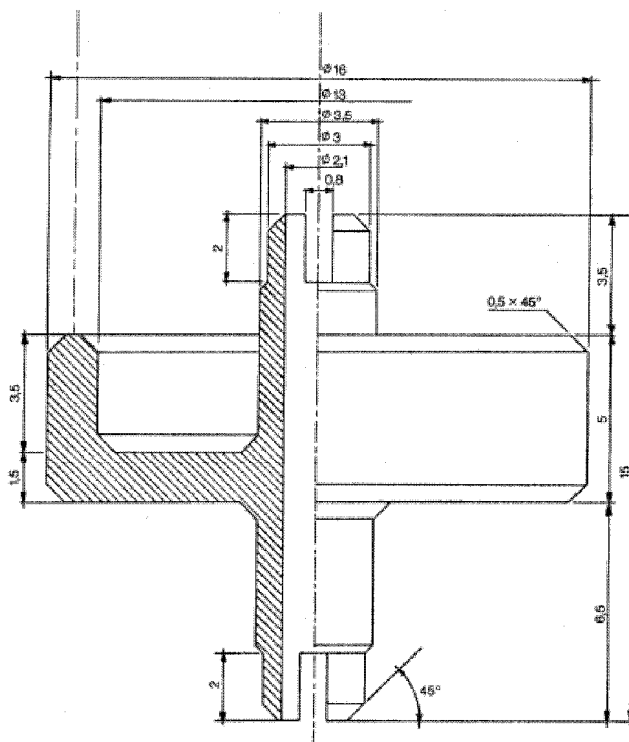
Серија А2 'прецизно земање на мостри' шприц за гасна-хроматографија од 25 μ l или 50 μ l (слика 5) или соодветен. Шприцот е опремен со граничник во делот кон иглата. Шприцот е поврзан со преносното шише со конектор на шишето и полиетиленска цевка (должина 8 mm, внатрешен дијаметар 2-5 mm) на шприцот.

5.4.2.3 Метод

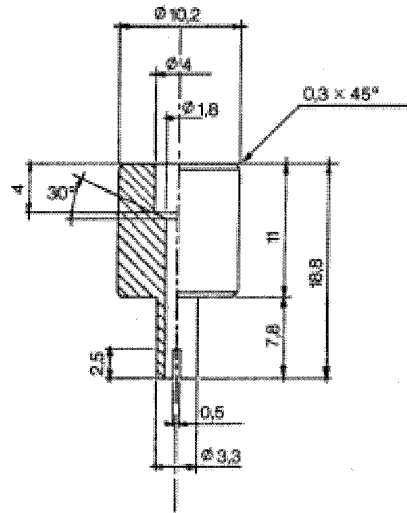
Откако соодветно количество од аеросолниот производ ќе се земе во преносното шише прицврстете го конусниот дел од шприцот со преносното шише како што е опишано во 5.4.2.2. Отворете го вентилот и внесете доволно количество течност. Отстранете ги меурчињата гас со поместување на клипот неколку пати (доколку е потребно оладете го шприцот). Затворете го вентилот кога во шприцот име соодветно количество течност ослободено од меурчињата и тргнете го шприцот од преносното шише. Зацврстете ја иглата, внесете го шприцот во гасниот хроматографски инјектор, отворете го вентилот и инјектирајте.

5.4.2.4 Внатрешен еталон

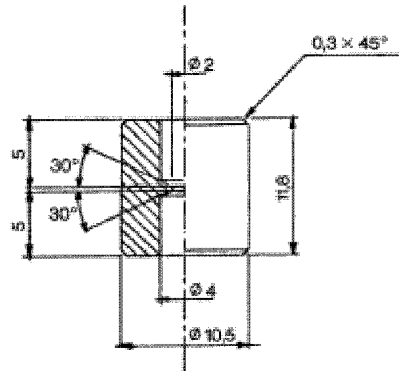
Доколку се бара внатрешен еталон, истиот се воведува во преносното шише (преку обичен стаклен шприц користејќи конектор).



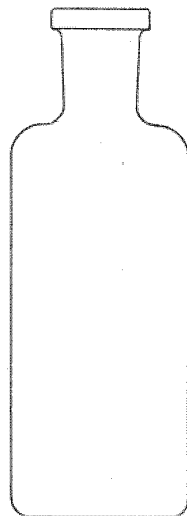
Сл. 1. Конектор P1



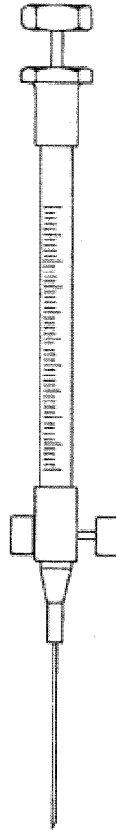
Сл. 2. Конектор M2 за пренос помеѓу машки и женски вентил



Сл. 3. Конектор M1 за пренос помеѓу два машки вентили



Сл. 4. Преносно шише. Капацитет од 50 до 100 ml



Сл. 5. Шприц за гас под притисок

III. МЕТОД НА ТИТРАЦИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА И ИДЕНТИФИКУВАЊЕ НА СЛОБОДНИТЕ НАТРИУМ И КАЛИУМ ХИДРОКСИД

- 1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА**

Методот ја специфицира постапката за идентификување на козметичките производи кои содржат значително количество слободни натриумови и/или калиумови хидроксида и за одредување на таквите слободни натриумови и/или калиумови хидроксида во препарати за исправање на коса и препарати за растворање на кутикулите на ноктите.
- 2. ДЕФИНИЦИЈА**

Слободниот натриумов и/или калиумов хидроксид е дефиниран со количеството на еталонска киселина потребна за неутрализирање на производот под конкретни услови, а количеството кое ќе резултира е изразено како %m/m слободен натриум хидроксид.
- 3. НАЧЕЛО**

Мострата се раствора или дисперзира во вода и титрира со еталонска киселина. рН вредноста се забележува истовремено со додавање на киселина: за едноставен раствор од натриумови или калиумови хидроксида крајната точка е јасна со забележената максимална стапка на промена на рН вредност.

Простата крива на титрација може да биде нарушена со присуство на:

- (а) амониум и други слаби органски бази, кои имаат развлечена крива на титрирање. Амониумот се отстранува во методот преку испарување при намален притисок но на собна температура;
- (б) соли на слаби киселини, кои можат да ја издигнат кривата на титрирање со неколку точки на инфлексија (превој). Во такви случаи единствено првиот дел од кривата до првиот превој соодветствува со неутрализацијата на хидроксилниот јон кој произлегува од натриумовиот или калиумов хидроксид.

Алтернативна постапка за титрација во алкохол е дадена онаму каде се покажува прекумерно вмешување на соли од слаби неоргански киселини.

Иако постои теоретска можност дека други растворливи силни бази, на пример литиум хидроксид, кватернарен амониумов хидроксид, може да се присутни, и да доведат до зголемување на рН вредноста., постои мала веројатност да се присутни во овој вид на козметички производи.

4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

4.1. Реагенси

- 4.1.1. Еталонски алкален пуфер раствор рН 9,18 на 25°C: 0, 05 М натриум тетраборат декахидрат.

4.2. Апаратура

- 4.2.1. Вообичаена лабораториска стаклена опрема
- 4.2.2. рН метар
- 4.2.3. Стаклена мембранска електрода
- 4.2.4. Еталонска каломелова референтна електрода.

4.3. Постапка

Калибрирајте го рН метарот со електродите употребувајќи еталонски алкален пуфер раствор. Пригответе 10% раствор и дисперзија од производот кој треба да се анализира во вода и филтрирајте. Измерете ја рН вредноста. Доколку рН вредноста е 12 или повеќе треба да се изврши квантитативно одредување.

5. ОДРЕДУВАЊЕ

5.1. Титрирање во водена средина

5.1.1. Реагенс

- 5.1.1.1 Еталонска 0,1 N хлороводородна киселина

5.1.2. Апаратура

- 5.1.2.1 Вообичаена лабораториска стаклена опрема
- 5.1.2.2 рН метар по можност со пишувач
- 5.1.2.3 Стаклена мембранска електрода
- 5.1.2.4 Еталонска каломелова референтна електрода.

5.1.3. Постапка

Во 150 милилитарска лабораториска чаша точно измерете дел за тестирање помеѓу 0,5 и 1,0 грами. Доколку има амониум додадете неколку гранули за вриење, поставете ја лабораториската чаша во вакуумски

ексикатор, евакуирајте употребувајќи водена пумпа сè додека мирисот на амониум не се чувствува (околу три часа).

Додадете 100 ml вода, растворете или дисперзирајте го остатокот и титрирајте со раствор од 0,1 N хлороводородна киселина (5.1.1.1) забележувајќи ја промената на рН вредноста (5.1.2.2).

5.1.4 Пресметка

Означете ги точките на инфлексија на кривата за титрација. Кога се појавува првата точка на инфлексија на рН вредност под 7, мострата е ослободен од натриумов или калиумов хидроксид.

Кога има две или повеќе точки на инфлексија на кривата, релевантна е само првата.

Забележете го волуменот на титрант на оваа прва точка на инфлексија.

V го претставува овој волумен на титрант во ml,

M ја претставува тежината на делот за тестирање, во грами.

Содржината на натриумови или калиумови хидроксида во мострата изразена како % m/m од натриумов хидроксид се пресметува со формулата:

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

Може да се појават и ситуации кога и покрај показателите за присуство на значителни количества на натриумови или калиумови хидроксида, кривата на титрирање не успева да покаже изразена точка на инфлексија. Во таков случај одредувањето треба да се повтори во изопропанол.

5.2. Титрирање во изопропанол

5.2.1. Реагенси

5.2.1.1 Изопропанол

5.2.1.2 Еталонска 1,0 N водена хлороводородна киселина

5.2.1.3 0,1 N водена хлороводородна киселина во изопропанол приготвена веднаш пред употреба со разредување на 1,0 N водена хлороводородна киселина со изопропанол.

5.2.2. Апаратура

5.2.2.1 Вообичаена лабораториска стаклена опрема

5.2.2.2 рН метар по можност со пишувач

5.2.3.3 Стаклена мембранска електрода

5.2.3.4 Еталонска каломелова референтна електрода.

5.2.3. Постапка

Во 150 милилитарска лабораториска чаша точно измерете дел за тестирање помеѓу 0,5 и 1,0 грами. Доколку има амониум додадете неколку гранули за вриење, поставете ја лабораториската чаша во вакуумски ексикатор, евакуирајте употребувајќи водена пумпа сè додека мирисот на амониум престане да се чувствува (околу три часа).

Додадете 100 ml изопропанол, растворете или дисперзирајте го остатокот и титрирајте со 0,1 N хлороводородна киселина во изопропанол (5.2.1.3.) забележувајќи ја промената на рН вредноста (5.2.2.2).

5.2.4 Пресметка

Како во 5.1.4. Првата точка на инфлексија е на впечатлива рН вредност од околу 9.

5.3. Повторливост[‡]

За содржина од натриумови или калиумови хидроксида во опсег од 5% m/m како натриумов хидроксид, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,25%.

IV. МЕТОД НА ТАЛОЖЕЊЕ ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА И ИДЕНТИФИКУВАЊЕ НА ОКСАЛНА КИСЕЛИНА И НЕЈЗИНИТЕ АЛКАЛНИ СОЛИ ВО ПРОИЗВОДИ ЗА НЕГА НА КОСАТА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Методот опишан подолу е соодветен за одредување и идентификување на оксална киселина и нејзините алкални соли во производи за нега на коса. Тој може да се употребува за безбојни водени/алкохолни раствори и лосиони кои содржат околу 5% од оксална киселина или еквивалентно количество алкален оксалат.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на оксална киселина и/или нејзината алкални соли е одредена со овој метод е изразена како процент од масата (m/m) слободна оксална киселина во мострата.

3. НАЧЕЛО

По отстранување на сите анјонски површинско-активни агенси присутни со р-толуидин хидрохлорид, оксалната киселина и/или оксалтите се таложат како калциум оксалат, откако растворот е филтриран. Талогот се раствора во сулфурна киселина и се титрира со калиум перманганат.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

- 4.1. 5% (m/m) раствор на амониум ацетат
- 4.2. 10% (m/m) раствор на калциум хлорид
- 4.3. 95% (V/V) етанол
- 4.4. јаглерод тетрахлорид
- 4.5. диетил етер
- 4.6. 6,8 % (m/m) раствор на р-толуидин дихидрохлорид
- 4.7. 0,1 N раствор на калиум перманганат
- 4.8. 20% (m/m) сулфурна киселина
- 4.9. 10% (m/m) хлороводородна киселина
- 4.10. натриум ацетат трихидрат

[‡] Види ISO/DIS 5725.

- 4.11. глацијална оцетна киселина
- 4.12. сулфурна киселина (1:1)
- 4.13. заситен раствор на бариум хидроксид.

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Одделителна инка, 500 ml
- 5.2. Лабораториска чаша, 50 ml и 60 ml
- 5.3. Стаклен филтер, G-4
- 5.4. Мензура, 25 ml и 100 ml
- 5.5. Пипети, 10 ml
- 5.6. Вакуум колба, 500 ml
- 5.7. Водена млазна пумпа
- 5.8. Термометар градуиран од 0 до 100°C
- 5.9. Магнетна мешалка со греен елемент
- 5.10. Магнетна прачка за матење, обложена со тefлон
- 5.11. Бирета, 25 ml
- 5.12. Конусна колба, 250 ml

6. ПОСТАПКА

- 6.1. Измерете 6 до 7 g од мострата во 50 ml лабораториска чаша, намалете ја рН вредноста до 3 со разредена хлороводородна киселина (4.90) и префрлете ја во одделителна инка и измијте ја чашата со 100 ml дестилирана вода. Последователно додавајте 25 ml етанол (4.3), 25 ml раствор на р-толуидин дихидрохлорид (4.6) и 25 до 30 ml јаглерод тетрахлорид (4.4) и добро измешајте ја смесата.
- 6.2. По одделување на фазите, отстранете ја долната (органиката) фаза, повторете ја екстракцијата употребувајќи реagenси споменати во 6.1, и повторно отстранете ја органиката фаза.
- 6.3. Измијте го водениот раствор во 600 ml лабораториска чаша и отстранете го сè уште присутен јаглерод тетрахлорид со вриење на растворот.
- 6.4. Додадете 50 ml од раствор на амониум ацетат (4.1), зовријте го растворот (5.9) и вмешајте 10 ml врел раствор од калциум хлорид (4.2) во зовриениот раствор; дозволете талогот да слегне.
- 6.5. Проверете дали таложењето е завршено со додавање на неколку капки раствор на калциум хлорид (4.2) и оладете го на собна температура и помешајте во 200 ml етанол (4.3); (5.10) и оставете го да стои 30 минути.
- 6.6. Филтрирајте ја течноста низ стаклен филтрирачки сад (5.3), пренесете го талогот со мало количество топла вода (50 до 60°C) во сад за филтрирање и измијте го талогот со ладна вода.
- 6.7. Измијте го талогот пет пати со малку етанол (4.3) и пет пати со малку диетил етер (4.50) и растворете го талогот во 50 ml врела сулфурна киселина (4.8) со извлекување на второспоменатата низ сад за филтрирање под намален притисок.
- 6.8. Пренесете го растворот без загуби во конусна колба (5.11) и титрирајте со раствор од калиум перманганат (4.7) сè додека не се појави светло розова боја.

7. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Содржината на мострата изразена како процент од масата оксална киселина се пресметува со формулата

$$\% \text{ оксална киселина} = \frac{A \cdot 4,50179 \cdot 100}{E \cdot 1000}$$

каде:

- A е потрошувачката на 0,1 N калиум перманганат измерена во согласност со 6.8;
E е количеството за тест на мострата во грами (6.1);
4,50179 е фактор на конверзија за оксална киселина.

8. ПОВТОРЛИВОСТ[§]

За оксална киселина со содржина од околу 5% разликата меѓу резултатите на двете одредувања вршени паралелно врз иста мостра не треба да ја надминуваат апсолутната вредност од 0,15%.

9. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

9.1. Начело

Оксалната киселина и/или оксалатите се таложат како калциум оксалат и се раствораат во сулфурна киселина. На растворот му се додава малку раствор од калиум перманганат, кој станува безбоен и предизвикува создавање на јаглерод диоксид. Кога добиениот јаглерод диоксид ќе помине низ раствор од бариум хидроксид се формира бел талог (со боја на млеко) од бариум карбонат.

9.2. Постапка

- 9.2.1. Третирајте дел од мострата која треба да се анализира како што е опишано во дел 6.1 до 6.3; ова ќе ги отстрани сите присутни детергенти.
9.2.2. Со врвот од шпатула додадете натриум ацетат (4.10) во околу 10 ml раствор добиен во согласност со 9.2.1 и закиселете го растворот со неколку капки глацијална оцетна киселина (4.11).
9.2.3. Додадете 10% раствор од калциум хлорид (4.2) и филтрирајте. Растворете го талогот од калциум оксалат во 2 ml од сулфурна киселина (1:1) (4.12).
9.2.4. Пренесете го растворот во епрувета и додадете во капки 0,5 ml 0,1 N раствор од калиум перманганат (4.7). Доколку има присуство на оксалат, растворот ја губи бојата во почетокот постепено а подоцна рапидно.
9.2.5. Веднаш по додавање на калиум перманганат, поставете на епруветата тапа низ која минува соодветна стаклена цевка, полека загревајте ја содржината и соберете го создадениот јаглерод диоксид во заситен раствор на бариум хидроксид (4.13). По три до пет минути, изгледот на млечно замаглен бариум карбонат укажува на присуство на оксална киселина.

V. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХЛОРОФОРМ ВО ПАСТА ЗА ЗАБИ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод се употребува за одредување на хлороформ во паста за заби со гасна хроматографија. Овој метод е соодветен за одредување на хлороформ за ниво од 5% и помалку.

[§] Види ISO/DIS 5725.

2. **ДЕФИНИЦИЈА**
Содржината на хлороформ одредена со овој метод е изразена како процент од масата на производот.
3. **НАЧЕЛО**
Паста за заби е растворена во мешавина на диметилформаид/метанол на која се додава одредено количество ацетонитрил како внатрешен еталон. По центрифугирање, течната фаза се испитува со гасна хроматографија и се пресметува количеството на хлороформна содржина.
4. **РЕАГЕНСИ**
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота
 - 4.1. Порапак Q, Хромосорб 101 или негов еквивалент, гранулација 80 до 100 меша
 - 4.2. Ацетонитрил
 - 4.3. Хлороформ
 - 4.4. Диметилформаид
 - 4.5. Метанол
 - 4.6. Внатрешен еталонски раствор
Пипетирајте 5 ml диметилформаид (4.4) во еталонска колба од 50 ml и додадете околу 300 mg (M mg) ацетонитрил, прецизно измерени. Дополнете до ознаката со диметилформаид и мешајте.
 - 4.7. Раствор за одредување на факторот на релативниот одговор. Со пипета измерете точно 5 ml од интерниот еталонски раствор (4.6) во еталонска колба од 10 ml и додадете околу 300 mg (M1 mg) прецизно измерен хлороформ. Дополнете до ознаката со диметилформаид и мешајте.
5. **АПАРАТУРА И ОПРЕМА**
 - 5.1. Аналитичка вага
 - 5.2. Гасен хроматограф со пламено-јонизационен детектор
 - 5.3. Микрошприц со капацитет од 5 до 10 μ l со поделеност од 0,1 μ l.
 - 5.4. Главичести („трбушести“) пипети со капацитет од 1, 4 и 5 ml.
 - 5.5. Одмерни колби, 10 и 50 ml.
 - 5.6. Епрувети од приближно 20 ml со капаче на завртка, Совирел, Франција (Sovirel, France) бр. 20 или негов еквивалент. Капачето на завртката има внатрешна заптивна плоча од едната страна обложена со тефлон.
 - 5.7. Центрифуга.
6. **ПОСТАПКА**
 - 6.1. Соодветни услови за гасна хроматографија
 - 6.1.1. Колона: стаклена
должина: 150 cm.
внатрешен дијаметар: 4 mm
надворешен дијаметар: 6 mm.
 - 6.1.2. Со вибрирање спакувајте ја колоната со кисел Порапак Q, Хромосорб 101 или негов еквивалент, гранулација 80 до 100 меша (4.1).
 - 6.1.3. Детектор, пламена јонизација: прилагодете ја неговата чувствителност така што кога 3 μ l од растворот во 4.7 е инјектиран, височината на највисоката точка на ацетонитрилот е околу тричетвртинско отклонување од целата скала.
 - 6.1.4. Гасови:

Носач, азот, стапка на проток 65 ml/min.

Помошно: прилагодете го протокот на гасовите до детекторот така што протокот на воздух или кислород е пет до десет пати од оној на водородот.

6.1.5. Температура:

инјекторен блок	210 °C
детекторен блок	210 °C
печката со колона	175 °C

6.1.6. Брзина на хартијата:
околу 100 cm на час.

6.2. Приготвување на мострата

Мострата за анализа земете го од неотворена туба. Отстранете една третина од содржината, заменете го капачето на цевката, измешајте внимателно во тубата и тогаш земете го делот за тестирање.

6.3. Одредување

6.3.1. Во епрувета со капаче со завртка (5.6) измерете со точност до 10 mg, 6 до 7 g (Mo g) паста за заби приготвена во согласност со дел 6.2. и додадете три мали стаклени топчиња.

6.3.2. Со пипета земете точно 5 ml од внатрешен еталонски раствор (4.6), 4 ml диметилформаид (4.4) и 1 ml метанол (4.5) и ставете ги во епрувета, затворете ја епруветата и измешајте.

6.3.3. Мешајте половина час со механички миксер(мешалка) и центрифугирајте ја затворената епрувета 15 минути на таа брзина за да дојде до јасно одделување на фазите.

Забелешка: Понекогаш се случува течната фаза и по центрифугирањето сè уште да е матна. Мало подобрување може да се добие со додавање на 1 до 2 g натриум хлорид на течната фаза, се остава да се смири и повторно се центрифугира.

6.3.4. Инјектирајте 3 µl од овој раствор (6.3.3) под услови опишани во 6.1. Повторете ја оваа операција. Во услови опишани погоре следниве времиња на задржувања можат да се дадат како вредности:

метанол	приближно една минута
ацетонитрил	приближно 2-5 минути
хлороформ	приближно 6 минути
диметилформаид	> 15 минути

6.3.5. Одредување на факторот на релативен одговор

Инјектирајте 3 µl од растворот 4.7 за одредување на овој фактор. Повторете ја оваа операција. Дневно одредувајте го факторот на релативен одговор.

7. ПРЕСМЕТКИ

7.1. Пресметување на релативниот одговор

7.1.1. Измерете ја висината и ширината на половина од висината на пиковите за ацетонитрилот и хлороформот и пресметајте ја површината под пиковите употребувајќи ја формулата: висина x ширина на половина од висината.

7.1.2. Измерете ја површината по пиковите на ацетонитрилот и хлороформот во хроматограмите добиени во согласност со дел 6.3.5 и пресметајте го релативниот одговор f_s со помош на следнава формула:

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

во која:

f_s = фактор на релативен одговор од хлороформ;

A_s = површина на пикот на хлороформ (6.3.5);

A_i = површина на пикот на ацетонитрил (6.3.5);

M_s = количеството на хлороформ во mg на 10 ml раствор посочен во дел 6.3.5 (=M1);

M_i = количеството на ацетонитрил во mg на 10 ml раствор посочен во дел 6.3.5 (=1/10 M).

Пресметајте ја средната вредност на добиените резултати.

7.2. Пресметување на содржината на хлороформ

7.2.1. Во согласност со точка 7.1.1 пресметајте ја површината на пикот на ацетонитрилот и хлороформот во хроматограмите добиени преку постапката опишана во дел 6.3.4.

7.2.2. Пресметајте ја содржината на хлороформ во пастата за заби со помош на следнава формула:

$$\%X = \frac{A_s \cdot M_i}{f_s \cdot M_s \cdot A_i} \cdot 100 = \frac{A_s \cdot M}{f_s \cdot A_i \cdot M_0} \cdot 100$$

каде:

$\%X$ = содржина на хлороформ во пастата за заби изразена преку масата;

A_s = површина на пикот на хлороформ (6.3.4);

A_i = површина на пикот на ацетонитрил (6.3.4);

M_{sx} = маса во mg од мострата утврдена во дел 6.3.1 (=1000. M_0)

M_i = количеството на ацетонитрил во mg на 10 ml раствор добиен во согласност со дел 6.3.2 (=1/10 M).

Пресметајте ја средната вредност од нивоата утврдени и изразете го резултатот со прецизност во рамки од 0.1%.

8. ПОВТОРЛИВОСТ**

За содржина хлороформ од околу 3%, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,3%.

VI. ГРАВИМЕТРИСКИ МЕТОД ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ЦИНК

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод е соодветен за одредување на цинк присутен како хлорид, сулфат или 4-хидроксibenzenсулфонат или како соединение од неколку од овие цинкови соли во козметиката.

** Види ISO/DIS 5725.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на цинк во мострата е одредена гравиметриски како бис(2-метил-8-хинолил оксид) и е изразена како процент од масата на цинк во мострата.

3. НАЧЕЛО

Цинкот присутен во раствор е наталожен во кисела средина како цинк бис(2-метил-8-хинолил оксид). По филтрирањето талогот се суши и се мери.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

4.1. 25% (m/m) концентриран амонијак; $d_{20}^4 = 0,91$

4.2. Глацијална оцетна киселина

4.3. Амониум ацетат

4.4. 2-метилхинолин-8-ол

4.5. 6% (m/v) амониумов раствор

Пренесете 240 g концентриран амонијак (4.1) во 1000-ml еталонска колба, дополнете до ознаката со дестилирана вода и мешајте.

4.6. 0,2 M раствор од амониум ацетат

Растворете 15,4 g амониум ацетат (4.3) во дестилирана вода, дополнете до ознаката во 1000-ml еталонска колба и мешајте.

4.7. 2-метилхинолин-8-ол во 12 ml глацијална оцетна киселина и пренесете ги со дестилирана вода во 100-ml еталонска колба. Дополнете до ознаката со дестилирана вода и мешајте.

5. АПАРАТУРА И ОПРЕМА

5.1. Стандардни колби, 100 и 1000 ml

5.2. Лабораториска чаша, 400 ml

5.3. Мензура, 50 и 150 ml

5.4. Градирани пипети, 10 ml

5.5. Стаклени филтрирачки садови G-4

5.6. Вакуумска колба, 500 ml

5.7. Водена млазна пумпа

5.8. Термометар градуиран од 0 до 100°C

5.9. Ексикатор со соодветно средство за сушење и индикатор за влажност, на пр. силикагел или негов еквивалент

5.10. Печка за сушење регулирана на температура $150 \pm 2^\circ\text{C}$

5.11. pH метар

5.12. Врела плоча (Плоча со загревање)

6. ПОСТАПКА

6.1. Во 400 ml лабораториска чаша измерете 5 до 10 g (M грами) мостра која треба да се анализира и кој содржи 50 до 100 mg цинк, додадете 50 ml дестилирана вода и мешајте.

6.2. За секои 10 mg цинк присутен во растворот (6./1) додадете 2 ml раствор од 2-метилхинолин-8-ол и мешајте.

6.3. Разредете ја мешавината во 150 ml дестилирана вода, загревајте ја мешавината до 60 °C (5.12) и додадете 45 ml 0,2 M раствор од амониум ацетат (4.6) постојано мешајќи.

- 6.4. Прилагодете ја рН вредноста на растворот на 5,7 до 5,9 со 6% амониумов раствор (4.5), постојано мешајќи; употребете рН метар за да ја измерите рН вредноста на растворот,
- 6.5. Оставете го растворот да стои 30 минути. Филтрирајте го со помош на водена млазна пумпа низ G-4 филтрирачки сад претходно исушен (150 °C) и по ладењето измерете (M₀ грами), измијте го талогот со 150 ml дестилирана вода на 95°C.
- 6.6. Ставете го садот во печка за сушење регулирана на 150°C и сушете еден час.
- 6.7. Отстранете го садот од печката за сушење, ставете го во печка (сушилник) (5.9) и кога ќе се олади на собна температура одредете ја масата (M₁ грами).

7. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Пресметајте ја содржината цинк во мострата како процент од масата (%^{m/m}) со помош на следнава формула:

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

каде:

M = маса на мострата во грами земена во согласност со 6.1;

M₀ = маса на празниот сад за филтрирање во грами (6.5);

M₁ = маса на садот за филтрирање со талогот во грами (6.7);

8. ПОВТОРЛИВОСТ^{††}

За содржина цинк од околу 1% (^{m/m}), разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,1%.

VII. МЕТОД НА ЈОДОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА И МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ НА 4-ХИДРОКСИБЕНЗЕНСУЛФОНСКА КИСЕЛИНА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод е соодветен за идентификување и одредување на 4-хидроксибензесулфонска киселина во козметички производи како што се аеросоли и лосиони за лице.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на 4-хидроксибензесулфонска киселина во мострата одредена во согласност со овој метод е изразена како процент од масата на безводен цинк 4-хидроксибензесулфонска киселина во производот.

3. НАЧЕЛО

Делот за тестирање се концентрира под намален притисок, се раствора во вода и се прочистува со екстракција со хлороформ. Одредувањето на 4-хидроксибензесулфонска киселина се врши јодометриски врз точно одреден дел од филтрираниот воден раствор.

^{††} Види ISO/DIS 5725.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

- 4.1. 36% (m/m) концентрирана хлороводородна киселина $d_{\frac{20}{4}} = 1,18$
- 4.2. Хлороформ
- 4.3. Бутан-1-ол
- 4.4. Глацијална оцетна киселина
- 4.5. Калиумјодид
- 4.6. Калиумбромид
- 4.7. Натриум карбонат
- 4.8. Сулфанилна киселина
- 4.9. Натриум нитрит
- 4.10. 0,1 N калиумбромат
- 4.11. 0,1 N натриум тиосулфат раствор
- 4.12. 1% (m/v) воден скробен раствор
- 4.13. 2% (m/v) воден раствор на натриум карбонат
- 4.14. 4,5% (m/v) воден раствор на натриум нитрит
- 4.15. 0,05% (m/v) раствор на дитизон во хлороформот
- 4.16. Развоен раствор: бутан-1-ол/ глацијална оцетна киселина/вода (4:1:5 волуменско количеството); по мешање во одделителната инка, се отстранува пониската фаза.
- 4.17. Реагенс на Паули (Pauly)
Растворете 4-5 g сулфанилна киселина (4.8) во 45 ml концентрирана хлороводородна киселина (4.1), а додека загревате разредете го растворот со вода до 500 ml. Во сад оладете 10 ml од растворот со ледена вода и, додека мешате, додадете 10 ml ладен раствор од натриум нитрит (4.14). Оставете го растворот да стои 15 минути на 0°C (на оваа температура растворот останува стабилен еден до три дена) и веднаш пред прскањето (7.5) додадете 20 ml раствор од натриум карбонат (4.13).
- 4.18. Готови целулозни плочи за тенкослојна хроматографија: формат 20 x 20 cm, дебелина на апсорпциски слој 0,25 mm;

5. АПАРАТУРА И ОПРЕМА

- 5.1. Колба со кружно дно и со шлиф, 100 ml
- 5.2. Одделна инка, 100 ml
- 5.3. Конусна колба со шлиф, 250 ml
- 5.4. Бирета, 25 ml
- 5.5. Главичести (Трбушести)пипети, 1, 2 и 10 ml
- 5.6. Градуирана пипета, 5 ml
- 5.7. Микро-шприц, 10 μ l со градираност од 0,1 μ l
- 5.8. Термометар градуиран од 0 до 100°C
- 5.9. Водена бања опремена со елементи за загревање
- 5.10. Печка за сушење добро вентилирана и регулирана на температура 80°C
- 5.11. Вообичаена апаратура за извршување на тенкослојна хроматографија.

6. ПРИПРЕМА НА МОСТРАТА

Во подолу опишаниот метод за идентификување и одредување на хидроксibenзесулфонска киселина во аеросоли се употребуваат остатоци(резидуи) добиени со ослободување на растворовачи и потиснувачи кои испаруваат од аеросолна конзерва под нормален притисок.

7. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

- 7.1. Со помош на микрошприц (5.7) се нанесуваат 5 μ l остатоци(резидуи) (6) или мостра на секоја од шесте точки на почетната линија на оддалеченост од 1 cm од најнискиот раб од плочата за тенко-слојна хроматографија (4.18).
- 7.2. Ставете ја плочата во развоен резервоар кој веќе содржи развоен растворувач (4.16) и развивајте се додека растворниот фронт не достигне 15 cm од стартната линија.
- 7.3. Отстранете ја плочата од бањата и осушете ја на 80°C се додека не престане да се чувствува оцетната киселина. Испрскајте ја плочата со раствор на натриум карбонат (4.13) и исушете ја на воздух.
- 7.4. Покријте ја половина од плочата со стаклена плоча и прскајте го непокриениот дел со 0.05% раствор на дитизон (4.15). Појавата на пурпурно-црвени точки на хроматограмот укажува на присуство на цинкови јони.
- 7.5. Покријте ја половината од испрсканата површина и испрскајте ја втората половина со Поли реагенсот (4.17). Присуството на 4-хидроксibenзесулфонска киселина се покажува како присуство на жолто-кафена точка со Rf вредност од околу 0,26 додека жолтата точка со Rf вредност од околу 0,45 на хроматограмот укажува на присуство на 3-хидроксibenзесулфонска киселина.

8. ОДРЕДУВАЊЕ

- 8.1. Одмерете 10 g мостра или остаток (6) во 100 ml колба со кружно дно и, испарете го скоро до суво, под вакуум во ротоевапораторот на водена бања одржувана на 40°C.
- 8.2. Со пипета внесете 10,0 ml (V1 ml) вода во колба и растворете го отпарениот остаток (8.1) со загревање.
- 8.3. Квантитативно пренесете го растворот во одделителна инка (5.2) и екстрахирајте го водениот раствор два пати со по 20 ml хлороформ (4.2). По секое екстрахирање исфрлете ја хлороформната фаза.
- 8.4. Филтрирајте го водениот раствор низ набран филтер. Во зависност од очекуваната содржина на хидроксibenзесулфонска киселина внесете со пипета 1,0 или 2,0 ml (V2) од филтратот во 250 ml конусна колба (5.3) и разредете со вода до 75 ml.
- 8.5. Додадете 2,5 ml од 36% хлороводородна киселина (4.1) и 2,5 g калиум бромид (4.6), измешајте и загревајте го растворот до температура од 50°C со помош на водена бања.
- 8.6. Додадете 0,1 N калиум бромат (4.10) од бурета се додека растворот, кој на 50°C не стане жолт.
- 8.7. Додадете дополнителни 3,0 ml раствор од калиум бромат (4.10), затворете ја колбата и оставете да отстои 10 минути во водена бања на 50°C. Ако после 10 минути растворот ја загуби својата боја, додадете дополнителни 2,0 ml од раствор од калиум бромат (4.10), затворете ја колбата и загревајте 10 минути над водена бања која се одржува на 50°C. Забележете го вкупното количество на додадениот раствор од калиум бромат (а).
- 8.8. Оладете го растворот на собна температура, додадете 2 g калиум јодид (4.5) и промешајте.
- 8.9. Титрирајте го формираниот јод со 0,1 N растворот од натриум тиосулфат (4.11). Пред крајот на титрирањето додадете неколку капки скробен раствор (4.12) како индикатор. Забележете го количество на потрошен натриум тиосулфат (б).

9. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Пресметајте ја содржината цинк хидроксibenzenсулфонат во мострата или остатокот (б) како процент од масата (% ^m/m) со помош на следнава формула:

$$\% \text{ } ^m\text{/m} \text{ цинк хидроксibenzenсулфонат} = \frac{(a - b) \cdot V_1 \cdot 0,00514 \cdot 100}{m \cdot V_2}$$

каде:

- a = вкупно количество во милилитри на додадениот раствор од калиум бромат (8.7),
- b = вкупно количество во милилитри на раствор од натриум тиосулфат користен за заднинско титрирање (8.9),
- m = количеството на анализиран производ или остаток, изразени во милиграми (8.1),
- V1 = количеството на раствор добиен во согласност со 8.2, изразени во милилитри,
- V2= количеството на растворен испарен остаток добиен за анализа (8.4), изразен во милилитри.

Забелешка: Во случај на аеросоли, резултатите од мерењата во % (^m/m) од резултатите (б) треба да бидат изразени во име на оригиналниот производ. За цели на оваа конверзија, се врши упатување кон правилата за земање на мостра од аеросолите.

10. ПОВТОРЛИВОСТ^{‡‡}

За содржина од околу 5% цинк хидроксibenzenсулфонат, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0.5%.

11. ТОЛКУВАЊЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Според Директивата 76/768/ЕЕЗ на Советот за козметички производи, максимално одобрената концентрација на цинк 4-хидроксibenzenсулфонат во лосиони за лице и деодоранси е 6% (^m/m). Оваа формулирање значи дека покрај содржината на хидроксibenzenсулфонска киселина, треба да се утврди и содржината на цинк. Множењето на пресметаната содржина на цинк хидроксibenzenсулфонат (9) со факторот 0,1588 ја дава минималната содржина на содржината цинк која теоретски треба да е присутна во производот во поглед на измерената содржина хидроксibenzenсулфонска киселина. Содржината на цинк, всушност измерена гравиметриски (види релевантните одредби), сепак, може да биде повисока поради тоа што во козметичкиот производи може да се употребат и цинк хлорид или цинк сулфат.

^{‡‡} Види ISO/DIS 5725.

Прилог бр.2

I. МЕТОД НА ЈОДОМЕТРИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА ОКСИДАЦИСКИ АГЕНСИ И ОДРЕДУВАЊЕ НА ВОДОРОД ПЕРОКСИД ВО ПРОИЗВОДИ ЗА НЕГА НА КОСАТА

НАМЕНА И ОПСЕГ

Јодометриското одредување на водород пероксид во козметичките производи е единствено можно во отсуство на други оксидациски агенси што формираат јод од јодиди. Како последица, пред јодометриското одредување на водород пероксид, неопходно е да се детектира и идентификува кој било друг присутен оксидациски агенс. Оваа идентификација е поделена во две фази; првата ги опфаќа персулфатите, броматите и водород пероксидот, а втората бариум пероксидот.

A. МЕТОД НА ХРОМАТОГРАФИЈА НА ХАРТИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА ПЕРСУЛФАТИ, БРОМАТИ И ВОДОРОД ПЕРОКСИДОТ

1. ПРИНЦИП

Натриум персулфат, калиум персулфат и амониум персулфат; калиум бромат, натриум бромат и водород пероксид – без разлика дали потекнуваат или не од бариум пероксид - се идентификуваат со опаѓачка хроматографија со хартија, употребувајќи два растворувачи за развивање.

2. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

2.1. 0,5% (m/v) водени референтни раствори од следниве соединенија:

- 2.1.1. Натриум персулфат
- 2.1.2. Калиум персулфат
- 2.1.3. Амониум персулфат
- 2.1.4. Калиум бромат
- 2.1.5. Натриум бромат
- 2.1.6. Водород пероксид

2.2. Растворувач за развивање А, 80% v/v етанол

2.3. Растворувач за развивање Б, бензен/метанол/3-метил бутан-1-ол/вода (34: 38: 18: 10 во волумен)

2.4. Агенс за детектирање А, 10% m/v воден раствор на калиум јодид

2.5. Агенс за детектирање Б, 1% m/v воден раствор на скроб

2.6. Агенс за детектирање В, 10% m/v хлороводородна киселина

2.7. 4 N хлороводородна киселина

3. АПАРАТУРА И ОПРЕМА

3.1. Хартија за хроматографија (Ватман (Whatman) хартија бр. 3 и бр. 4 или нивни еквиваленти)

3.2. Микропипета, 1 μ l

3.3. Стандардна колба, 100 ml

3.4. Набрана филтер хартија

3.5. Апарат за опаѓачка хроматографија на хартија

4. ПОДГОТОВКА НА МОСТРА

4.1. Производи растворливи во вода

Направете два раствори од секоја мостра, растворувајќи 1 g и 5 g од производот соодветно во 100 ml вода. Употребете 1 μ l од секој од овие раствори за спроведување на опаѓачката хроматографија на хартија опишана во оддел 5.

4.2. Производи умерено растворливи во вода

4.2.1. Измерете приближно 1 g и 5 g од мострата и дисперзирајте ја во 50 ml вода, дополнете до 100 ml со вода во двата случаи и мешајте. Филтрирајте ги двете дисперзии преку набрана филтер хартија (3.4) и употребете по 1 μ l од филтратите со цел да ја спроведете хроматографијата на хартија опишана во оддел 5.

4.2.2. Подгответе ги уште еднаш двете дисперзии од секоја мостра, растворувајќи 1 g и 5 g во 50 ml вода, закиселете со разредена хлороводородна киселина (2.7) и дополнете со вода до 100 ml и промешајте. Филтрирајте ги дисперзиите преку набрана филтер хартија (3.4) и употребете по 1 μ l од филтратите за да ја спроведете хроматографијата на хартија опишана во оддел 5.

4.3. Креми

Диспергирајте 5 g и 20 g од секој производ во 100 ml вода и употребете ги дисперзиите за да ја спроведете хроматографијата на хартија опишана во оддел 5.

5. МЕТОД

5.1. Ставете соодветна количина на растворовачи тип А (2.2) и Б (2.3) во две различни комори за хроматографија за да ја спроведете опаѓачката хроматографија на хартија. Заситете ги коморите за хроматографија со пареа од растворовачот во период од најмалку 24 часа.

5.2. Нанесете 1 μ l од еден пробен раствор и еден референтен раствор подготвен во согласност со деловите 4 и 2.1 на секоја почетна точка на лентата од хартијата за хроматографија (Ватман бр. 3 или еквивалентно) 40 cm долга и 20 cm широка (3.1) или друга погодна форма и испарувајте го растворот во воздух. 5.3. Ставете ја хроматографската лента (5.2) во комората за хроматографија исполнет со

растворувач за развивање тип А (5.1) и развивајте сè додека фронтот на растворувачот не напредне за 35 cm (околу 15 часа).

5.4. Повторете ја постапката опишана во деловите 5.2 и 5.3, употребувајќи хартија за хроматографија (Ватман бр. 4 или еквивалентно) (3.1) и растворувач за развивање тип Б. Хроматографирајте сè додека предниот бран (фронтот) на растворувачот не напредне 35 cm (околу пет часа).

5.5. По развивањето, отстранете ги хроматограмите и осушете ги на воздух.

5.6. Откријте ги точките на хроматограмот прскајќи ги последователно со:

5.6.1. агенс за детектирање тип А (2.4), а потоа веднаш со агенс за детектирање тип Б (2.5). Прво ќе се појават точките од персулфати на хроматограмот, а потоа ќе следат и точките од водород пероксид. Обележете ги точките со молив;

5.6.2. агенс за детектирање тип В (2.6) на хроматограмите добиен во согласност со оддел 5.6.1; присуството на бромати ќе се покаже со сиво-сини точки на хроматограмот.

5.7. Во горенаведените услови што важат за растворувачите за развивање А (2.2) и Б (2.3), R_f вредностите на референтните супстанции (2.1) се приближно како што следи:

	Растворувач за развивање тип А (2.2)	Растворувач за развивање тип Б (2.3)
Натриум персулфат	0,40	0,10
Калиум персулфат	0,40	0,02 + 0,05
Амониум персулфат	0,50	0,10 + 0,20
Натриум бромат	0,40	0,20
Калиум бромат	0,40	0,10 + 0,20
Водород пероксид	0,80	0,80

Б. МЕТОД НА ХРОМАТОГРАФИЈА НА ХАРТИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА БАРИУМ ПЕРОКСИД

1. ПРИНЦИП

Бариум пероксидот се идентификува со формирање на водород пероксид по закиселување на мострата (А.4.2) и со присуство на јон на бариум:

- во отсуство на персулфати (А), со додавање на разредена сулфурна киселина на дел од пробниот раствор на киселината (Б.4.1), како резултат се формира бел талог на бариум сулфат, а присуството на бариумови јони во мострата (Б.4.1) повторно се потврдува со хроматографија со хартија на начинот опишан подолу (Б.5),
- кога истовремено се присутни бариум пероксид и персулфати (Б.4.2) со дигестија на остатокот од мострата (Б.4.2) во база, а по растворањето во хлороводородна киселина, присуството на бариумови јони се потврдува во растворот на растопот (Б.4.2.3) со хроматографија на хартија и/или таложеење на бариум сулфат.

2. РЕАГЕНСИ

2.1. Метанол

2.2. 36 % m/m концентрирана хлороводородна киселина

2.3. 6 N хлороводородна киселина

2.4. 4 N сулфурна киселина

2.5. Динатриумова сол на Родизонична киселина

2.6. Барииум хлорид ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

2.7. Анхидриден (Безводен) натриум карбонат

2.8. 1 % m/v воден раствор на барииум хлорид

2.9. Растворувач за развивање што содржи метанол, концентрирана хлороводородна киселина (концентрација 36%) и вода (80 : 10 : 10 во вол.)

2.10. Агенс за детектирање 0,1 % m/v воден раствор на родизонична киселина динатриумова сол, кој треба да се подготви свеж веднаш пред употребата.

3. АПАРАТУРА И ОПРЕМА

3.1. Микропипета, 5 μl

3.2. Платински огноотпорни садови

3.3. Стандардна колба, 100 ml

3.4. Хартија за хроматографија Шлејхер (Schelicher) и Шул (Schull) 2043 б или еквивалентно. Исчистете ја хартијата развивајќи ја преку ноќ во комора за опаѓачка хроматографија (А.3.5) што содржи растворувач за развивање (Б.2.9) и потоа исушете ја.

3.5. Набрана Филтер-хартија

3.6. Вообичаената апаратура за спроведување на растечка хроматографија на хартија

4. ПОДГОТОВКА НА МОСТРА (проба, примерок)

4.1. Производи во коишто не се присутни персулфати

4.1.1. Дисперзирајте 2 g од производот во 50 ml вода и нагодете ја рН вредноста на дисперзијата на околу 1 со хлороводородна киселина (Б.2.3).

4.1.2. Префрлете ја дисперзијата со вода во стандардна 100-ml колба, дополнете до ознаката и измешајте. Употребете ја дисперзијата за анализата со

хроматографија на хартија опишана во оддел 5 и за идентификација на бариум со таложење на сулфатот.

4.2. Производи во коишто се присутни персулфати

4.2.1. Диспергирајте 2 g од производот во 100 ml вода и филтрирајте.

4.2.2. На сувиот остаток додајте натриум карбонат во количина од 7 до 10 пати од масата на сувиот остаток (Б.2.7), промешајте и истопете ја мешавината во платински огноотпорен сад (Б.3.2) во период од половина час.

4.2.3. Изладете на собна температура, растворете го растопот во 50 ml вода и филтрирајте (Б.3.5)

4.2.4. Растворете 2 g од производот во 50 ml вода и доведете ја рН вредноста на дисперзијата на околу 1 со хлороводородна киселина (Б.2.3). Употребете го растворот за анализата со хроматографија на хартија опишана во оддел 5 и за идентификација на бариум со таложење на сулфатот.

5. МЕТОД

5.1. Ставете соодветна количина на растворувач за развивање (Б.2.9) во комора за растечка хроматографија на хартија и заситувајте ја комората најмалку 15 часа.

5.2. На парче хартија за хроматографија – претходно третирана како што е опишано во Б 3.4 - нанесете 5 μ l од секој од овие раствори подготвени во согласност со деловите Б.4.1.2 и Б.4.2.4 и референтниот раствор Б.2.8 на три почетни точки. 5.3. Исушете ја мострата (пробата, примерокот) и референтните точки на воздух. Развивајте го хроматограмот сè додека предниот бран (фронтот) на растворувачот не се покачи за 30 cm.

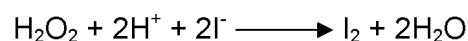
5.4. Отстранете го хроматограмот од комората и исушете на воздух.

5.5. Откријте ги точките на хроматограмот со прскање на хартијата со агенс за детектирање тип Б.2.10. Во присуство на бариум, на хроматограмот се појавуваат црвени точки со R_f вредност од околу 0,10 .

В. МЕТОД НА ЈОДОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ВОДОРОД ПЕРОКСИД

1. ПРИНЦИП

Јодометриското одредување на водород пероксид се базира на следнава реакција:



Конверзијата продолжува полаку но може да се забрза со додавање на амониум молибдат. Формираниот јод се одредува со титрирање наспроти натриум тиосулфат и е мерка за содржината на водород пероксид.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на водород пероксид измерена на начинот опишан подолу се изразува како процент од масата (масен процент) (% m/m) на производот.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

3.1. 2 N сулфурна киселина

3.2. Калиум јодид

3.3. Амониум молибдат

3.4. 0,1 N натриум тиосулфат

3.5. 10 % m/v раствор на калиум јодид, којшто треба да биде свежо подготвен веднаш пред употребата

3.6. 20 % (m/v) раствор на амониум молибдат

3.7. 1 % (m/v) раствор на скроб

4. АПАРАТУРА И ОПРЕМА

4.1. Лабораториски чаши, 100 ml

4.2. Бирета, 50 ml

4.3. Стандардна колба, 250 ml

4.4. Мензури, 25 и 100 ml

4.5. Пипети со една ознака, 10 ml

4.6. Конусни колби, 250 ml

5. МЕТОД

5.1. Во 100-ml лабораториска чаша измерете 10 g (m грами) од производот, што содржи околу 0,6 g водород пероксид. Префрлете ја дисперзијата со вода во стандардна 250-ml колба, дополнете до ознаката и измешајте.

5.2. Пипетирајте 10 ml од пробниот раствор (5.1) во конусна 250-ml колба (4.6) и додавајте последователно 100 ml од 2N сулфурна киселина (3.1), 20 ml раствор на калиум јодид (3.5) и три капки на раствор од амониум молибдат (3.6).

5.3. Веднаш титрирајте го формируваниот јод со 0,1N раствор на натриум тиосулфат (3.4) и непосредно пред да се постигне крајната точка, додадете неколку милилитри од растворот на скроб како индикатор (3.7). Забележете ја потрошувачката на 0,1N натриум тиосулфат (3.4) во милилитри (V).

5.4. На начинот опишан во деловите 5.2 и 5.3, спроведете титрација на слепа проба, заменувајќи 10 ml на пробниот раствор со 10 ml вода. Забележете ја потрошувачката на 0,1N натриум тиосулфат во одредувањето на слепата проба (V_0 ml).

6. ПРЕСМЕТКИ

Пресметајте ја содржината на водород пероксид во производот како процент од масата (масен процент) (% m/m) со помош на следнава формула:

$$\% \text{ водороден пероксид} = \frac{(V - V_0) \cdot 1,7008 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot 1000} = \frac{(V - V_0) \cdot 4,252}{m}$$

каде:

m = количината во грами на анализираниот производ (5.1),

V_0 = потрошувачката во милилитри на 0,1 N раствор на тиосулфат за слепа проба (5.4),

V = потрошувачката во милилитри на 0,1 N раствор на тиосулфат во титрацијата на пробен раствор (5.3).

7. ПОВТОРЛИВОСТ⁸

За производот што содржи околу 6 % m/m водород пероксид разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,2 %.

⁸ Види ИСО (ISO) норма 5725.

II. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И ПОЛУКВАНТИТАТИВНО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ОДРЕДЕНИ ОКСИДАЦИСКИ БОИ ВО БОИ ЗА КОСА

1. НАМЕНА И ОПСЕГ

Овој метод е погоден за идентификација и полуквантитативно определување на содржината на следниве супстанции во боите за коса во форма на крем или течна форма:

Супстанции	Симбол
<i>Фениленедиамини</i>	
о-фениленедиамин	(OPD)
т-фениленедиамин	(MPD)
р-фениленедиамин (Анекс V)	(PPD)
<i>Метилфенилендиамини</i>	
4-метил-1,2-фениленедиамин (толуен-3,4-диамин)	(OTD)
4-метил-1,3-фениленедиамин (толуен-2,4-диамин)	(MTD)
2-метил-1,4-фениленедиамин (толуен-2,5-диамин)	(PTD)
<i>Диаминофеноли</i>	
2,4-диаминофенл	(DAP)
<i>Хидрохинон</i>	
1,4 бензендиол	(H)
<i>α-нафтол</i>	(α-N)
<i>Пирогалол</i>	
1,2,3-трихидроксибензен	(P)
<i>Резорцинол</i>	
1,3-дихидроксибензен	(R)

2. ПРИНЦИП

Боите за оксидација се екстрахираат на рН 10 со 96% етанол од боите во форма на креми или во течна форма и се идентификуваат со тенкослојна хроматографија, еднодимензионална или дводимензионална.

За полуквантитативно определување на содржината на овие супстанции, хроматограмот на мострите (пробите, примероците) се споредува со помош на четири системи за развивање со оние за референтни супстанции добиени во исто време и во колку што е можно послични услови.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

3.1. Етанол, безводен

3.2. Ацетон

3.3. Етанол 96% v/v

3.4. Раствор на амонијак, 25 % ($d_{4}^{20} = 0,91$)

3.5. L(+)-аскорбинска киселина

3.6. Хлороформ

3.7. Циклохексан

3.8. Азот, со технички квалитет

3.9. Толуен

3.10. Бензен

3.11. n-бутанол

3.12. Бутан-2-ол

3.13. Хипофосфорна киселина, 50 % v/v раствор

3.14. Дијазов реагенс. Или:

- 3-нитро-1-бензендијазониум хлоробензенсулфонат (стабилизирана форма на сол) како во црвена 2 JN - франколор (Red 2 JN - Francolor),
- 2-хлоро-4-нитро-1-бензендијазониум нафтабензоат, (стабилизирана форма на сол) како во NNCD реагенс – референтен бр. 74 150 FLUKA, или еквивалентно.

3.15. Сребро нитрат

3.16. p-диметиламинобензалдехид

3.17. 2,5-диметилфенол

3.18. Фери хлорид хексахидрат

3.19. Хлородоводордна киселина, 10 % m/v раствор

3.20. Референтни супстанции

Референтните супстанции се покажани во точката 3.1. „Намена и опсег“. Во случај на amino соединенија, референтните супстанции се или хидрохлориди (моно или ди) или слободна база.

3.21. Референтни раствори 0,5 % m/v

Се подготвува 0,5 % m/v раствор од секоја од референтните супстанции во оддел 3.20.

Измерете $50 \text{ mg} \pm 1 \text{ mg}$ од референтната супстанција во стандардна 10-ml колба (одмерен сад од 10 ml).

Додадете 5 ml 96 % етанол (3.3) и 250 mg аскорбинска киселина (3.5).

Направете го растворот алкален со додавање на раствор на амонијак (3.4) за да добиете очигледна pH вредност 10 (тестирајте со индикаторска хартија).

Дополнете до 10 ml со 96 % етанол (3.3) и мешајте.

Растворите може да се чуваат една недела на ладно место подалеку од светлина.

Во одредени случаи, по додавањето на аскорбинска киселина и амонијак, може да се формира талог. Да се остави да се сталожи пред да се продолжи.

3.22. Растворувачи за развивање

3.22.1. Ацетон-хлороформ-толуен (35 : 25 : 40 во вол.)

3.22.2. Хлороформ/циклохексан/апсолутен етанол/25% амонијак (80 : 10 : 10 : 1 во вол.)

3.22.3. Бензен-бутан-2-ол-вода (50 : 25 : 25 во вол.). Протресете добро и употребете ја горната фаза по одвојување на собна температура (20 до 25°C).

3.22.4. n-бутанол-хлороформ-реагенс М (7: 70: 23 во вол.). Раздвојувајте внимателно на собна температура (20 до 25°C) и употребете ја долната фаза.

Подготовка на реагенс М

Раствор на амонијак, 25% v/v	24 волумени
Хипофосфорна киселина, 50% (3.13)	1 волумен
Вода	75 волумени

Забелешка

Растворувачи за развивање коишто содржат амонијак треба да бидат добро протресени непосредно пред употребата.

3.23. Спреј индикатори

3.23.1. Диазо реагенс

Направете 5 % (m/v) воден раствор на избраниот реагенс (3.14). Овој раствор треба да биде свежо подготвен непосредно пред употребата.

3.23.2. Ерлихов (Ehrlich's) реагенс

Растворете 2 г р-диметиламинобензалдехид (3.16) во 100 ml хлороводородна киселина 10 % m/v воден раствор (3.19).

3.23.3. 2,5-диметилфенол - фери хлорид хексахидрат

Раствор 1: растворете 1 г диметилфенол (3.17) во 100 ml 96 % етанол (3.3).

Раствор 2: растворете 4 г фери хлорид хексахидрат (3.18) во 100 ml 96 % етанол (3.3).

За развивање, овие раствори се прскаат посебно, прво растворот 1, а потоа растворот 2.

3.23.4. Амонијачен сребро нитрат

25 % амонијак (3.4) се додава на 5 % m/v aq. раствор на сребро нитрат (3.15) сè додека не се раствори талогот. Овие реагенси се подготвуваат непосредно пред употреба. Не ги чувајте.

4. АПАРАТУРА

4.1. Вообичаена лабораториска опрема за тенкослојна хроматографија.

4.1.1. Пластичен или стаклен поклопец направен на тој начин што хроматографската плочка може да биде опкружена со азот за време на

нанесувањето на точките и сушењето. Оваа мерка на претпазливост е неопходна поради подложноста на оксидација кај одредени бои.

4.1.2. Микрошприц, 10 μ l, градуиран на делови од 0,2 μ l, со квадратен пресек на иглата, или подобро, 50 μ l диспензер за повеќекратна употреба на сталак поставен на таков начин што плочката може да се одржува во (струја од) азот.

4.1.3. Плочи за тенкослојна хроматографија со силика гел спремни за употреба, со дебелина од 0,25 mm, со димензии 20 \times 20 cm (Махери и Најгел (Machery и Nagel)), силика G-HR, на пластична подлога, или еквивалентно)

4.2. Центрифуга, 4000 вртежи/минута

4.3. Епрувета за центрифуга, 10 ml со PTFE - обложени затворачи со навои или еквивалентно

5. ПОСТАПКА

5.1. Третман на тест-мостри (Обработка на проби, примероци)

Отфрлете ги првите 2 или 3 cm од кремата истиснати од тубата.

Ставете го следново во епруветата за центрифуга (4.3) претходно исплакната со азот: 300 mg аскорбинска киселина со 3 g крема или 3 g хомогенизирана течност.

Додадете 25 % амонијак во капки (3.4) сè додека рН вредноста не достигне 10. Дополнете до 10 ml со 96 % етанол (3.3).

Хомогенизирајте во азот (3.8), затворете и потоа центрифугирајте на 4000 вртежи/минути за период од 10 минути.

Употребете ја супернатантната течност.

5.2. Хроматографија

5.2.1. Нанесување на пробата

Во азотна средина (3.8), нанесете на хроматографска плочка (4.1.3) 1 μ l од секој од гореопишаните стандардни раствори во девет точки распоредени на околу 1,75 cm една од друга во линија приближно 1,75 cm оддалечена од работ на плочката.

Точките на стандардниот раствор се распоредени како што следи:

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

Дополнително, на точките 10 и 11 нанесете соодветно 2 μ l од примероците од пробниот раствор добиени согласно оддел 5.1.

Чувајте ја плочката во атмосфера на азот (3.8) до моментот кога истата ќе биде хроматографирана.

5.2.2. Развивање

Ставете ја плочката во комора што е претходно испрана(испакната) со азот (3.8), заситен со еден од четирите растворувачи (3.22) и дозволете да се развие на собна температура (20 до 25°C) на темно до моментот кога предниот дел(фронтот) на растворувачот не се помести на околу 15 cm од основната линија.

Отстранете ја плочката и исушете ја во атмосфера на азот (3.8) на собна температура.

5.2.3. Распрскување

Испрскајте ја плочката веднаш со еден од четирите растворувачи наведени во 3.23.

5.2.4. Идентификација

Споредете ја R_f вредноста и бојата добиени од мострата (пробата, примерокот) со тие на референтните супстанции што се хроматографирани.

Табела I дава примери за R_f вредности и бои за секоја од супстанциите во зависност од употребениот растворувач и индикатор.

Потврдата на сомнителна идентификација може некогаш да биде постигната со методот на стандардни додатоци, додавајќи го референтниот раствор на супстанцијата кон екстрактот на мострата.

5.2.5. Полуквантитативна проценка

Визуелно споредете го интензитетот на точките (дамки) за секоја од супстанциите идентификувани во 5.2.4 со соодветен опсег на концентрации на референтните супстанции.

Доколку концентрацијата на една или повеќе супстанции најдени во мострата е прекумерна, разредете го екстрактот од мострата и повторете го мерењето.

ТАБЕЛА I
 R_f вредности и бои добиени по испрскувањето

	Растворувачи за развивање				Индикаторски распрскувачи			
	R_f вредности				Резултантни бои			
	(3.22.1)	(3.22.2)	(3.22.3)	(3.22.4)	Диазо (3.23.1)	Ерлихов (3.23.2)	Диметилфенол (3.23.3)	AgNO ₃ (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	бледо кафена	-	-	бледо кафена
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	виолетово-кафена*	жолта	бледо кафена	бледо кафена
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	кафена	светло црвена*	виолетова	сива
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	кафена*	бледо портокалова	бледо кафена	сиво-кафена
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	црвеникаво-кафена*	жолта	кафена	црна
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	кафена	портокалова	виолетова*	сива
DAP	0,07	-	0	0,05	кафена*	портокалова	виолетова	кафена
H	0,50	0,35	0,80	0,20	-	портокалова	виолетова	црна*
α -N	0,90	0,80	0,90	0,75	портокалово-кафена	-	виолетова*	црна
P	0,37	0	0,67	0,05	кафена	изразено бледа виолетова	изразено бледа кафена	кафена*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	портокалова*	бледа виолетова	изразено бледа кафена	бледо кафена

Забелешка:

1. OPD е само слабо покажано; потребно е да се употреби растворувачот (3.22.3) за да се одвои јасно од OTD.

2. * ја покажува најдобрата боја за развивање.

6. ИСПИТУВАЊЕ СО ДВОДИМЕНЗИОНАЛНА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА

Оваа постапка за дводимензионална хроматографија бара употреба на дополнителни стандардни раствори и реагенси

6.1. Дополнителни стандардни раствори и супстанции

6.1.1. β -нафтол (β -N)

6.1.2. 2-аминофенол (OAP)

6.1.3. 3-аминофенол (MAP)

6.1.4. 4-аминофенол (PAP)

6.1.5. 2-нитро-1,4-фенилендиамин (2-NPPD)

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

Подгответе 0,5 % m/v раствор од секоја од дополнителните референтни супстанции како што е опишано во дел 3.21.

6.2. Растворувач за дополнително развивање

6.2.1. Етил ацетат - циклохексан – раствор на амонијак, 25% (65 : 30 : 0,5 во вол.)

6.3. Систем за дополнителна индикација

Ставете стаклен сад во комора за развивање за тенкослојна хроматографија, додадете околу 2 g кристализиран јод (јод во кристали) и затворете ја комората со соодветен затворач.

6.4. Хроматографија

6.4.1. Повлечете две линии, како што е покажано на слика 1, на апсорбирачката површина на тенкослојната плочка (4.1.3).

6.4.2. Во азотна средина (атмосфера од азот) (4.1.1), нанесете 1 до 4 μ l екстракт (5.1) на основната точка 1 (слика 1) што е на 2 cm од двете страни. Количината на екстрактот зависи од интензитетот на точките на хроматограмите 5.2.

6.4.3. Поделете ги, помеѓу точките 2 и 3 (слика 1), боите за оксидација коишто се идентифицирани или за коишто е претпоставено дека се идентифицирани согласно 5.2 (растојанието помеѓу точките е 1,5 cm). Нанесете 2 μ l од секој од референтните раствори – освен PAP од кои треба да се нанесат 6 μ l. Спроведете ги активностите во азотна средина (атмосфера од азот) (6.4.2).

6.4.4. Повторете ги активностите од 6.4.3 на основните точки 4 и 5 (слика 1) и чувајте ја плочката во азотна средина (атмосфера од азот) до моментот на хроматографирање (растојанието помеѓу точките е 1,75 cm).

6.4.5. Исперете ја комората за хроматографија со азот (3.8) и ставете ги во соодветна количина на растворувач за развивање 3.22.2. Ставете ја плочката (6.4.4) во резервоар и развивајте ја во правата насока за елуација (слика 1) на темно. Елуирајте сè додека првиот бран (фронтот) на растворувачот не ја достигне линијата обележена на плочката (приближно 13 cm).

6.4.6. Отстранете ја плочката од комората и ставете ја во комората за хроматографија претходно исплакнат со азот за да испари растворувачот за елуација и тоа најмалку 60 минути.

6.4.7. Со градуирана епрувета, ставете соодветна количина на растворувач за елуација (6.2) во комора испрана со азот (3.8), ставете ја плочката свртена 90° во резервоарот (6.4.6) и хроматографирајте во втората насока (исто така на темно) сè додека предниот бран на растворувачот не ја достигне линија повлечена на површината за апсорпција. Отстранете ја плочката од комората и испарувајте го растворувачот за елуација на воздух.

6.4.8. Ставете ја плочката 10 минути во комората за хроматографија со пари од јод (6.3) и толкувајте го двонасочниот хроматограм употребувајќи ги R_f вредностите и боите од референтните супстанции хроматографирани во исто време (табела II дава преглед на R_f вредностите и боите).

Забелешка

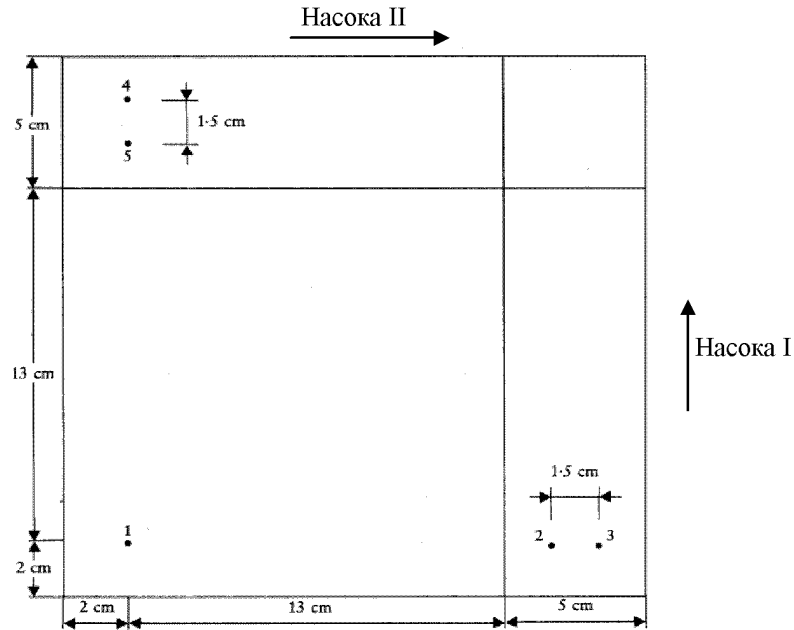
За да се добие максимално обојување на точките оставете го хроматограмот изложен во собна средина половина час по развивањето.

6.4.9. Присуството на боите за оксидација најдени во 6.4.8 може дефинитивно да се потврдат со повторување на активностите опишани во 6.4.1 до 6.4.8 и со додавање на основната точка 1 над количеството на екстрактот наведен во 6.4.2. на 1 μ l од референтната супстанција идентификувана во 6.4.8. Доколку не се најдат други точки во споредба со хроматограмот добиен со 6.4.8, толкувањето на хроматограмот 6.4.8 е точно.

ТАБЕЛА II

Бојата на референтните супстанции по хроматографија и развивање со пареа од јод

Референтни супстанции	Бои по развивање со пареа од јод
R	беж
P	кафена
α -N	виолетова
β -N	бледо кафена
H	виолетово-кафена
MPD	жолтеникаво-кафена
PPD	виолетово-кафена
MTD	темно кафена
PTD	жолтеникаво-кафена
DAP	темно кафена
OAP	портокалова
MAP	жолтеникаво-кафена
PAP	виолетово-кафена
2-NPPD	кафена
4-NOPD	портокалова



Сл. 1.

III. МЕТОД НА ФОРМИРАЊЕ НА ОБОЕНИ ДЕРИВАТИ СО НИТРИН ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА НИТРИТ

A. МЕТОД НА ФОРМИРАЊЕ НА ОБОЕНИ ДЕРИВАТИ СО НИТРИН ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА НИТРИТИ

1. НАМЕНА И ОПСЕГ

Овој метод е погоден за идентификација на нитрит во козметички производи особено во креми и пасти.

2. ПРИНЦИП

Присуството на нитрит се покажува со формирање на обоени деривати со Нитрин®.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

3.1. Разредете сулфурна киселина: разредете 2 ml концентрирана сулфурна киселина ($d_{4}^{20} = 1,84$) со 11 ml дестилирана вода.

3.2. Разредете хлороводородна киселина: разредете 1 ml концентрирана хлороводородна киселина ($d_{4}^{20} = 1,19$) со 11 ml дестилирана вода.

3.3. Метанол

3.4. Раствор од 2-аминобензалдехид фенилхидразон (Нитрин® реагенс) во метанол.

Измерете 2,0 g Нитрин® и пренесете го ова квантитативно во стандардна 100-ml колба.

Додадете во капки 4 ml разредена хлороводородна киселина (3.2) и протресете. Дополнете до обележеното место со метанол и измешајте сè додека растворот не стане потполно бистар. Чувајте го растворот во кафено стаклено шише (4.3).

4. АПАРАТУРА

4.1. Лабораториски чаши, 50 ml

4.2. Стандардна колба, 100 ml

4.3. Кафено стаклено шише, 125 ml

4.4. Стаклена плочка, 10 x 10 cm

4.5. Пластична шпатула

4.6. Филтер хартија, 10 x 10 cm

5. ПОСТАПКА

5.1. Распределете дел од мострата што ќе се испитува рамномерно врз стаклената плоча (4.4) така што ја покрива површината со дебелина не поголема од 1 cm.

5.2. Потопете лист филтер-хартија (4.6) во дестилирана вода. Положете ја мострата и притиснете ја филтер-хартијата со пластичната шпатула (4.5).

5.3. Почекајте околу една минута и нанесете во центарот на филтер-хартијата:

- две капки на разредена сулфурна киселина (3.1),
- потоа две капки на раствор на Нитрин® (3.4).

5.4. По пет до десет секунди, отстранете ја филтер-хартијата и испитајте на дневна светлост. Присуството на нитрит се покажува со црвеникаво-виолетова обоеност.

Доколку количината на нитрит е мала, црвеникаво-виолетовата боја се менува во жолта по пет до петнаесет секунди. Оваа промена на бојата се случува само по една до две минути кога се присутни големи количини на нитрит.

6. КОМЕНТАР

Интензитетот на црвеникаво-виолетовата боја и времето што поминува пред да се случи промената во жолто може да биде показател на содржината на нитрит во мострата.

Б. МЕТОД НА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА НИТРИТИ

1. НАМЕНА

Методот го опишува определувањето на содржината на нитрит во козметички производи.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на нитрит во мострата, одредена согласно овој метод, се изразува во % маса (масени проценти) на натриум нитрит.

3. ПРИНЦИП

По разредување на мострата со вода и бистрењето, присутниот нитрит реагира со сулфаниламид и N-1-нафтилетилендиамин и оптичката густина на добиената боја се мери на 538 nm.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

4.1. Реагенси за прочистување: овие реагенси не може да се користат повеќе (подолго) од една недела од нивната подготовка.

4.1.1. Реагенс Карез (Carezz) I:

Растворете 106 g калиум цијаноферат (II) $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$, во дестилирана вода и разредете со вода до 1000 ml.

4.1.2. Реагенс Карез (Carezz) II:

Растворете 219,5 g на цинк ацетат $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ и 30 ml на глацијална оцетна киселина во дестилирана вода и разредете со вода до 1000 ml.

4.2. Раствор на натриум нитрит:

Растворете 0,500 g на натриум нитрит во дестилирана вода во волуметриска 1000-ml колба и разредете со вода до обележеното. Разредете 10,0 ml од овој основен стандарден раствор во 500 ml; 1 ml од второспоменатиот раствор = 10 микрограми на $NaNO_2$.

4.3. 1 N раствор на натриум хидроксид

4.4. 0,2 % раствор на сулфаниламид хидрохлорид:

Растворете 2,0 g на сулфаниламид во 800 ml вода со затоплување. Оладете и додадете 100 ml концентрирана хлороводородна киселина со мешање. Разредете со вода до 1000 ml.

4.5. 5N хлороводородна киселина

4.6. N-1-нафтил реагенс:

Овој раствор се подготвува истиот ден кога се употребува. Разредете 0,1 g N-1-нафтилетилендиамин дихидрохлорид во вода и разредете со вода до 100 ml.

5. АПАРАТУРА

5.1. Аналитичка вага

5.2. Волуметриски колби од 100, 250, 500 и 1000 ml

5.3. Пипети со резервоар или градуирани пипети

5.4. Мензури од 100 ml

5.5. Набрана филтер-хартија , без присуство на нитрит, дијаметар 15 cm

5.6. Водена бања

5.7. Спектрофотометар со кивети со оптичка големина од 1 cm

5.8. pH метар

5.9. Микробирета од 10 ml

5.10. Лабораториски чаши од 250 ml

6. ПОСТАПКА

6.1. Измерете околу 0,5 g (m грами) со прецизност од 0,1 mg од хомогенизирана мостра, пренесете ја со жешка дестилирана вода квантитативно во лабораториска чаша од 250-ml и дополнете до волумен од приближно 150 ml со жешка дестилирана вода. Ставете ја лабораториската чаша (5.10) на водена бања (5.6) на 80°C околу половина час. За време на овој период, протресувајте ја содржината повремено.

6.2. Изладете на собна температура и сукцесивно додавајте, со мешање, 2 ml од реагенсот Карез I (4.1.1) и 2 ml од реагенсот Карез II (4.1.2).

6.3. Додадете 1 N раствор на натриум хидроксид (4.3) за да ја нагодите pH вредноста на 8,3 (употребете pH метар (5.8)). Пренесете ја содржината квантитативно во волуметриска колба од 250-ml и дополнете до ознаката со дестилирана вода.

6.4. Измешајте ја содржината и филтрирајте преку набрана филтер-хартија (5.5).

6.5. Пипетирајте (5.3) соодветен и точно одреден дел (V ml) на чист филтрат, но не повеќе од 25 ml, во волуметриска колба од 100-ml (5.2) и додадете дестилирана вода до волумен од 60 ml.

6.6. По мешањето, додадете 10,0 ml на раствор на сулфаниламид хидрохлорид (4.4) и потоа 6,0 ml на 5 N хлороводородна киселина (4.5). Измешајте и оставете да отстои пет минути. Додадете 2,0 ml N-1-нафтил реагенс (4.6), промешајте и оставете да отстои три минути. Разредете со вода до ознаката и промешајте.

6.7. Подгответе слепа проба со повторување на постапките од 6.5 и 6.6 без додавање на N-1-нафтил реагенс (4.6).

6.8. Измерете (5.7) ја оптичката густина на 538 nm на растворот добиен под 6.6 употребувајќи слепа проба (6.7) за споредба.

6.9. Прочитајте ја содржината на натриум нитрит во микрограми на 100 ml раствор (m_1 во микрограми) што одговара на оптичката густина измерена во 6.8 од калибрациска крива (6.10).

6.10. Употребувајќи раствор на натриум нитрит со концентрација од 10 μg на ml, подгответе калибрациска крива за концентрации од 0, 20, 40, 60, 80, 100 μg од натриум нитрит на 100 ml.

7. ПРЕСМЕТКИ

Пресметајте ја содржината на натриум нитрит во мостра во % маса (масен процент) со помош на следнава формула:

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

каде:

m = масата на мострата во грами земени за анализа (6.1),

m_1 = содржината на натриум нитрит во микрограми добиена во 6.9,

V = милилитри на филтрат употребени за мерење (6.5).

8. ПОВТОРЛИВОСТ⁹

За содржина од околу 0,2 % m/m натриум нитрит разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,005 %.

⁹ Види ИСО (ISO) норма 5725.

IV. МЕТОД НА КОЛОРИМЕТРИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА И МЕТОД НА ТИТРАЦИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА СЛОБОДЕН ФОРМАЛДЕХИД

1. НАМЕНА И ОПСЕГ

Овој метод ја опишува идентификацијата и определувањето на содржината на слободен формалдехид. Истиот се применува за сите козметички производи и е составен од три дела:

1.1. Идентификација

1.2. Одредување со пентан-2,4-дионска колориметрија

Овој метод е неадекватен кога формалдехидот е комбиниран или полимеризиран, како што е случај со донорите на формалдехид. Доколку резултатот ја надминува максимално дозволената концентрација, се употребува следниот метод:

1.3. Одредување со бисулфит

Со овој метод, формалдехидот во повеќето комбинирани или полимерни состојки не се зема предвид. Сепак, одредени нестабилни комбинации (хексаметилен тетрамин, на пример) се одредуваат. Уште повеќе, мерењето на алкалноста е тешко во присуство на пуферен раствор.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на формалдехид во мострата одредена согласно овој метод се изразува во масени проценти.

3. ПРИНЦИП

3.1. Дел I - идентификација

Формалдехид во медиум од сулфурна киселина го прави Шифовиот (Schiff) реагенс розев или бледорозев.

3.2. Дел II - одредување со пентан-2,4-дион

Формалдехидот реагира со пентан-2,4-дионот во присуство на амониум ацетат при што се формира 3,5-диацетил-1,4-дихидролутидин. Истиот се екстрахира со бутан-1-ол и апсорпцијата на екстрактот се мери на 410 nm.

3.3. Дел III – одредување со бисулфит

Формалдехидот реагира со сулфитот во кисел медиум на 0°C формирајќи адиционо соединение. Вишокот протони се титрираат со натриум хидроксид. Потрошените протони се основа за пресметките при одредување на количеството на формалдехид. Слепата проба без сулфит овозможува да се измери алкалноста или киселоста на медиумот.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

4.1. Глацијална оцетна киселина

4.2. Безводен амониум ацетат

4.3. Бутан-1-ол

4.4. Сулфурна киселина, околу 2 N

4.5. Свежо подготвен 0,1 M раствор на натриум сулфит

4.6. Шифов реагенс 100 mg на фуксин се мери во лабораториска чаша и се раствора во 75 ml вода на 80°C.

По ладењето, додадете 2,5 ml на натриум сулфит хептахидрат ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и 1,5 ml концентрирана хлороводородна киселина ($d_4^{20} = 1,19$). Дополнете до 100 ml. (Овој реагенс не е погоден за користење по две недели.)

4.7. Пентан-2,4-дион реагенс

Во волуметриска колба од 1000-ml растворете:

150 g амониум ацетат (4.2),

2 ml пентан-2,4-дион (свежо дестилиран под редуциран притисок – не треба да покажа каква било апсорпција на 410 nm),

3 ml глацијална оцетна киселина (4.1).

Дополнете до 1000 ml со вода (pH на растворот: околу 6,4)

Овој реагенс треба да биде свежо подготвен.

4.8. Стандарден раствор на сулфурна киселина, 0,1 N

4.9. Стандарден раствор на натриум хидроксид, 0,1 N

4.10. Раствор на јод, 0,1N

4.11. Натриум тиосулфат, 0,1N

4.12. Основен раствор на формалдехид

Ставете 5 g на 37 до 40% раствор на формалдехид во волуметриска колба од 1000-ml и дополнете до 1000-ml.

Одредете ја јачината на овој раствор на следниот начин: Отстранете 10,00 ml; Додадете 25,00 ml стандарден 0,1 N раствор на јод (4.10) и 10 ml на 1 N раствор на натриум хидроксид.

Оставете да отстои пет минути.

Додадете 11 ml 1 N HCl и титрирајте го вишокот од стандарден 0,1 N раствор на јод (4.10) со стандарден 0,1 N раствор на натриум тиосулфат (4.11), употребувајќи раствор на скроб како индикатор.

1 ml на 0,1 N раствор на јод (4.10) е еквивалентно на 1,5 mg формалдехид.

4.13. Референтен раствор на формалдехид

Пипетирајте 5,00 ml од основен раствор (4.12) во градуирана колба од 100-ml и дополнете до 100 ml со деминерализирана вода.

Пипетирајте 5,00 ml од горенаведениот раствор во градуирана колба од 500-ml и дополнете до 500 ml со деминерализирана вода.

1 ml од овој раствор содржи околу 1 μg формалдехид.

Пресметајте ја точната содржина.

4.14. Раствор на тимолфталеин, 0,1 g/100 ml 50% етанол

4.15. Референтен раствор-реагенс: како реагенс со 4,7 но без пентан-2,4-дион

5. АПАРАТУРА

5.1. Стандардна лабораториска апаратура

5.2. Фазен филтер за сепарирање, Ватман (Whatman) 1 PS (или еквивалентно)

5.3. Центрифуга

5.4. Спектрофотометар

5.5. Кивети со оптичка големина од 1 cm

5.6. Потенциометар со пишувач

5.7. Стаклени/каломелови електроди (се препорачува да се користат специјални електроди за ниски температури).

6. ПОСТАПКА

6.1. Идентификација

6.1.1. Измерете 2 g од пробата во лабораториска чаша од 10 ml.

6.1.2. Додадете две капки од 2 N сулфурна киселина (4.4) и 2 ml Шифов реагенс (4.6) (овој реагенс треба да биде потполно безбоен кога се употребува). Протресете и оставете да отстои пет минути.

6.1.3. Доколку се забележи розева или бледорозева боја во рок од пет минути, формалдехидот е присутен повеќе од 0,01% и се одредува со постапката од 6.2 и, доколку тоа е неопходно, со постапката 6.3.

6.2. Одредување со пентан-2,4-дионска колориметрија

6.2.1. Пробен раствор

6.2.1.1. Во волуметриска колба од 100-ml измерете, со прецизност од 0,001 g количина (m во грами) од пробата што одговара на претпоставената количина на формалдехид од околу 150 микрограми.

6.2.1.2. Дополнете до 10 ml со деминерализирана вода и измешајте.

6.2.1.3. Во Ерленмејерова (Erlenmeyer) колба од 50-ml додадете: 10,00 ml раствор од 6.2.1.2, 5,00 ml пентан-2,4-дион реагенс (4.7), деминерализирана вода до конечен волумен од 30 ml.

6.2.2. Референтен раствор

Можната интерференција од позадинска боја во пробата се елиминира со употребата на референтен раствор.

Во Ерленмејерова (Erlenmeyer) колба од 50-ml додадете:

10,00 ml раствор од 6.2.1.2, 5,00 ml референтен реагенс раствор- (4.15), деминерализирана вода до конечен волумен од 30 ml.

6.2.3. Слепа проба

Во Ерленмејерова (Erlenmeyer) колба од 50-ml додадете:

5,00 ml пентан-2,4-дион реагенс (4.7), деминерализирана вода до конечен волумен од 30 ml.

6.2.4. Одредување

6.2.4.1. Протресете ги колбите од 6.2.1.3, 6.2.2 и 6.2.3 и потопете ги во водена бања на 60°C точно 10 минути. Оставете да се олади две минути во вода и лед.

6.2.4.2. Пренесете во одделителни инки од 50-ml што содржат 10,00 ml бутан-1-ол (4.3). Исплакнете ја секоја колба со 3 до 5 ml вода и додадете ги испироците во инките. Протресете ја мешавината силно точно 30 секунди. Оставете ја да се раздвои.

6.2.4.3. Филтрирајте во мерните кивети низ филтер за фазна сепарација. Центрифугирањето (со 5000 вртежи во минута, пет минути) е помалку практично и трае подолго.

6.2.4.4. Измерете ја оптичката густина A1 на 410 nm од екстрактот на пробата од 6.2.1.3 употребувајќи го екстрактот од референтниот раствор (6.2.2) за споредба.

6.2.4.5. На сличен начин измерете го екстрактот од контролниот раствор од 6.2.3 употребувајќи бутан-1-ол (A2) за споредба.

Забелешка

Сите овие активности треба да се изведат во рок од 25 минути од моментот кога Ерленмејеровата колба се става во водена бања на 60°C.

6.2.5. Калибрациска крива

6.2.5.1. Во Ерленмејерова (Erlenmeyer) колба од 50-ml ставете:

5,00 ml стандарден раствор (4.13), 5,00 ml пентан-2,4-дион реагенс (4.7), деминерализирана вода до конечен волумен од 30 ml.

6.2.5.2. Продолжете како што е опишано во оддел 6.2.4.5, измерете ја оптичката густина употребувајќи бутан-1-ол (4.3) за споредба.

6.2.5.3. Повторете ја постапката со 10, 15, 20 и 25 ml стандарден раствор.

6.2.5.4. За да добиете нулта вредност продолжете како во 6.2.4.5.

6.2.5.5. Составете ја калибрациската крива по одземањето на нултата вредност (6.2.4.5) од секоја оптичка густина добиена согласно 6.2.5.2 и 6.2.5.3. Бер-ов (Beer's) закон важи за количини до 30 µg формалдехид.

6.3. Одредување со бисулфит

6.3.1. Подготовка на проби

6.3.1.1. За тестирање

Во тарирана лабораториска чаша измерете со точност од 0,001 g количина од пробата (m во грами) што одговара на претпоставената количина помеѓу 3 и 20 mg формалдехид.

6.3.1.2. За референтно тестирање

На сличен начин, измерете ја референтната тест-мостра (m грами).

6.3.2. Одредување

6.3.2.1. Ставете 50,00 ml на 0,1 M натриум сулфит (4.5) во лабораториска чаша од 100-ml и додадете 10,00 ml на 0,1 N сулфурна киселина (4.8). Протресете.

6.3.2.2. Потопете ја лабораториската чаша во мешавина од мраз и сол со цел да се одржи температурата на целината на +2°C. Ставете ја пробата од 6.3.1.1.

6.3.2.3. Титрирајте брзо со потенциометар со 0,1N натриум хидроксид (4.9), постојано мешајќи и одржувајќи ја температурата помеѓу +2 и +4°C (неутралната точка лежи помеѓу pH 9 и 11). Нека V_1 биде потрошениот волумен од 0,1N натриум хидроксид (4.9).

6.3.3. Слепа проба

Титрирајте дополнително подготвен раствор како во 6.3.2.1 согласно условите опишани во 6.3.2.

Нека V_2 биде потрошениот волумен од 0,1N натриум хидроксид.

6.3.4. Референтен тест

Одредете ја киселоста или алкалноста на пробата со потенциометриска титрација со 0,1N натриум хидроксид (4.9) или 0,1N сулфурна киселина (4.8) во пробата m' . Нека v' биде потрошениот волумен од 0,1N натриум хидроксид или 0,1N сулфурна киселина.

6.3.5. Забелешки

Важно е строго да се следат условите за тестирање.

Можно е да се изврши одредување во присуство на тимолфталейн (4.14) како индикатор.

7. ПРЕЗЕНТАЦИЈА НА РЕЗУЛТАТИТЕ

7.1. Пресметки за колориметриски метод

7.1.1. Одземете A_2 од A_1 и отчитајте го износот C од калибрациската крива (6.2.5.5), во микрограми, за формалдехид во пробниот раствор (6.2.1.3).

7.1.2. Пресметајте ја содржината на формалдехид во пробата како процент од масата (масен %) ($\% m/m$) со помош на следнава формула:

$$\text{содржина на формалдехид (\%)} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

7.2. Пресметки за титрацискиот метод со бисулфит

Поврзете го волуменот на 0,1N натриум хидроксид (4.9) или 0,1N сулфурна киселина (4.8) земен во референтното тестирање со масата m :

$$v = \frac{v' \cdot m}{m'}$$

За неутрални производи v е секако нула.

7.2.1. Во случај на кисели производи:

$$\text{содржина на формалдехид (\%)} = \frac{0,30 \cdot (V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2. Во случај на алкални производи:

$$\text{содржина на формалдехид (\%)} = \frac{0,30 \cdot (V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3. Забелешка:

Доколку резултатите од двата методи се разликуваат, се земаат само пониските резултати.

8. ПОВТОРЛИВОСТ¹⁰

За содржина од околу 0,2% формалдехид, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат 0,005% за колориметрискиот метод и 0,05% за бисулфитниот метод.

V. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА РЕЗОРЦИНОЛ ВО ШАМПОНИ И ЛОСИОНИ ЗА КОСА

1. НАМЕНА И ОПСЕГ

Овој метод го опишува определувањето на содржината со гасна хроматографија на резорцинол во шампони и лосиони за коса. Овој метод е погоден за концентрации од 0,1 до 2,70% по маса во пробата.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на резорцинол во мострата одредена согласно овој метод се изразува во масени проценти .

3. ПРИНЦИП

Резорцинолот и 3,5-дихидрокситолуенот, (5-метилрезорцинол) додадени како внатрешен стандард, се одвојуваат од пробата со тенкослојна хроматографија. Двете состојки се изолирани со гребење на нивните точки од плочата за тенкослојна хроматографија и екстрахирање со метанол. Конечно екстрахираните соединенија се сушат, силираат и се одредуваат со гасна хроматографија.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да се со аналитичка чистота.

4.1. Хлороводородна киселина 25% (m/m)

4.2. Метанол

4.3. Етанол 96% v/v

4.4. Готови TLC плочи од силика гел (пластични или алуминиум) со флуоросцентен индикатор. Деактивирајте како што следи: испрскајте со вода обични плочи обложени со силика сè додека истите не бидат исполирани. Оставете да се осушат испрсканите плочи на воздух на собна температура од еден до три часа.

Забелешка

Доколку плочите не се деактивираат може да се појават загуби на резорцинол со неповратна апсорпција на силика гелот.

¹⁰ Види ИСО (ISO) норма 5725.

4.5. Растворувач за развивање; ацетон-хлороформ-оцетна киселина (20 : 75 : 5 во волумен).

4.6. Стандардни раствор на резорцинол; растворете 400 mg резорцинол во 100 ml од 96% етанол (4.3) (1 ml одговара на 4000 µg резорцинол).

4.7. Внатрешен стандарден раствор; растворете 400 mg 3,5-дихидрокситолуен (DHT) во 100 ml 96% етанол (4.3) (1 ml одговара на 4000 µg DHT).

4.8. Стандардна мешавина; измешајте 10 ml на растворот од 4.6 и 10 ml од растворот од 4.7 во волуметриска колба од 100-ml, дополнете до ознаката со 96% етанол (4.3) и измешајте (1 ml одговара на 400 µg резорцинол и 400 µg DHT).

4.9 Силирачки агенси: (Реагенси за силирање)

4.9.1. N,O-бис-(триметилсилил)трифлуороацетамид (BSFTA)

4.9.2. Хексаметилдисилазан (HMDS)

4.9.3. Триметилхлоросилан (TMCS)

5. АПАРАТУРА

5.1. Вообичаена опрема за тенкослојна и гасна хроматографија

5.2. Стаклени садови

6. ПОСТАПКА

6.1. Подготовка на проба

6.1.1. Измерете точно во лабораториска чаша од 150-ml проба (m грами) од производот што содржи приближно 20 до 50 mg резорцинол.

6.1.2. Закиселете со хлороводородна киселина (4.1) додека мешавината не стане кисела (приближно се потребни 2 до 4 ml), додадете 10 ml (40 mg DHT) на внатрешен стандарден раствор (4.7) и измешајте. Пренесете во волуметриска колба од 100-ml со етанол (4.3) дополнете до ознаката со етанол и измешајте.

6.1.3. Нанесете 250 µl од растворот на деактивирана силиконска плоча (4.4) во вид на непрекината линија со должина од приближно 8 cm. Внимавајте да ја направите линијата колку што е можно потенка.

6.1.4. Нанесете 250 µl на стандардна мешавина (4.8) на истата плочна на ист начин (6.1.3).

6.1.5. Обележете две точки на почетната линија со 5 µl од растворите 4.6 и 4.7 за да се помогне локализацијата по развивањето на плочката.

6.1.6. Развивајте ја плочката со необложена (незаситена) комора исполнета со растворувач за развивање 4.5 додека предниот бран (фронтот) на растворувачот

не ја достигне линијата на 12 cm од почетната линија; ова вообичаено трае околу 45 минути. Исушете ја на воздух плочката и локализирајте ја зоната со резорцинол/DHT под кратко бранова УВ светлост (254 nm). Двете состојки имаат приближно исти R_f вредности. Обележете ги дамките со молив на 2 mm растојание од надворешната темна граница на дамките. Отстранете ги овие зони и соберете го атсорбентот од секоја дамка во шише од 10-ml.

6.1.7. Екстрахирајте го атсорбентот што ја содржи мострата (пробата) и атсорбентот што ја содржи стандардната мешавина, секој на следниот начин: додадете 2 ml метанол (4.2) и екстрахирајте еден час со постојано мешање. Филтрирајте ја мешавината и повторете ја екстракцијата уште 15 минути со 2 ml метанол.

6.1.8. Комбинирајте ги екстрактите и испарувајте го растворувачот со сушење преку ноќ во вакуумски сушач исполнет со соодветен десикатор. Не загревајте.

6.1.9. Силирајте ги резидуите (6.1.8) или на начинот во 6.1.9.1 или 6.1.9.2.

6.1.9.1. Додадете 200 μ l BSTFA (4.9.1) со микрошприц и оставете ја мешавината во затворен сад 12 часа на собна температура.

6.1.9.2. Последователно додавајте 200 μ l HMDS (4.9.2) и 100 μ l TMCS (4.9.3) со микрошприц и загревајте ја мешавината 30 минути на 60°C во затворен сад. Изладете ја мешавината.

6.2. Гасна хроматографија

6.2.1. Хроматографски услови

Колоната треба да даде раздвојување R , еднакво на или подобро од 1,75, каде:

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

каде:

r_1 и r_2 = времиња на задржување во минути на двата пика,

w_1 и w_2 = ширината на двата пика на половина висина во mm,

d' = брзината на графиконот во mm во минута.

Следниве услови се сметаат за погодни за колоната и гасна хроматографија:

Колона:

материјал:	нерѓосувачки челик
должина:	200 cm
внатрешен дијаметар:	~ 3 mm
полнење:	10% OV-17 на Хромосорб (Chromosorb) WAW мрежа 100 на 120

Пламен јонизирачки детектор

Температури:

колона:	185°C (изотермални)
детектор:	250°C
инјектор:	250°C

Носечки гас:

	азот
проток:	45 ml/min.

За поставување на протокот на водород и воздух следете ги инструкциите на производителот.

6.2.2. Инјектирајте 1 до 3 μl од растворите добиени согласно 6.1.9 во гасниот хроматограф. Изведете пет инјектирања за секој раствор (6.1.9), измерете ги површините на пиковите, најдете просечни вредности и пресметајте го соодносот на површините: $S = \text{вредност на пикот за резорцинол} / \text{вредност на пикот за ДНТ}$.

7. ПРЕСМЕТКИ

Концентрацијата на резорцинол во мострата, изразена како % од масата (масен процент) (% m/m), е дадена со:

$$\% \text{ резорцинол} = \frac{4}{M} \cdot \frac{S_{\text{мостра}}}{S_{\text{стандардна мостра}}}$$

каде:

M	= одвага на проба во грами (6.1.1),
$S_{\text{мостра}}$	= соодносот на просечната површина на пикот согласно 6.2.2 за пробниот раствор,
$S_{\text{еталонска мешавина}}$	= соодносот на просечната површина на пикот согласно 6.2.2 за стандардната мешавина.

8. ПОВТОРЛИВОСТ¹¹

За содржина од околу 0,5 % на резорцинол разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,025 %.

VI. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА МЕТАНОЛ ВО ОДНОС НА ЕТАНОЛ ИЛИ ПРОПАН-2-ОЛ

1. НАМЕНА И ОПСЕГ

Овој метод ја опишува анализата на метанол со гасна хроматографија на сите видови козметички производи (вклучувајќи аеросоли).

Може да бидат одредени релативни количества од 0 до 10%

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на метанол одредена со овој метод се изразува во масен % на метанол во однос на етанол или пропан-2-ол.

3. ПРИНЦИП

Одредувањето се спроведува со гасна хроматографија.

4. РЕАГЕНСИ

Употребете реагенси со аналитичка чистота.

4.1. Метанол

¹¹ Види ИСО (ISO) норма 5725.

4.2. Апсолутен етанол

4.3. Пропан-2-ол

4.4. Хлороформ, ослободен од алкохол со миене со вода

5. АПАРАТУРА

5.1. Гасен хроматограф:

со катерометарски детектор за аеросолни мостри,

со пламен јонизирачки детектор за неаеросолни мостри.

5.2. Волуметриска колба, 100 ml

5.3. Пипети, 2 ml, 20 ml, 0 до 1 ml

5.4. Микрошприцеви од 0 до 100 μ l и 0 до 5 μ l и (само за аеросолни мостри) специјален шприц херметички затворен со лизгачки клип, види постапка за земање мостри на слика 5¹².

6. ПОСТАПКА

6.1. Подготовка на проба

6.1.1. Од аеросолните производи се земаат мостри согласно Глава II од Анексот на Директивата бр. 80/1335/ЕЕЗ на Комисијата од 22 декември 1980⁸ и потоа се анализираат со гасна хроматографија според условите од 6.2.1.

6.1.2. Неаеросолните производи од коишто се земени мостри согласно горенаведената Глава II се разредуваат со вода до ниво на 1 до 2% етанол или пропан-2-ол и потоа се анализираат со гасна хроматографија според условите од 6.2.2.

6.2. Гасна хроматографија

6.2.1. За аеросолни мостри се употребува катерометарски детектор.

6.2.1.1. Колоната е наполнета со 10% Халкомид (Hallcomid) M18 на Хромосорб (Chromosorb) WAW меша 100 на 200.

6.2.1.2. Колоната треба да даде раздвојување R, еднакво на или подобро од 1,75, каде:

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

каде:

r_1 и r_2 = времиња на задржување во минути на двата пика,

w_1 и w_2 = ширината на двата пика на половина висина во mm,

d' = брзината на графиконот во mm во минута.

¹² OJ No L 383, 31.12.1980, стр. 27.

6.2.1.3. Следниве услови дозволуваат да се постигне ова раздвојување:

Колона:

материјал:	нерѓосувачки челик
должина:	3,5 метри
внатрешен дијаметар:	3 mm
Струја на катарометарскиот мост:	150 mA
Носечки гас:	хелиум
притисок:	2,5 бари
проток:	45 ml/min.

Температури:

колона:	150°C
детектор:	150°C
инјектор:	65°C

Мерењата на површината на пикот може да се подобри со електронска интеграција.

6.2.2. За неаеросолни мостри:

6.2.2.1. Колоната е исполнета со Chromosorb 105 или Порапак (Porapak) QS и се употребува пламен јонизирачки детектор.

6.2.2.2. Колоната треба да даде раздвојување, R, еднакво на или подобро од 1,75, каде:

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

каде:

r_1 и r_2 = времиња на задржување во минути на двата пика
 w_1 и w_2 = ширината на двата пика на половина висина во mm,
 d' = брзината на графиконот во mm во минута.

6.2.2.3. Ова решение се постигнува во следни услови:

Колона

материјал:	нерѓосувачки челик
должина:	2 метри
внатрешен дијаметар:	3 mm
Осетливост на електрометарот:	8×10^{-10} A

Гасови:

носечки:	азот
притисок:	2,1 бари
проток:	40 ml/min.

Дополнителен гас:

притисок:	1,5 бари
проток:	20 ml/min.

Температури:

инјектор:	150°C
детектор:	230°C
печка-колона:	120 до 130°C

7. СТАНДАРДНИ ГРАФИКОНИ

7.1. Употребете ги следниве стандардни мешавини во постапката за гасна хроматографија 6.2.1 (Hallcomid M18 колона) Подгответе ги овие мешавини

мерејќи со пипети, но најдете ја точната количина така што веднаш ќе ја измерите пипетата или колбата по секое додавање.

Релативна јачина (m/m %)	Метанол (ml)	Етанол или пропан-2-ол (ml)	Хлороформ додаден на волумен од
приближно 2,5%	0,5	20	100 ml
приближно 5,0%	1,0	20	100 ml
приближно 7,5%	1,5	20	100 ml
приближно 10,0%	2,0	20	100 ml

Инјектирајте 2 до 3 μ l во хроматографот употребувајќи ги условите од 6.2.1. Пресметајте го соодносот на површините на пиковите (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол) од секоја мешавина. Нацртајте го стандардниот графикон употребувајќи:

X-оска: % метанол во корелација со етанол или пропан-2-ол,

Y-оска: соодносот на површините на пиковите (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол).

7.2. Употребете ги следниве стандардна мешавини во постапката за гасна хроматографија 6.2.2 (Porapak QS или Chromosorb 105). Подгответе ги овие мешавини мерејќи со микрошприцеви и пипети, но најдете го точниот износ така што веднаш ќе ја измерите пипетата или колбата по секое додавање.

Релативна јачина (m/m %)	Метанол (μ l)	Етанол или пропан-2-ол (ml)	Вода додадена на волумен од
приближно 2,5%	50	2	100 ml
приближно 5,0%	100	2	100 ml
приближно 7,5%	150	2	100 ml
приближно 10,0%	200	2	100 ml

Инјектирајте 2 до 3 μ l во хроматографот употребувајќи ги условите од 6.2.2.

Пресметајте го соодносот на површини (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол) од секоја мешавина. Нацртајте го стандардниот графикон употребувајќи:

X-оска: % метанол во корелација со етанол или пропан-2-ол,

Y-оска: соодносот на површините на пикови (метанол/етанол) или (метанол/пропан-2-ол).

7.3. Стандардниот графикон (Стандардната крива) треба да биде права линија.

8. ПОВТОРЛИВОСТ¹³

За содржина од околу 5% метанол, во однос на етанол или пропан-2-ол, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминува 0,25%.

¹³ Види ИСО (ISO) норма 5725.

Прилог бр.3

I. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ДИХЛОРОМЕТАН И 1,1,1-ТРИХЛОРОЕТАН

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Овој метод го опишува определувањето на содржината на дихлорометан (метилен хлорид) и 1,1,1-трихлороетан (метил хлороформ) во сите козметички производи кои може да ги содржат овие раствори.
2. ДЕФИНИЦИИ
Содржината на дихлорометан и 1,1,1-трихлороетан во мостра одредена според овој метод се изразува како процент од масата.
3. НАЧЕЛО
Методот користи гасна хроматографија со хлороформ како внатрешен стандард.
4. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да бидат со аналитички квалитет.
 - 4.1. Хлороформ (CHCl_3).
 - 4.2. Јаглерод тетрахлорид (CCl_4).
 - 4.3. Дихлорометан (CH_2Cl_2).
 - 4.4. 1,1,1-трихлороетан (CH_3CCl_3).
 - 4.5. Ацетон.
 - 4.6. Азот.
5. АПАРАТУРА
 - 5.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
 - 5.2. Гасен хроматограф поврзана со термално спроводлив детектор (топлоотно кондуктивен детектор).
 - 5.3. Преносно шише, 50 до 100 ml (види метод за земање мостри 5.3)¹⁴.
 - 5.4. Гасен шприц под притисок, 25 или 50 μl (види метод за земање мостри 5.4.2.2)⁵.
6. ПОСТАПКА
 - 6.1. Мостра која не е под притисок: точно измерете ја мострата во конусна зачепена колба. Внесете точно измерено количество хлороформ (4.1) како внатрешен стандард еднаков на претпоставуваното количество дихлорометан и 1,1,1-трихлороетан содржано во мострата. Добро измешајте.
 - 6.2. Мостра под притисок: се употребува методот за земање мостри опишан во поглавјето за земање мостри, но со следниве подобрувања:
 - 6.2.1. По пренесувањето на мострата во преносното шише (5.3), внесете количество хлороформ (4.1) во преносното шише како внатрешен стандард еднаков на претпоставеното количество дихлорометан и/или 1,1,1-трихлороетан содржано во мострата. Темелно измешајте. Исплакнете го неактивното количество од цревето со 0,5 ml јаглерод тетрахлорид (4.2).

¹⁴ OJ No L 383, 31.12.1980, стр.27.

Откако ќе се исуши, точно одредете ја додадената маса од внатрешниот стандард преку разликата.

- 6.2.2. Откако шприцот ќе го наполните со мострата, клипот од шприцот треба да се прочисти со азот (4.6). така што трагите од остатоците нема да останат пред инјектирање во хроматографот.
- 6.2.3. По земање на секоја мостра, инјекторот и клипот на шприцот треба неколку пати да се исплакнат со ацетон (4.5) (употребувајќи како што е предвидено хиподермичен шприц) и тогаш темелно се сушат со азот (4.6).
- 6.2.4. Секоја анализа се врши употребувајќи две различни преносни шишиња и пет мерења по шише.

7. ХРОМАТОГРАФСКИ УСЛОВИ

7.1. Предколона

Цевка: нер'фосувачки челик

Должина: 300 mm

Дијаметар: 3 до 6 mm

Пакување: ист материјал како што е употребуван за аналитичкото пакување на колона.

7.2. Колона:

Неподвижната (стационарна) фаза е Халкомид М18 на хромосорб. Колоната треба да дава резолуција 'R' еднаква на или поголема од 1,5 кога:

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

r_1 и r_2 = време на задржување (во минути)

W_1 и W_2 = широчина на пикот на половина од висината (во милиметри),

d' = брзина на хартијата (во милиметри во минута).

7.3. Како примери следниве колони ги даваат бараните резултати:

Колона	I	II
Материјал:	Цевки од нер'фосувачки челик	Цевки од нер'фосувачки челик
Должина:	350 cm	400 cm
Дијаметар:	3 mm	6 mm
Поддршка:		
хромосорб:	WAW	WAW-DMCS-HP
сито анализа	100 до 120 меша	60 до 80 меша
(анализа на полнење)		
Неподвижна фаза:	Халкомид М18, 10%	Халкомид М18, 20%

Температурните услови може да варираат како функција на апаратурата. Во примерите тие се поставени како што следува:

Колона	I	II
Температура:		
колона:	65°C	75°C
инјектор:	150°C	125°C

детектор:	150°C	200°C
Носечки гас:		
Проток на хелиум:	45 ml/мин	60 ml/мин
Инјектирање:	15 µl	15 µl

8. МЕШАВИНИ ЗА ОДРЕДУВАЊЕ НА ФАКТОРИ ЗА ОДГОВОР

Пригответе ја следнава точно измерена мешавина во конусна колба со брусено грло:

Дихлорометан (4.3), 30 % (m/m).

1,1,1-трихлороетан (4.4), 35% (m/m).

Хлороформ (4.1), 35% (m/m).

9. ПРЕСМЕТКИ

9.1. Пресметување на факторот на одговор на супстанцијата 'р' во однос на супстанцијата 'а' одбрана како внатрешен стандард

Дозволете (нека) првата супстанција да биде 'р', каде:

k_p = нејзиниот фактор на одговор,

m_p = нејзината маса во мешавината,

A_p = нејзината површина под пикот.

Дозволете (нека) втората супстанција да биде 'а', каде:

k_a = нејзиниот фактор на одговор (направено еднакво на единица),

m_a = нејзината маса во мешавината,

A_a = нејзината површина под пикот.

Тогаш:

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

Како примери добиени се следниве фактори на одговор (за хлороформ: $k=1$):

Дихлорометан: $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

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

9.2 Пресметајте го % (m/m) од дихлорометан и 1,1,1-трихлороетан присутни во мострата кој се анализира (испитуваниот примерок)

каде:

m_a = масата (во грами) на инјектираниот хлороформ,

M_s = масата (во грами) на мострата која се анализира,

A_a = површина под пикот на хлороформот

A_1 = површина под пикот на дихлорометан,

A_2 = површина под пикот на 1,1,1-трихлороетан,

Тогаш:

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

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

10. ПОВТОРЛИВОСТ¹⁵

За содржина дихлорометан и/или 1,1,1-трихлороетан од 25% (m/m), разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 2,5%.

II. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХИНОЛИН-8-ОЛ И БИС(8-ХИДРОКСИХИНОЛИНИУМ) СУЛФАТ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод го опишува идентификувањето и квантитативното определување на содржината на хинолин 8-ол и бис(8-хидроксихинолиниум) сулфат.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на хинолин 8-ол и бис(8-хидроксихинолиниум) сулфат на мострата како што е одредено со овој метод е изразено како процент од масата на хинолин 8-ол.

3. НАЧЕЛО

3.1. Идентификација

Идентификацијата се врши со тенкослојна хроматографија.

3.2. Одредување

Одредувањето се врши со спектрофотометрија на 410 nm од комплексот добиен со реакција со фелингов раствор.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

4.1. Хинолин 8-ол.

4.2. Бензен. Во поглед на токсичноста, поголемо влијание треба да се обрне кога се работи со бензен.

4.3. Хлороформ.

4.4. Воден раствор на натриум хидроксид, 50% (m/m) раствор.

4.5. Бакар сулфат пентахидрат.

4.6. Калиум натриум тартарат.

4.7. М хлороводородна киселина.

4.8. 0,5 М сулфурна киселина.

4.9. М раствор на натриум хидроксид.

4.10. Етанол.

4.11. Бутан-1-ол

4.12. Глацијална оцетна киселина.

4.13. 0,1 хлороводородна киселина.

4.14. 'Целите 545'(Celite 545) или еквивалент.

4.15. Стандардни раствори

¹⁵ Norm ISO 5725.

- 4.15.1. Измерете 100 mg хинолин 8-ол (4.1) во 100 ml стандардна колба. Растворете во малку сулфурна киселина (4.8). Дополнете до ознаката со сулфурна киселина (4.8).
 - 4.15.2. Измерете 100 mg хинолин 8-ол во 100 ml стандардна колба. Растворете во малку етанол (4.10). Дополнете до ознаката со етанол (4.10) и измешајте.
 - 4.16. Фелингов раствор
Раствор А
Измерете 7 g бакар сулфат пентахидрат (4.5) во 100 ml стандардна колба. Растворете во малку вода. Дополнете до ознаката со вода и промешајте.
Раствор Б
Измерете 35 g калиум натриум тартарат (4.6) во 100 ml стандардна колба. Растворете во 50 ml вода. Додадете 20 ml натриум хидроксид (4.4) Дополнете до ознаката со вода и промешајте. Веднаш пред употребата, со пипета ставете 10 ml од растворот Б во 100 ml стандардна колба. Дополнете до ознаката и промешајте.
 - 4.17. Раствори за елуирање за тенкослојната хроматографија
I : бутан-1-ол (4.11) / оцетна киселина (4.12) / вода (80:20:20; v/v/v).
II : хлороформ (4.13) / оцетна киселина (4.12) (95:5; v/v).
 - 4.18. 2,6-дихлоро-4-(хлороимино)циклохекса-2,5-диенон, 1% (m/v) раствор во етанол (4.10).
 - 4.19. Натриум карбонат, 1% (m/v) раствор во вода.
 - 4.20. Етанол (4.10), 30% (v/v) раствор во вода.
 - 4.21. Динатриум дихидроген етилендиаминтетраацетат, 5% (m/v) раствор во вода.
 - 4.22. Пуфер раствор, pH 7
Измерете 27 g анхидриден калиум дихидрогенортофосфат и 70 g дикалиум хидрогенортофосфат трихидрат во еднолитарска стандардна колба. Дополнете до ознаката со вода.
 - 4.23. Приготвена тенкослојна плоча
Приготвени тенкослојни плочи со дебелина од 0,25 mm (на пр. Мерк Киселгел 60 или нејзин еквивалент). Пред употребата, испркајте ја со 10 ml реагенс (4.21) и исушете на 80°C.
5. АПАРАТУРА
 - 5.1. 100 ml колба со тркалезно дно со шлиф.
 - 5.2. Стандардни колби.
 - 5.3. Градуирани пипети, 10 и 5 ml.
 - 5.4. Главичести пипети, 20, 15, 10 и 5 ml.
 - 5.5. Одделителни инки, 100, 50 и 25 ml.
 - 5.6. Исфалтана филтер хартија, дијаметар 90 mm.
 - 5.7. Ротирачки испарувач.
 - 5.8. Рефлуксно ладило со брусено грло .
 - 5.9. Спектрофотометар.
 - 5.10. Кивета од 10 mm .
 - 5.11. Мешалка со грејач.
 - 5.12. Димензии на стаклената цевка за хроматографија: 160 mm должина со дијаметар од 8 mm, на долниот крај да има стаклена волна, а на горниот крај адаптер за примена на притисокот.(за притискање)
 6. ПОСТАПКА
 - 6.1. Идентификација

6.1.1. Течни мостри

- 6.1.1.1. рН вредноста на дел од тест мострата е прилагодена на 7,5 и 10 μl се нанесуваат на почетната линија на предтретираната тенкослојна плоча од силика гел (4.23).
- 6.1.1.2. 10 и 30 μl од стандардниот раствор (4.15.2) се нанесува на други две точки на почетната линија после кое плочата се развива во една од двете елуенти (4.17).
- 6.1.1.3. Кога фронтот на растворувачот ќе достигне 150 mm, плочата се суши на 110°C (15 минути). Под УВ ламба (366 nm) хиолин 8-ол е видлив како флуоресцентно жолта дамка.
- 6.1.1.4. Испрскајте ја плочата со раствор од натриум карбонат (4.19). Исушете и испрскајте со раствор од 2,6-дихлоро-4-(хлоримино)циклохекса-2,5-диенон (4.18). Хиолин 8-ол станува видлив како сини дамки.

6.1.2. Цврсти мостри од кремови

- 6.1.2.1. Диспергирај 1 g од мострата во 5 ml пуфер раствор (4.22). Тогаш пренесете ја со 10 ml хлороформ (4.3) во одделителна инка и протресете. По одделување на хлороформниот слој, водениот слој се екстрахира уште два пати со 10 ml хлороформ (4.3). Евапорирајте ги комбинираните и филтрирани екстракти од хлороформ скоро до исушување во 100 ml колба со тркалезно дно (5.1) на ротирачки испарувач (5.7) Растворете го остатокот во 2 ml хлороформ (4.3) и нанесете 10 и 30 μl од добиениот раствор врз тенкослојна плоча од силика-гел (4.23) во согласност со методот опишан во 6.1.1.1 понатаму.
- 6.1.2.2. Нанесете 10 и 30 μl од стандарден раствор (4.15.2) на плоча и продолжете како што е опишано во 6.1.1.2 до 6.1.1.4.

6.2. Одредување

6.2.1. Течни мостри

- 6.2.1.1. Измерете 5 g од мострата во колба со тркалезно дно од 100 ml. Додадете 1 ml од раствор на сулфурна киселина (4.8) и испарувајте ја мешавината скоро до суво под намален притисок на 50°C.
- 6.2.1.2. Растворете го овој остаток во 20 ml топла вода. Пренесете го во стандардна колба. Од 100 ml Исплакнете го три пати со 20 ml вода. Дополнете до ознаката со вода.
- 6.2.1.3. 5 ml од овој раствор со пипета внесете во одделителна инка од 50 ml (5.5). Додадете 10 ml Фелингов раствор (4.16). Екстрахирајте го хиолин 8-ол бакарниот комплекс (оксин бакар (ИСО)) добиен со три пати 8 ml хлороформ (4.3).
- 6.2.1.4. Филтрирајте и соберете ги слоевите од хлороформ 25 ml стандардна колба (5.2). Дополнете до ознаката со хлороформ (4.3) и протресете. Измерете ја оптичката густина на жолтиот раствор наспроти хлороформот на 410 nm.

6.2.2. Цврсти мостри од креми

- 6.2.2.1. Измерете 0,500 g мостра во колба со тркалезно дно од 100 ml (4.1). Додадете 30 ml бензен (4.20) и 20 ml хлороводородна киселина (4.7). Мешајќи, зовријте ја содржината на колбата под рефлукс за период од 30 минути.
- 6.2.2.2. Пренесете ја содржината од колбата во одделителна инка од 100 ml (5.5). Исплакнете со 5 ml 1 N HCl (4.7). Пренесете ја водената фаза во колба со тркалезно дно (5.1) и измијте ја бензеновата фаза со 5 ml хлороводородна киселина (4.7).

6.2.2.3. Во случај на емулзии кои ја отежнуваат постапката, измешајте 0,500 g мостра со 2 g Селите 545 (4.14) за да се формира слободно протечна пудра. Пренесете ја мешавината во мали делови во стаклената хроматографска колона (5.12).

По секое додавање, утапкајте го пакувањето во колоната. Кога сета мешавина ќе се пренесе во колоната, елуирајте со хлороводородна киселина (4.13) на начин на кој ќе се добива 10 ml елуат во приближно 10 минути (доколку е потребно, оваа елуација може да се изведе под слаб азотен притисок). При елуацијата треба да се осигури постоење на малку хлороводородна киселина над пакувањето во колоната. Првите 10 ml од елуатот понатаму се третираат како што е опишано 6.2.2.4.

6.2.2.4. Упарете ја собраната водена фаза (6.2.2.2) или елуатот (6.2.2.3) скоро до исушување во ротирачки исушувач под намален притисок.

6.2.2.5. Растворете го остатокот во 6 ml раствор од натриум хидроксид (4.9). Додадете 20 ml фелингов раствор (4.16) и пренесете ја содржината од колбата во 50 ml одделителна инка (5.5). Исплакнете ја колбата со 8 ml хлороформ (4.3). Протресете и филтрирајте ја хлороформната фаза во 50 ml стандардна колба (5.2).

6.2.2.6. Повторете ја екстракцијата три пати со по 8 ml хлороформ (4.3). Филтрирајте ги хлороформните фази и соберете ја во 50 ml колба. Дополнете до ознаката со хлороформ (4.3) и протресете. Измерете ја оптичката густина на жолтиот раствор наспроти хлороформот (4.3) на 410 nm.

7. СТАНДАРДНА КРИВА

Во четири колби со тркалезно дно од 100 ml (5.1), од која секоја содржи 3 ml 30% воден раствор на етанол (4.20), ставете со пипета 5, 10, 15 и 20 ml од стандардниот раствор (4.15.1) кои одговараат на 5, 10, 15 и 20 mg хиолин 8-ол. Продолжете како што е опишано во 6.2.1.

8. ПРЕСМЕТКИ

8.1. Течни примероци

$$\text{Хиолин 8-ол содржина (во \% (m/m))} = \frac{a}{m} \times 100$$

Каде:

a = милиграми од хиолин-8-ол од стандардната крива (7),
m = маса (во милиграми) од делот за тестирање (6.2.1.1).

8.2. Цврсти примероци или креми

$$\text{Содржина на хиолин-8-ол (во \% (m/m))} = \frac{2a}{m} \times 100$$

Каде:

a = милиграми од хиолин-8-ол од стандардната крива (7),
m = маса (во милиграми) од пробата/примерокот (6.2.1.1).

9. ПОВТОРЛИВОСТ¹⁶

¹⁶ Norm ISO 5725.

За содржина од околу 0,3% хинолин-8-ол, разликата помеѓу резултатите на двете паралелно извршени одредувања врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,02%.

III. МЕТОД НА ТАЛОЖЕЊЕ И ТИТРАЦИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА АМОНИЈАК

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Овој метод го опишува определувањето на содржината на слободен амонијак во козметички производи.
2. ДЕФИНИЦИЈА
Содржината на амонијак во пробата/примерокот одредена во согласност со овој метод е изразена како масен процент на амонијак.
3. НАЧЕЛО
На примерок од козметичкиот производ кој е растворен во водено-метанолен медиум, се додава раствор на бариум хлорид. Сиот талог кој може да се појави се филтрира или се центрифугира. Со оваа постапка се избегнува загуба на амонијак во текот на дестилацијата со пареа од одредени амониумови соли како карбонат и хидрокарбонат и оние од масните киселини, со исклучок на амониум ацетат.
Амонијакот се дестилира под пареа од филтратот или од супернатантот и се одредува со потенциометриска или друга титрација.
4. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 4.1. Метанол.
 - 4.2. Раствор од бариум хлорид дихидрат, 25% (m/v).
 - 4.3. Ортоборна киселина, 4 % (m/v) раствор.
 - 4.4. Сулфурна киселина, 0,25 М стандарден раствор.
 - 4.5. Течност против пенење.
 - 4.6. Натриум хидроксид, 0,5 М стандарден раствор.
 - 4.7. Индикатор, доколку е потребно: измешајте 5 ml од 0,1% (m/v) етанолан раствор на метиленско црвено со 2 ml 0,1% (m/v) воден раствор на метиленско сино.
5. АПАРАТУРА
 - 5.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
 - 5.2. Центрифуга со шишиња од 100 ml со затварачи .
 - 5.3. Апаратура за дестилација со водена пареа
 - 5.4. Потенциометар.
 - 5.5. Индикациони стаклени електроди и дијивини дихлоридни (каломелова) референтна електрода.
6. ПОСТАПКА
 - 6.1. Во стандардна 100 ml колба измерете маса (m) од мострата која одговара на максимално 150 mg амонијак.
 - 6.2. Додадете 10 ml вода, 10 ml метанол (4.1) и 10 ml раствор од бариум хлорид (4.2). Дополнете до 100 ml со метанол (4.1).

- 6.3. Измешајте и оставете да преноќи во фрижидер (5°C).
- 6.4. Тогаш исфилтрирајте или центрифугирајте го сè уште студениот раствор во затворени епрувети 10 минути за да се добие чист филтрат или супернантен слој.
- 6.5. Со пипета внесете 40 ml од овој чист раствор во апаратура за парна дестилација (5.3), а потоа внесете 0,5 ml течност против пенење (4.5), по потреба.
- 6.6. Дестилирајте и соберете 200 ml од дестилатот во 250 ml лабораториска чаша која содржи 10 ml стандардна сулфурна киселина (4.4) и 0,1 ml индикатор (4.7).
- 6.7. Ретитрирајте го вишокот киселина со стандарден раствор од натриум хидроксид (4.6).
- 6.8. Забелешка: За потенциометриско одредување, соберете 200 ml дестилат во 250 ml лабораториска чаша која содржи 25 ml раствор од ортоборна киселина (4.3) и титрирајте со стандардна сулфурна киселина (4.4), впишувајќи ја кривата на неутрализација.

7. ПРЕСМЕТКИ

7.1. Пресметки во случај на ретитрација

Земете (Нека):

V_1 = волумен (во милилитри) на употребениот раствор на натриум хидроксид (4.6),

M_1 = неговата вистинска моларност (4.6),

M_2 = факторот на вистинска моларност на растворот од сулфурна киселина (4.4),

m = масата (во милиграми) од земениот примерок (6.1),

тогаш:

$$\text{амонијак \% (m/m)} = \frac{(20 \cdot M_2 - V \cdot M_1) \cdot 17 \cdot 100}{0,4 \cdot m} = \frac{(20 \cdot M_2 - V_1 \cdot M_1) \cdot 4250}{m}$$

7.2. Пресметки во случај на директна потенциометриска титрација

Земете:

V_2 = волумен (во милилитри) на употребениот раствор на сулфурна киселина (4.4),

M_2 = неговата вистинска моларност (4.4),

m = масата (во милиграми) од земениот примерок (6.1),

тогаш:

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

8. ПОВТОРЛИВОСТ¹⁷

За содржина од околу 6% амонијак, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,6%.

¹⁷ Norm ISO 5725.

IV. МЕТОД НА РЕАКЦИЈА СО БОЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА, МЕТОД НА ЈОДОМЕТРИЈА И МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА НИТРОМЕТАН

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Методот е соодветен за одредување и идентификување на нитрометан до околу 0,3% во козметички производи пакувани во аеросолни распрскувачи.
2. ДЕФИНИЦИЈА
Содржината на нитрометан во примерокот е одредена со овој метод како масен процент (m/m) нитрометан во вкупната содржина на аеросолниот распрскувач.
3. НАЧЕЛО
Нитрометанот се идентификува со реакција со боја. Нитрометанот се одредува со гасна хроматографија по додавање на внатрешен стандард.
4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА
 - 4.1. Реагенси
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота
 - 4.1.1. Натриум хидроксид, 0,5 М раствор
 - 4.1.2. Фолинов реагенс
Растворете 0,1 g натриум 3,4-дихидро-3,4-диоксонафтален-1-сулфонат во вода и разредете до 100 ml.
 - 4.2. Постапка
Кон 1 ml од мострата додадете 10 ml од 4.1.1. и 1 ml од 4.1.2. Виолетова обоеност укажува на присуство на нитрометан.
5. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА
 - 5.1. Реагенс
Сите реагенси треба да имаат аналитички квалитет.
 - 5.1.1. Хлороформ (внатрешен стандард1).
 - 5.1.2. 2,4-диметилхептан (внатрешен стандард2).
 - 5.1.3. Етанол, 95%.
 - 5.1.4. Нитрометан.
 - 5.1.5. Референтен раствор на хлороформ
Во претходно тарирана волуметриска колба од 25 ml, внесете околу 650 mg хлороформ (5.1.1). Повторно точно измерете ја колбата и содржината. Дополнете до 25 ml со 95% етанол (5.1.3.). Измерете и пресметајте го процентот според масата на хлороформ во овој раствор.
 - 5.1.6. Референтен раствор на 2,4-диметилхептан
Пригответе на сличен начин како и референтниот раствор на хлороформ но измерете 270 mg од 2,4-диметилхептан (5.1.2). во 25 ml волуметриска колба.
 - 5.2. Апаратура
 - 5.2.1. Гасен хроматограф со пламен јонизирачки детектор.

5.2.2. Апаратура за земање на мостри од аеросоли (преносно шише, конектори за микрошприц, итн.) како што е опишано во Поглавје 2 од Анексот кон Директивата бр. 80/1335/ЕЕЗ на Советот од 22 декември 1980¹⁸.

5.2.3. Вообичаена лабораториска апаратура.

5.3. Постапка

5.3.1. Приготвување на мострата

Во 100 ml преносно шише, прочистени или испуштени согласно постапката опишана во 5.4 од Поглавје 2 од гореспоменатата директива, внесете 5 ml раствори од внатрешен стандард (5.1.5 или 5.1.6). Употребете 10 или 20 ml стаклен шприц без игла, прилагоден кон преносниот дел следејќи ја техниката опишана во став 5 од Поглавје 2 од гореспоменатата директива на Комисијата. Повторно измерете за да го одредите внесеното количество. Употребувајќи ја истата техника, во ова шише пренесете околу 50 g од содржината од мострата од аеросолниот распрснувач. Повторно измерете за да го одредите количеството на пренесената мостра. Добро промешајте. Инјектирајте околу 10 µl употребувајќи го опишаниот микрошприц (5.2.2). Изведете пет инјектирања.

5.3.2. Приготвување на стандардот

Во 50 ml волуметриска колба, точно измерете околу 500 mg нитрометан (5.1.4) и 500 mg хлороформ (5.1.1) или 210 mg 2,4-диметилхептан (5.1.2). Дополнете до ознаката со 95% етанол (5.1.3). Добро промешајте. Ставете 5 ml од овој раствор во 20 ml волуметриска колба. Дополнете до ознаката со 95% етанол(5.1.3).

Инјектирајте околу 10 µl употребувајќи го специфицираниот микрошприц (5.2.2). Изведете пет инјектирања.

5.3.3. услови на гасно хроматографирање

5.3.3.1. Колона

Колоната има два дела, првиот содржи додецил фталат на Гас хром Q како пакување, вториот има Укон 50 НВ 280X на Гас хром Q како пакување. Приготвената комбинирана колона треба да има резолуција 'R' еднаква на или поголема од 1,5, каде:

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

r1 и r2 = време на задржување (во минути)

W1 и W2 = широчина на пикот на половина од височината (во милиметри),

d' = брзина на хартијата (во милиметри во минута).

Како пример следниве два дела ја има бараната резолуција:

Колона А:

Материјал: нерѓосувачки челик

Должина: 1,5 m

Дијаметар: 3 mm

Пакување: 20% додецил фталат на Гас хром Q (100 до 200 меша).

¹⁸ OJ No L 383, 31.12.1980, стр.27.

Колона Б:

Материјал: нер'госувачки челик

Должина: 1,5 m

Дијаметар: 3 mm

Пакување: 20% Укон 50 НВ 280 X на Гас хром Q (100 до 120 меша).

5.3.3.2. Детектор

Соодветна поставеност за чувствителност на електрометарот за детекторот за пламена јонизација е 8×10^{-10} А.

5.3.3.3. Температурни услови

Следниве се утврдени како соодветни:

Отвор за инјектирање: 150°C,

Детектор: 150°C,

Колона: помеѓу 50 и 80°C во зависност од индивидуалните колони и апаратурата.

5.3.3.4. Соодветно снабдување со гас:

Носечки гас: азот.

Притисок: 2,1, бари.

Проток: 40 ml/мин.

Опрема на детекторот: како што е спецификувано од производителот на детекторот.

6. ПРЕСМЕТКИ

6.1. Фактор на одговор на нитрометан, пресметано во однос на користениот внатрешен стандард

Ако 'n' претставува нитрометан:

Тогаш:

k_n = неговиот фактор на одговор,

m'_n = неговата маса (во грами) во мешавината,

S'_n = неговата површина под пикот.

Ако 'c' го претставува внатрешниот стандард, хлороформ или 2,4-диметилхептан:

Тогаш:

m'_c = неговата маса (во грами) во мешавината,

S'_n = неговата површина под пикот,

Тогаш:

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

(k_n е функција на апаратурата).

6.2. Концентрација на нитрометан во мостра

Ако 'n' претставува нитрометан:

Тогаш:

k_n = неговиот фактор на одговор,

S'_n = неговата површина под пикот.

Ако 'c' претставува внатрешниот стандард, хлороформ или 2,4-диметилхептан:

Тогаш:

m_c = неговата маса (во грами) во мешавината,

Sc = неговата површина под пикот,
 M = маса (во грами) од пренесениот аеросол,
 Тогаш %(m/m) нитрометан во мострата е:

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

7. ПОВТОРЛИВОСТ¹⁹

За содржина од околу 0,3% (m/m) нитрометан, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,03% (m/m).

V. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА МЕРКАПТООЦЕТНА КИСЕЛИНА ВО ПРОИЗВОДИ ЗА КАДРЕЊЕ НА КОСАТА, ИСПРАВАЊЕ НА КОСАТА И ПРОИЗВОДИ ЗА ДЕПИЛИРАЊЕ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод го опишува идентификувањето и одредување на меркаптоацетна киселина во производи за кадрење на косата, исправање на косата и производи за депилирање каде што може да има присуство и на други соединенија кои вршат редукција.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на меркаптоацетна киселина во мострата одредена со овој метод е изразена како масен процент на меркаптооцетната киселина.

3. НАЧЕЛО

Меркаптооцетната киселина се идентификува со тестови со дамки и со тенкослојна хроматографија и се одредува (определува) јодометриски или со гасна хроматографија.

4. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

4.1. Идентификација со тест со дамки

4.1.1. Реагенси

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

4.1.1.1. Олово ди(ацетат)на хартија

4.1.1.2. Раствор од хлороводородна киселина (еден дел концентрирана хлороводородна киселина и еден дел вода).

4.1.2. Постапка

4.1.2.1. Идентификување на меркаптооцетна киселина со боена реакција со олово ди(ацетат)

¹⁹ Norm ISO 5725.

Ставете капка од мострата која треба да се анализира на олово ди(ацетат) на хартија (4.1.1.1). Ако се појави интензивно жолта боја, најверојатно е присуството на меркаптоацетна киселина.

Чувствителност: 0,5%.

4.1.2.2. Карактеризација на неорганските сулфиди преку формирање на водородни сулфиди на ацидификација

Во епрувета внесете неколку милиграми од мострата(примерокот) кој треба да се анализира. Додадете 2 ml дестилирана вода и 1 ml хлороводородна киселина (4.1.1.2). Се развива сулфур водород, препознатлив по својата миризба и на хартијата се формира црн талог од олово сулфид на олово ди(ацетат) (4.1.1.1).

Чувствителност: 50 ppm.

4.1.2.3. Карактеризација на сулфити преку формирање на сулфур диоксид по ацидификацијата.

Продолжете како што е опишано во 4.1.2.2. Загревајте до вриење. Сулфур диоксидот е препознатлив по својата миризба и по своите својства на редуцирање во однос, на пример, на перманганатните јони.

4.2. Идентификација со тенкослојна хроматографија

4.2.1. Реагенси

Сите реагенси, освен ако не е поинаку назначено, треба да имаат аналитичка чистота.

4.2.1.1. Меркаптооцетна киселина (тиогликолна киселина), 98% минимална чистота испробана со јодометрија.

4.2.1.2. 2,2'-дитиоди(оцетна) киселина, 99% минимална чистота испробана со јодометрија.

4.2.1.3. 2- меркаптопропионска киселина (тиомлечна киселина), 95% минимална чистота испробана со јодометрија.

4.2.1.4. 3-меркаптопропионска киселина, 98% минимална чистота испробана со јодометрија.

4.2.1.5. 3-меркаптопропан-1,2-диол (1-тиоглицерол), 98% минимална чистота испробана со јодометрија.

4.2.1.6. Тенкослојни плочи, силика гел, готови, дебелина 0,25 mm.

4.2.1.7. Тенкослојни плочи, алуминиум оксид, Merck F 254 E или соодветно.

4.2.1.8. Хлороводородна киселина, концентрирана, $d^{20}_4 = 1,19 \text{ g/ml}$.

4.2.1.9. Етил ацетат.

4.2.1.10. Хлороформ.

4.2.1.11. Диизопропил етер.

4.2.1.12. Јаглерод тетрахлорид

4.2.1.13. Оцетна киселина, глацијална.

4.2.1.14. Калиум јодид, 1%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.15. Платина тетрахлорид, 0,1 %(m/v) раствор во вода.

4.2.1.16. Елутантни раствори

4.2.1.16.1. Етил ацетат (4.2.1.9), хлороформ (4.2.1.10), диизопропил етер (4.2.1.11), оцетна киселина (4.2.1.13) (20:20:10:10, по количеството).

4.2.1.16.2. Хлороформ (4.2.1.10), оцетна киселина (4.2.1.13), (90:20, по количеството).

4.2.1.17. Реагенси за детекција

4.2.1.17.1. Непосредно пред употребата, измешајте еднакви количества од растворот (4.2.1.14) и растворот (4.2.1.15).

4.2.1.17.2. Бромов раствор 5%(m/v):

Растворете 5 g бром во 100 ml јаглерод тетрахлорид (4.2.1.12).

4.2.1. 17.3. Флоуросцеинов раствор, 0,1%(m/v):

Растворете 100 mg флоуросцеин во 100 ml етанол.

4.2.1.17.4. Хексаамониум хептамолибдат, 10%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.18. Референтни раствори

4.2.1.18.1. Меркаптооцетна киселина (4.2.1.1), 0,4%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.18.2. 2,2'-дитиоди(оцетна) киселина (4.2.1.2), 0,4%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.18.3. 2- меркаптопропионска киселина (4.2.1.3), 0,4%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.18.4. 3- меркаптопропионска киселина (4.2.1.4), 0,4%(m/v) раствор во вода.

4.2.1.18.5. 3- меркаптопропан-1,2-диол (4.2.1.5), 0,4%(m/v) раствор во вода.

4.2.2. Апаратура

Вообичаена апаратура за тенкослојна хроматографија.

4.2.3. Постапка

4.2.3.1. Третмани на мострите

Закаселете до рН вредност 1 со неколку капки хлороводородна киселина (4.2.1.8) и филтрирајте доколку е потребно.

Во одредени случаи може да се советува разредување на мострата. Во тој случај закаселете со хлороводородна киселина пред разредувањето.

4.2.3.2. Елуирање

На плочата ставете 1 μ l раствор од мострата (4.2.3.1) и еден μ l од секоја од петте референтни раствори (4.2.1.180). Внимателно сушете во благ проток на азот и елуирајте ја плочата со раствори (4.2.1.16.1 или 4.2.1.16.2). Исушете ја плочата колку што е можно побргу за да се минимализира оксидацијата на тиолите).

4.2.3.3. Откривање

Испрскајте ја плочата со еден од трите реагенси (4.2.1.17.1, 4.2.1.17.3 или 4.2.1.17.4). Ако плочата е испрскана со реагенсот (4.2.1.17.3), понатаму третирајте со бромна пареа (на пр. во резервоар кој содржи мала лабораториска чаша со реагенсот (4.2.1.17.2) се додека дамките не станат видливи. Детектирањето со спреен реагенс (4.2.1.17.4) е задоволително само ако периодот на сушење на тенкиот слој не надмине 30 минути.

4.2.3.4. Толкување

Споредете ги Rf вредностите и бојата на референтниот раствор со оние на стандардите. Средната Rf вредност дадена подолу како приближно напатствие има само компаративна вредност. Тие зависат од:

- состојбата на активација на тенкиот слој во време на процесот на хроматографирање,
- температурата на хроматографскиот резервоар.

Примери на Rf вредности добиени на слојот од силка гел

	Елуентни раствори	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Меркаптооцетна киселина	0,25	0,80
2-меркаптопропионска киселина	0,40	0,95
2,2'-дитиоди (оцетна) киселина	0,00	0,35
3-меркаптопропионска киселина	0,45	0,95
3-меркаптопропан-1,2-диол	0,45	0,35

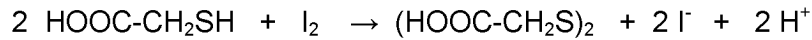
5. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА (види Забелешка)

Определувањето на содржината секогаш треба да започне со јодометриска постапка.

5.1. Јодометрија

5.1.1. Начело

Одредувањето се врши преку оксидација на '-SH' групата со јод во кисела средина според формулата:



5.1.2. Реагенси

Јод, 0,05 М стандарден раствор.

Забелешка: одредувањето на меркаптооцетната киселина се изврши на неупотребен производ од тукушто отворен контејнер за да се спречи оксидацијата.

5.1.3. Апаратура

Вообичаена лабораториска опрема.

5.1.4. Постапка

Точно измерете количество помеѓу 0,5 и 1 g од мострата во 150 ml во конусна колба со брусено грло која содржи 50 ml дестилирана вода. Додадете 5 ml хлороводородна киселина (4.1.1.2) (pH вредност на растворот е околу 0) и титрирајте со јоден раствор (5.1.2) се додека се појави жолта боја. Употребете индикатор (на пр. скробен раствор или јаглерод тетрахлорид) доколку е потребно.

5.1.5. Пресметка

Содржината на меркаптооцетната киселина се пресметува според формулата:

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

каде:

m = маса (во грамови) на испитуваниот примерок,

n = волумен од потрошен јоден раствор (5.1.2).

5.1.6. Забелешки

Ако резултатот, пресметан за меркаптооцетната киселина, е 0,1% или повеќе под дозволената минимална концентрација, нема причина за понатамошно изведување на одредувањата. Ако резултатот е еднаков на или е над дозволената максимална концентрација, а со идентификација се укажува присуство на неколку соединенија кои вршат редукција потребно е да се изврши определување со гасна хроматографија.

5.2. Гасна хроматографија

5.2.1. Начело

Меркаптооцетната киселина се одделува од ексципиентот со таложење со раствор од кадмиум ди(ацетат). После метилација со дијазометан, приготвен *in situ* (непосредно пред употреба) или однапред во раствор од диетил етер, метил дериватот од меркаптооцетната киселина се мери со гасна/течна хроматографија, со употреба на метил октаноатот како внатрешен стандард.

5.2.2. Реагенси

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

5.2.2.1. Меркаптооцетната киселина, 98%.

- 5.2.2.2. Хлороводородна киселина, $d^{20}_4 = 1,19 \text{ g/ml}$.
- 5.2.2.3. Метанол.
- 5.2.2.4. Кадмиум ди(ацетат)дихидрат, 10%(m/v) раствор во вода.
- 5.2.2.5. Метил октаноат, 2%(m/v) раствор во метанол.
- 5.2.2.6. Раствор на ацетат пуфер(Ацетатен пуфер)(pH5):
Натриум ацетат трихидрат, 77 g.
Оцетна киселина (глицерална), 27,5 g.
Деминерализирана вода за да се добие крајното количество од еден литар.
- 5.2.2.7. Хлороводородна киселина, 3M раствор во метанол (5.2.2.3), свежо приготвен.
- 5.2.2.8. 1-метил-3-нитро-1-нитросогванидин.
- 5.2.2.9. Натриум хидроксид, 5M раствор.
- 5.2.2.10. Јод, 0,005 M стандарден раствор.
- 5.2.2.11. Диетил етер.
- 5.2.2.12. Раствор на Диазометан приготвен од N-метил-N-нитрозотулуен-4-сулфонамид (Физер, реагенси од органска синтеза (Вајли), 1967)
Добиениот раствор содржи околу 1,5 g. диазометан во 100 ml диетил етер. Поради тоа што диазометанот е токсичен и многу нестабилен гас, сите експерименти треба да се извршат под моќна заштитна опрема, а употребата на апаратура со стаклено дно треба да се избегне (постои специјален прибор за оваа цел).
- 5.2.3. Апаратура
- 5.2.3.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 5.2.3.2. Апаратура за приготвување на диазометан за *ин ситу* метилација (види Фејлс, Х.М.Јауни, Т.М. и Бабашак, Џ.Ф., Аналит. хем. 1973, 45, 2302).
- 5.2.3.3. Апаратура за напредно приготвување на дијазометан (Физер).
- 5.2.4. Приготвување на мострите
Во 50 ml епрувета за центрифугирање точно измерете доволно количество од мострата за да се добие предвиденото количество од 50 до 70 mg меркаптооцетна киселина. Закиселете со неколку капки хлороводородна киселина (5.2.2.2) за да се добие рН вредност од околу 3.
Додадете 5 ml деминерализирана вода и 10 ml раствор од ацетатен пуфер (5.2.2.6).
Со рН хартија проверете дали рН вредноста изнесува околу 5. Тогаш додадете 5 ml раствор од кадмиум ди(ацетат) (5.2.2.4).
Почекајте 10 минути и тогаш центрифугирајте најмалку 15 минути на 4 000 g. Отстранете ја супернатантата течност која може да содржи нерастворливи масти (во случај на производи како креми). Овие масти не може да се заменат со тиолите кои се собираат во компактна маса на дното на епруветата. Проверете дали таложето се случува со додавање неколку капки од раствор од кадмиум ди(ацетат) (5.2.2.4) на супернатантот.
- Кога претходната идентификација не покажала постоење на агенци за редуцирање поинакви од тиоли, со јодометрија проверете дали присуството на тиол во супернатантната течност не надминува 6 до 8% од иницијалното количество.
- Внесете 10 ml метанол (5.2.2.3) во епрувета за центрифугирање во која е содржан талогот и конечно распрснете го талогот со прачка за мешање. Повторно центрифугирајте најмалку 15 минути на 4 000 g. Истурете го супернатантот и проверете за отсуство од тиоли.
- Исперете го талогот по втор пат употребувајќи ја истата постапка.

Сеуште употребувајќи ја истата епрувета за центрифугирање, додадете:

- 2 ml раствор од метил октаноат (5.2.2.5),
- 5 ml хидрохлорна киселина во метанол (5.2.2.7).

Комплетно растворете ги тиолите (малку нерастворлива материја може да преостане од реципиентот). Ова е раствор 'S'.

Со точно определен дел од овој раствор, јодометрички проверете дали содржината на тиоли е најмалку 90% од онаа добиена во 5.1.

5.2.5. Метилација

Метилацијата се извршува или со приготвен *in situ* (5.2.5.1) или со претходно приготвен раствор од диазометан (5.2.5.2).

5.2.5.1. *In situ* метилација

Во апаратура за метилација (5.2.3.2) која содржи 1 ml од етер (5.2.2.11) внесете 50 μ l од 'S' растворот и метилирајте со методот (5.2.3.2) со околу 300 mg 1-метил-3-нитро-1-нитрозогванидин (5.2.2.8). После 15 минути (растворот од етер треба да биде жолт и укажува на прекумерен диазометан) пренесете го растворот од мострата во 2 ml шише со чеп кој не пропушта. Оставете го да преноќи во фрижидер. Метилирајте ги двете мостри истовремено.

5.2.5.2. Метилација со претходно приготвен раствор од диазометан

Во 5 ml колба со чеп внесете 1 ml раствор од диазометан (5.2.5.12) а потоа 50 μ l од 'S' растворот. Ставете го да преноќи во фрижидер.

5.2.6. Приготвување на стандардот

Пригответе стандарден раствор од меркаптооцетна киселина (5.2.2.1) со позната јачина која содржи околу 60 mg чиста меркаптооцетна киселина (5.2.2.1) во 2 ml.

Ова е раствор 'E'.

Исталожете, определете и метилирајте како што е опишано во 5.2.4 и 5.2.5.

5.2.7. Услови за гасна хроматографија

5.2.7.1 Колона

Тип: нерѓосувачки челик

Должина: 2 m

Дијаметар: 3 mm

5.2.7.2. Пакување: 20% дидецил фталат/хромосорб, WAW 800 до 100 меша).

5.2.7.3. Детектор

Пламен јонизатор. Соодветна поставеност за чувствителност на електрометарот за детекторот е 8×10^{-10} A.

5.2.7.4. Соодветно снабдување со гас:

Носечки гас: азот.

Притисок: 2,2 бари.

Проток: 35 ml/мин.

Помошен гас: водород.

Притисок: 1,8 бари.

Проток: 15 ml/мин.

Опрема на детекторот: како што е спецификувано од производителот на детекторот.

5.2.7.5. Температурни услови

Инјектор: 200°C,

Детектор: 200°C,

Колона: 90°C.

5.2.7.6. Брзината на хартијата на пишувачот

5 mm/мин.

5.2.7.7. Инјектирано количество

3 µl. Изврши пет инјектирања.

5.2.7.8. Условите за хроматографија се дадени како упатство. Тие дозволуваат достигнување на резолуција 'R' еднаква на или е поголема од 1,5 онаму каде:

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

каде:

r1 и r2 = време на задржување (во минути),

W1 и W2= широчината на пикот на половина од неговата висина (во милиметри),

d' = брзината на хартијата (во милиметри на минута).

Се препорачува хромографијата з да се прекине со регулирање на температурата од 90°C на 150° со стапка од 10°C на минута за да се елиминираат супстанциите кои лесно создаваат пречки во последователни мерења.

5.2.8. Пресметки

5.2.8.1. Коефициент на пропорционалност за меркаптооцетна киселина

Ова се пресметува во однос на метил октаноат врз основа на стандардна мешавина.

Ако 't' претставува меркаптооцетна киселина:

тогаш:

kt = неговиот фактор на одговор,

m't = неговата маса (во милиграми) во мешавината,

S't = неговата површина под пикот.

Ако 'c' претставува метил октаноат:

тогаш:

m'c = неговата маса (во милиграми) во мешавината,

S'c = неговата површина под пикот,

тогаш:

$$k_n = \frac{m'_t}{m'_c} \cdot \frac{S'_c}{S'_t}$$

Овој коефициент се разликува во зависност од употребната апаратура.

5.2.8.2. Концентрација на присутната меркаптооцетна киселина во мострата

Ако 't' претставува меркаптооцетна киселина:

тогаш:

kt = неговиот фактор на одговор,

S't = неговата површина под пикот и

Ако 'c' претставува метил октаноат:

тогаш:

m'c = неговата маса (во милиграми) во мешавината,

S'c = неговата површина под пикот,

M = маса (во милиграми) во почетниот дел за тестирање,

тогаш % (m/m) меркаптооцетна киселина присутна во мострата е:

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

6. ПОВТОРЛИВОСТ²⁰

За содржина на меркаптооцетна киселина од околу 8%, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,8% (m/m).

VI. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХЕКСАХЛОРОФЕН

A. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Овој метод е соодветен за козметички производи.
2. НАЧЕЛО
Хексахлорофен во мострата е екстрахиран со етил ацетат и идентификуван со тенкослојна хроматографија.
3. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота
 - 3.1. Сулфурна киселина, 4M раствор.
 - 3.2. Селит AW.
 - 3.3. Етил ацетат.
 - 3.4. Елутантен ратсворувач: Бензен кој содржи 1% (v/v) глацијална оцетна киселина.
 - 3.5. Визуелизирачки агенс I:
Раствор од Родамин Б: растворете 100 mg Родамин Б во мешавина од 150 ml диетилен етер, 70 ml апсолутен етанол и 16 ml вода.
 - 3.6. Визуелизирачки агенс II:
Раствор од 2,6-дибромо-4-(хлороимино)циколхекса-2,5-диенон: растворете 400 mg 2,6-дибромо-4-(хлороимино)циколхекса-2,5-диенон во 100 ml метанол (секој пат свежо приготвено истиот ден).
Раствор од натриум карбонат: растворете 10 g. натриум карбонат во деминерализирана вода.
 - 3.7. Референтен раствор:
Хексахлорофен, 0,05% (m/v) раствор во етил ацетат.
4. АПАРАТУРА
 - 4.1. Плоча силика гел 254 TLC, 200 x 200 mm (или еквивалент).
 - 4.2. Вообичаена TLC опрема.

²⁰ Norm ISO 5725.

4.3. Бања со термостат регулирана на 26°C за чување на хроматографскиот резервоар.

5. ПРИГОТВУВАЊЕ НА МОСТРАТА ЗА ТЕСТИРАЊЕ

5.1. Темелно измешајте 1 g хомогенизирана мостра со 1 g Селите AW (3.2) и 1 ml сулфурна киселина (3.1).

5.2. Сушете два часа на 100°C.

5.3. Оладете и фино спрашете ги сувите остатоци.

5.4. Два пати екстрактирајте со 10 ml етил ацетат (3.3) секој пат, центрифугирајте после секоја екстракција и комбинирајте со слоеви од етил ацетат.

5.5. Испарувајте на 60°C.

5.6. Растворете го остатокот во 2 ml етил ацетат (3.3).

6. ПОСТАПКА

6.1. Ставете 2 μ l раствор од делот за тестирање (5.6) и 2 μ l од референтниот раствор (3.7) на TLC плочата (4.1).

6.2. Заситете го резервоарот (4.3) со елутантен ратсворувач (3.4).

6.3. Поставете ја TLC плочата и елуирајте до 150 mm.

6.4. Отстранете ја TLC плочата и сушете во вентилирачка печка на температура од околу 105°C.

6.5. Визуелизација

Дамките од хексахлорофен на тенкослојната плоча се забележуваат како што е покажано во 6.5.1. или 6.5.2.

6.5.1. Рамномерно испрскајте го визуелирачкиот агенс I (3.5) на плочата. По 30 минути набљудувајте ја плочата под УВ светло на 254 nm.

6.5.2. Рамномерно испрскајте го растворот од 2,6-дибромо-4-(хлоромино)циколхекса-2,5-диенон од визуелизирачки агенс II (3.6) на плочата. Последователно прскајте ја плочата со раствор од натриум карбонат (3.6). Набљудувајте ја плочата на дневна светлина по 10 минутно сушење на собна температура.

7. ТОЛКУВАЊЕ

7.1. Визуелизирачки агенс I (3.5):

Хексахлорофенот се открива како сина дамка на жолто-портолкалова флуоросцентна позадина и има Rf вредност од приближно 0,5.

7.2. Визуелизирачки агенс II (3.6):

Хексахлорофенот се открива како небесно сино до тиркизно обоена дамка на бела позадина и има Rf вредност од приближно 0,5.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод е соодветен за сите козметички производи.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на хексахлорофен во мострата одредена со овој метод се изразува како масен процент на хексахлорофен.

3. НАЧЕЛО

Хексахлорофенот се одредува, по конверзија во метил дериват со гасна хроматографија со детектор за електронско зафаќање.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

- 4.1. Етил ацетат.
- 4.2. N-метил-N-нитрозо-p-толуенсулфонамид (диазид).
- 4.3. Диетил етер.
- 4.4. Метанол.
- 4.5. 2-(2-етоксиетокси)етанол (карбитол).
- 4.6. Мравја киселина.
- 4.7. Калиум хидрокси, 50% (m/m) воден раствор (свежо приготвен истиот ден).
- 4.8. Хексан за спектроскопија.
- 4.9. Бромхлорофен (стандард бр.1).
- 4.10. 4,4',6,6'-тетрахлоро-2,2'-тиодифенол (стандард бр.2).
- 4.11. 2,4,4'-трихлоро-2-хидрокси-дифенил етер (стандард бр.3).
- 4.12. Ацетон.
- 4.13. 4 M сулфурна киселина.
- 4.14. Селит AW.
- 4.15. Мравска киселина/етил ацетат, 10% (v/v) раствор
- 4.15. Хексахлорофен.

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Вообичаена лабораториска стаклена опрема.
- 5.2. Мини апаратура за приготвување на диазометан (Аналит. Хем., 1973, 45, 2302-2).
- 5.3. Гасен хроматограф опремен со 63 Ni извор детектор за зафаќање на електрони.

6. ПОСТАПКА

- 6.1. Приготвување на стандарден раствор
Стандардот е избран така што тој не се меша со ниту една супстанција содржана во ексципиентот на производот кој се анализира. Вообичаено стандардот бр.1 е најсоодветен (4.9).
- 6.1.1. Точно измерете околу 50 mg од стандардот бр. 1, 2 или 3 (4.9, 4.10 или 4.11) и 50 mg. хексахлорофен (4.16) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете го количеството со етил ацетат (4.1) (раствор А). Разредете 10 ml растворот А во 100 ml етил ацетат (4.1) (раствор Б).
- 6.1.2. Точно измерете околу 50 mg од стандардот бр. 1, 2 или 3 (4.9, 4.10 или 4.11) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете го количеството со етил ацетат (4.1) (раствор В).
- 6.2. Приготвување на мострата²¹
Точно измерете 1 g хомогенизирана мостра и темелно мешајте со 1 ml сулфурна киселина (4.13), 15 ml ацетон (4.12) и 8 g Селит AW (4.14). Со воздух, 30 минути сушете ја мешавината врз парна бања а потоа сушете час и половина во вентилирачка печка. Ладете, фино спрашете ги

²¹ Поради широкиот спектар на производствени типови во кои хексахлорофенот може да е присутен, важно е прво да се провери повратокот на хексахлорофенот од мострата со оваа постапка пред впишување на резултатите. Ако повратокот е низок, може да се воведат модификации како измена на растворувачот (бензен наместо етилацетат) итн., во договор со засегнатите страни.

остатоците и пренесете во стаклена колона. Елуирајте со етил ацетат (4.1) и соберете 100 ml. Додадете 2 ml раствор од внатрешен стандард (раствор В) (6.1.2).

6.3. Метилација на мострата

Ладете ги два часа сите реагенси и апаратура помеѓу 0°C и 4°C. Во надворешниот дел од апаратурата за дијазометан ставете 1,2 ml од растворот добиен во 6.2 и 0,1 ml метанол (4.4). Ставете околу 200 mg дијазид (4.2) во централниот резервоар, додадете 1 ml карбитол (4.5) и 1 ml диетил етер (4.3) и растворете. Склопете ја апаратурата, нурнете ја до половина апаратурата во бања на 0°C и со шприц внесете околу 1 ml разладен раствор од калиум хидроксид (4.7) во централниот резервоар. Осигурајте се дека постои формираната жолта боја од создавање на диазометанот. Ако не постои жолтата боја повторете ја метилацијата со натамошни 200 mg диазид (4.2)²².

Апаратурата се отстранува од бањата по 15 минути, а потоа се остава затворена на амбиентална температура 12 часа. Отворете ја апаратурата, разорете го прекумерниот диазометан со додавање на неколку капки 10% (v/v) раствор мравја киселина во етил ацетат (4.15) и пренесете го органскиот раствор во 25 ml волуметриска колба. Дополнете го до ознаката со хексан (4.8).

Инјектирајте 1,5 µl од овој раствор во хроматографот.

6.4. Метилација на стандардот

Ладете ги два часа сите реагенси и апаратура помеѓу 0°C и 4°C. Во надворешниот дел од апаратурата ставете:

0,2 ml од растворот Б (6.1.1),

1 ml етил ацетат (4.10),

0,1 ml метанол (4.4).

Продолжете со метилацијата како што е опишано во 6.3. Инјектирајте 1,5 µl од резултатниот раствор во хроматографот.

7. ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА

Колоната треба да има резолуција 'R' еднаква на, или поголема од 1,5, каде:

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

каде:

r1 и r2 = време на задржување (во минути),

W1 и W2 = широчината на пикот на половина од неговата висина (во милиметри),

d' = брзината на хартијата (во милиметри на минута).

Следниве услови за гасна хроматографија се сметаат за соодветни:

Колона: нер'госувачки челик.

Должина: 1,7 m

Дијаметар: 3 mm

²² Постојењето на оваа жолта обоеност укажува на прекумерен диазометан, кој е неопходен за да се осигури комплетна метилација на мострата.

Поддршка:
 Хромосорб: WAW
 Анализа со сито: 80 до 100 меша
 Стационарна фаза: 10% OV 17.
 Температури:
 Колона: 280°C.
 Инјектор: 280°C,
 Детектор: 280°C,

Носечки гас: азот слободен од кислород .
 Притисок: 2,3 бари.
 Проток: 30 ml/мин.

8. ПРЕСМЕТКИ

- 8.1. Коефициент на пропорционалност на хексахлорофен
 Ова се пресметува во однос на избраниот стандард во однос на стандардната мешавина.

Тогаш:

h = хексахлорофен,
 kh = неговиот коефициент на пропорционалност,
 m'h = неговата маса (во грами) во мешавината,
 A'h = неговата површина под пикот,
 s = избраниот стандард,
 m's = неговата маса (во грами) во мешавината,
 A's = неговата површина под пикот.

тогаш:

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

- 8.2. Количество на хексахлорофен во мострата

тогаш:

h = хексахлорофен,
 kh = неговиот коефициент на пропорционалност,
 A'h = неговата површина под пикот,
 s = избраниот стандард,
 m's = неговата маса (во грами) во мешавината,
 A's = неговата површина под пикот,
 M = маса (во грами) на земената мостра(примерок),
 Тогаш % (m/m) на хексахлорофен во мострата е:

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

8. ПОВТОРЛИВОСТ²³

²³ Norm ISO 5725.

За содржина хексахлорофен од околу 0,1% (m/m), разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,005%(m/m).

VII. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА КВАНТИТАТИВНО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ТОСИЛХЛОРАМИД НАТРИУМ (INN) (ХЛОРАМИН-Т)

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Овој метод се однесува на квантитативното определување на содржината со тенкослојната хроматографија на тосилхлорамид натриум (хлорамин-Т) во козметички производи.
2. ДЕФИНИЦИЈА
Содржината на хлорамин-Т во мострата, одредена во согласност со овој метод, е изразена како процент од масата (m/m).
3. НАЧЕЛО
Хлорамин-Т е комплетно хидролизиран до 4-толуен сулфонамид со вриење со хлороводородна киселина.
Количество на формиран 4-толуен сулфонамид се одредува фотодензитометрично со тенкослојна хроматографија.
4. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота.
 - 4.1. Тосилхлорамид натриум (хлорамин-Т).
 - 4.2. Стандарден раствор од 4-толуен сулфонамид: 50 mg 4-толуен сулфонамид во 100 ml етанол (4.5).
 - 4.3. Хлороводородна киселина, 37% (m/m), $d^{20}_4 = 1,18 \text{ g/ml}$.
 - 4.4. Диетил етер
 - 4.5. Етанол, 96% (v/v).
 - 4.6. раствор за развивање
 - 4.6.1. 1-бутанол/етанол (4.5)/вода (40:4:9; v/v/v), или
 - 4.6.2. Хлороформ/ацетон (6:4; v/v).
 - 4.7. Веќе приготвени тенкослојни плоча за хроматографија, силика-гел60, без флуоросцентен индикатор.
 - 4.8. Калиум перманганат.
 - 4.9. Хлороводородна киселина, 15% (m/m).
 - 4.10. Спреен реагенс: 2-толуидин, 1% (m/v) раствор во етанол (4.5).
5. АПАРАТУРА
 - 5.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
 - 5.2. Вообичаена тенкослојна хроматографска опрема.
 - 5.3. Фотодензитометар.
6. ПОСТАПКА
 - 6.1. Хидролиза
Во 50 ml колба со тркалезно дно точно измерете приближно 1 g од мострата (m). Додадете 5 ml вода и 5 ml хлороводородна киселина (4.3) и зовривајте еден час употребувајќи повратно ладило. Веднаш пренесете ја врелата

емулзија со вода во 50 ml градуирана колба. Оставете да се олади и дополнете со вода до ознаката. Центрифугирајте пет минути на најмалку 3000 вртежи во минута и процедете го супренантниот раствор низ филтер.

6.2. Екстракција

6.2.1. Земете 30 ml од филтратот и екстрахирајте три пати со по 15 ml диетилен етер (4.1). Ако е потребно упарете ги етерните фази и соберете ги во 50 ml градуирана колба. Дополнете со диетилен етер (4.4).

6.2.2. Земете 25 ml од исушениот етерен екстракт и евапорирајте до суво со проток на азот. Повторно растворете го остатокот со 1 ml етанол (4.5).

6.3. Тенкослојна хроматографија

6.3.1. Поставете 20 μ l етанолен остаток (6.2) на тенкослојна хроматографска плоча (4.7).

Во исто време и на ист начин, внесете 8, 12, 16 и 20 μ l стандарден раствор од 4-толуенсулфонамид (4.2).

6.3.2. Оставете да се развие приближно 150 mm во развоен раствор (4.6.1. или 4.6.2).

6.3.3. Откако развојниот раствор комплетно ќе испари, ставете ја плочата, две до три минути, во атмосфера на хлорна пара која се произведува со сипување околу 100 ml хидрохлорна киселина (4.9) над 2 g калиум перманганат (4.8) во затворен сад. Отстранете го прекумерниот хлор со загревање на плочата пет минути на 100°C. Потоа испрскајте ја чинијата со реагенс (4.10).

6.4. Мерење

После приближно еден час измерете ги виолетовите дамки со фотодензитометар на 525 nm.

6.5. Цртање на кривата на калибрација

Внесете ја висината на пикот за четирите дамки од 4-толуенсулфонамид наспроти соодветните количества 4-толуенсулфонамид (на пр. 4, 6, 8, 10 μ l 4-толуенсулфонамид по дамка).

7. ЗАБЕЛЕШКА

Методот може да се контролира со употребување на раствор од 0,1 или 0,2 % (m/v) од хлорамин-Т (4.1) третиран на ист начин како и мострата (6).

8. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Содржината на хлорамин-Т од мострата, изразена како масен процент се пресметува како што следува:

$$\% \text{ (m/m) тосилхлорамид натриум} = \frac{1,33 \cdot a}{60 \cdot m}$$

каде:

1,33 = факторот на конверзија на 4-толуенсулфонамид- хлорамин-Т,

a = количеството (во μ l) од 4-толуенсулфонамид во мострата како што е прочитано од кривата на калибрација,

m = масата (во грами) од земената мостра.

9. ПОВТОРЛИВОСТ²⁴

За содржина од околу 0,2% хлорамин-Т, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,03%(m/m).

VIII. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ВКУПНИОТ ФЛУОР ВО КРЕМИТЕ ЗА ЗАБИ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод е дизајниран за одредување на вкупниот флуор во кремите за заби. Тој е соодветен за нивоа кои не надминуваат 0,25%.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на флуор во мострата, одредена во согласност со овој метод, е изразена како масен процент (m/m).

3. НАЧЕЛО

Одредувањето се извршува со гасна хроматографија. Флуорот од соединенијата кои содржат флуор се конвертира во триетилфлуоросилан (TEFS) со директна реакција со хлоротриетилсилан (TECS) во кисел раствор и истовремено се екстрахира со ксилен кој содржи циклохексан како внатрешен стандард.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота.

4.1. Натриум флуорид, исушен на 120°C до константна маса.

4.2. Вода, дуplo дестилирана или со еквивалентен квалитет.

4.3. Хлороводородна киселина, $d^{20}_4 = 1,19 \text{ g/ml}$.

4.4. Циклохексан (C₆H₁₂).

4.5. Ксилен кој нема пикови на хроматограмот пред пикот на растворувачот кога се хроматографираат под исти услови како и мострата (6.1). Ако тоа е неопходно, да се прочисти преку дестилирање (5.8).

4.6. Хлоротриетилсилан (TECS Merck или еквивалент).

4.7. Стандардни раствори на флуор

4.7.1. Основен раствор, 0,250 mg F⁻/ml. Точно измерете 138,1 mg натриум флуорид (4.1) и растворете во вода (4.2). Квантитативно пренесете го растворот во 250 ml волуметриска колба (5.5). Разредете со вода (4.2) до ознаката и промешајте.

4.7.2. Разредениот основен раствор, 0,500 mg F⁻/ml. Со пипета пренесете 20 ml од матичниот раствор (4.7.1) во 100 ml волуметриска колба (5.5). Разредете со вода (4.2) до обележувањето и промешајте.

4.8. Внатрешен стандарден раствор

Измешајте 1 ml циклохексан (4.4) и 5 ml ксилен (4.5).

4.9. Хлоротриетилсилан/ внатрешен стандарден раствор

Со пипета пренесете (5.7) 0,6 ml TECS (4.6) и 0,12 ml внатрешен стандарден раствор (4.8) во 10 ml волуметриска колба. Разредете со ксилен (4.5) до обележувањето и промешајте. Приготвувајте свежо истиот ден.

4.10. Перхлорна киселина, 70% (m/v).

²⁴ NORM ISO 5725.

4.11. Перхлорна киселина, 20% (m/v) во вода (4.2).

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 5.2. Гасен хроматограф со пламен јонизирачки детектор .
- 5.3. Vortex swirl миксер или еквивалентен.
- 5.4. Бјулер (Bühler), мешалка, тип SMB1 или еквивалент.
- 5.5. Волуметриска колба, 100 и 250 ml направена од полипропилен.
- 5.6. Епрувети за центрифугирање (стаклени); 20 ml со тефлонско линеарни капачиња со навој, тип Совирел 611-56 или еквивалентно на него. Исчистете ги епруветите и капачиња со навој потопувајќи ги неколку часа во перхлорна киселина (4.11), по што следуваат пет последователни плакнења со вода (4.2) и конечно исушете ги на 100°C.
- 5.7. Пипети прилагодени за земање на 50 до 200 µl, со крајни делови за еднократна употреба.
- 5.8. Апаратура за дестилација, опремена со три топчести колони Schneider или еквивалентен Вигрова (Vigreux) колона.

6. ПОСТАПКА

- 6.1. Анализа на мострата
 - 6.1.1. Одберете туба со паста за заби, претходно неотворена, исечете го отворот и истиснете ја целата содржина. Пренесете ја во пластичен контейнер, темелно промешајте и чувајте ја во услови во кои ќе одбегнете расипување.
 - 6.1.2. Во центрифугална епрувета (5.6) измерете точно 150 mg (m) од мострата, додадете 5 ml вода (4.2) и хомогенизирајте (5.3).
 - 6.1.3. Додадете 1 ml ксилен (4.5).
 - 6.1.4. Додадете во капки 5 ml хлороводородна киселина (4.3) и хомогенизирајте (5.3).
 - 6.1.5. Во центрифугална епрувета (5.6) со пипета додадете 0,5 ml хлоротриетилсилан/внатрешен стандарден раствор (4.9).
 - 6.1.6. Затворете ја епруветата со капаче со навој (5.6) и темелно мешајте 45 минути во мешалка (5.4) поставена на 150 вртежи во минута.
 - 6.1.7. Центрифугирајте 10 минути на таква брзина што ќе произведете чисто одделување на фазите, отстранете го капачето од цевката, извлечете го органскиот слој и инјектирајте 3 µl органска фаза во колоната на гасниот хроматограф (5.2).

Забелешка:
Елуирањето на сите компоненти трае 20 минути.
 - 6.1.8. Повторете го инјектирањето, пресметајте го односот на средните површина на пиковите (ATEFS/ACH) и прочитајте го соодветното количество на флуор (во милиграми (m1)) од калибрацискиот графикон (6.3).
 - 6.1.9. Пресметајте ја вкупната содржина на флуор во мострата (во проценти според масата на флуор) како што е покажано во став 7.
- 6.2. Хроматографски услови
 - 6.2.1. Колона: нерѓосувачки челик.
Должина: 1,8 m
Дијаметар: 3 mm
Поддршка: гас хром Q 80 до 100 меша
Стационарна фаза: силиконско масло DC 200 или негов еквивалент, 20 %
Ставете ја колоната во хроматографот да работи во текот на ноќта на 100°C

(проток на носечкиот гас од 25 ml азот на минута) и повторувајте секоја вечер. После секое четврто или петто инјектирање стабилизирајте ја колоната со загревање на 100°C во тек на 30 минути.

Температури:

Колона: 70°C.

Инјектор: 150°C,

Детектор: 250°C,

Проток на носечкиот гас: 25 ml азот на минута.

6.3. Калибрациски графикон

6.3.1. Со пипета внесете во серијата од шест епрувети за центрифугирање (5.6), 0, 1, 2, 3, 4 и 5 ml од разреден стандарден раствор на флуор (4.7.2). Дополнете ја секоја епрувета со вода (4.2) до 5 ml.

6.3.2. Продолжете како што е опишано во 6.1.3., вклучително со 6.1.6.

6.3.3. Инјектирајте 3 µl органска фаза во колоната на гасниот хроматограф (5.2).

6.3.4. Повторете го инјектирањето и пресметајте го односот на површините под пикот (ATEFS/ACH).

6.3.5. Нацртајте графикон за калибрација кој ќе одговара на масата на флуор (во милиграми) во стандарден раствор (6.3.1) и односот на површината под пиковите (ATEFS/ACH) измерен според 6.3.4. Поврзете ги точките на графиконот со најдобро поврзана права линија пресметана со регресиона анализа.

7. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Концентрацијата на вкупната содржина на флуор во мострата (во процент од масата на флуор) (%m/m) е дадена преку:

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

каде:

m = дел за тестирање (во милиграми) (6.1.2),

m₁ = количество на F (во милиграми) прочитана од графиконот за калибрација (6.1.8)

8. ПОВТОРЛИВОСТ²⁵

За содржина од околу 0,15%(m/m) флуор, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,012%(m/m).

IX. МЕТОД НА ТЕНКСОЛОЈАН ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА БЕЗПЛАМЕНА АТОМСКА АПСОРПЦИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ОРГАНСКИ СОЕДИНЕНИЈА НА ЖИВА

ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Со овој метод опишан подолу може да се идентификуваат и да се определи содржината на органоживини деривати употребени како конзерванси во козметички производи за очи. Тој се применува на тиомерсал (INN) (натриум 2-(етилживатио)бензоат) и фенилжива и нејзините соли.

²⁵ NORM ISO 5725.

А. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

1. НАЧЕЛО

Органските соединенија на жива градат комплекси со 1,5-дифенил-3-тиокарбазон. По екстракцијата на дитиозонат со јаглерод тетрахлорид, се извршува тенкослојна хроматографија на силика-гел. Дамките на дитиозонати се појавуваат во портокалова боја.

2. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота.

- 2.1. Сулфурна киселина, 25% (v/v),
- 2.2. 1,5-дифенил-3-тиокарбазон (дитиозон): 0,8 mg во 100 ml јаглерод тетрахлорид (2.4).
- 2.3. Азот.
- 2.4. Јаглерод тетрахлорид.
- 2.5. раствор за развивање: хексан/ацетон, 90:10 (v/v).
- 2.6. Стандарден раствор, 0,001% во вода на:
натриум 2-(етилживатио)бензоат,
етилжива хлорид или метилжива хлорид
фенилжива нитрат или фенилжива ацетат,
жива дихлорид или жива ди(ацетат).
- 2.7. Приготвени плочи од силика-гел(на пр. Merck 5721 или негов еквивалент).
- 2.8. Натриум хлорид.

3. АПАРАТУРА

- 3.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
- 3.2. Вообичаена TLC апаратура.
- 3.3. Филтер за одделување на фазите.

4. ПОСТАПКА

- 4.1. Екстракција
 - 4.1.1. Разредете 1 g мостра во епрувета за центрифугирање со титрирање со 20 ml дестилирана вода. Добијте максимална дисперзија и загревајте до 60°C во топла бања. Додадете 4 g натриум хлорид (2.8). Протресете. Оставете да се олади.
 - 4.1.2. Центрифугирајте најмалку 20 минути на 4500 вртежи во минута за да се оддели најголемиот дел цврста од течната материја. Филтрирајте во одделителна инка и додадете 0,25 ml од растворот на сулфурна киселина. (2.1).
 - 4.1.3. Екстрахирајте неколку пати со 2 или 3 ml раствор од дитиозон (2.2) се додека и последната органска фаза остане зелена.
 - 4.1.4. Филтрирајте ја последователно секоја органска фаза низ филтер за сепарирање на фазите (3.3).
 - 4.1.5. Упарете до суво под млаз од азот (2.3).
 - 4.1.6. Растворете со 0,5 ml јаглерод тетрахлорид (2.4). Нанесете го овој раствор веднаш онака како што е укажано во 4.2.1.
- 4.2. Одделување и идентификување
 - 4.2.1. Веднаш ставете 50 µl од растворот на јаглерод тетрахлорид добиен со 4.1.6. на плоча од силика-гел (2.7). Истовремено третирајте 10 ml од стандардниот раствор (2.6) како во 4.1. и ставете 50 µl од растворот добиен со 4.1.6. на истата плоча.

- 4.2.2. На плочата ставете од растворот (2.5) и оставете истиот да се искачи 150 mm. Органските соединенија на живата се појавуваат како обоени дамки чијашто боја е стабилна, а ако плочата веднаш не се покрие со стаклен капак растворувачот ќе испари.

На пример, се добиваат следниве Rf вредности:

	Rf вредност	Боја
Тиомерсал	0,33	Портокалова
Етилживин хлорид	0,29	Портокалова
Метилжива хлорид	0,29	Портокалова
Фенилживини соли	0,21	Портокалова
Живини (II) соли	0,10	Портокалова
Жива ди(ацетат)	0,10	Портокалова
1,5-дифенил-3-тиокарбазон	0,09	Розева

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на органоживини соединенијата одредена со овој метод е изразена како масен процент (m/m) на жива во примерокот.

2. НАЧЕЛО

Методот се состои од мерење на количеството на вкупната присутна жива. Затоа е потребно прво да се осигура дека не постои присуство на жива во неорганска состојба и да се идентификуваат органоживините деривати содржани во мострата. По минерализацијата, ослободената жива се мери со беспламена атомска апсорпција.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота.

- 3.1. Концентрирана азотна киселина, $d^{20}_4 = 1,41 \text{ g/ml}$.
- 3.2. Концентрирана сулфурна киселина, $d^{20}_4 = 1,84 \text{ g/ml}$.
- 3.3. Редестилирана вода.
- 3.4. 7% раствор на калиум перманганат, (m/v).
- 3.5. Хидроксиламониум хлоридов раствор, 1,5% (m/v).
- 3.6. Дикалиум пероксодисулфатов раствор, 5% (m/v).
- 3.7. Калај дихлорид, раствор, 10% (m/v).
- 3.8. Концентрирана хлороводородна киселина, $d^{20}_4 = 1,18 \text{ g/ml}$.
- 3.9. стаклена волна импрегнирана со паладиум дихлорид, 1,5% (m/m).

4. АПАРАТУРА

- 4.1. Вообичаена лабораториска апаратура
- 4.2. Апаратура за одредување на жива со беспламена атомска апсорпција (техника на студено испарување), вклучувајќи и потребна стаклена опрема. Должина на кивета најмалку 100 mm.

5. ПОСТАПКА

Преземете ги сите вообичаени мерки на претпазливост при анализа за откривање на жива.

5.1. Разложување

- 5.1.1. Измерете точно 150 mg од мострата (m). Додадете 10 ml азотна киселина (3.1) и оставете три часа да дигестира во добро затворена колба во водена бања на 55°C, мешајќи на редовни интервали. Во исто време извршете контролен тест врз реагенсите.
- 5.1.2. По ладењето, додадете 10 ml сулфурна киселина (3.2) и вратете ја во водена бања 30 минути на 55°C.
- 5.1.3. Поставете ја колбата во ледена бања и внимателно додадете 20 ml вода (3.3).
- 5.1.4. Додавајте на 2 ml точно определен дел од 7% раствор на калиум перманганат (3.4) се додека растворот стане обоен. Вратете го во водената бања натамошни 15 минути на 55°C.
- 5.1.5. Додадете 4 ml раствор од дикалиум пероксодисулфат (3.6). Продолжете да ја затоплувате водената бања на 55°C во период од 30 минути.
- 5.1.6. Оставете да се олади и пренесете ја колбата во 100 ml стандардна колба. Исплакнете ја колбата со 5 ml хидроксиамониум хлорид (3.5) и исплакнете четири пати со 10 ml вода (3.3.). Растворот треба комплетно да ја загуби бојата. Дополнете со вода (3.3) до ознаката.

5.2. Одредување

- 5.2.1. Ставете 10 ml од растворот за тестирање (5.1.6) во стаклен сад за одредување на жива со беспламена атомска апсорпција (4.2). Разредете со 100 ml вода (3.3) и последователно со 5 ml сулфурна киселина (3.2) и со 5 ml раствор од калај дихлорид (3.7). Мешајте по секое додавање. Почекајте 30 секунди за да јонската жива се редуцира до метална состојба и тогаш прочитајте (n).
- 5.2.2. Ставете малку паладиум дихлорид импрегнирана стаклена волна (3.9) помеѓу садот за редуцирање и проточната ќелија од инструментот (4.2). Повторете 5.2.1. и впишете ги читањата. Ако читањето не покажува нула минерализација тогаш истото е некомплетно и анализата треба да се повтори.

6. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Кога:

m = масата (во милиграми) на делот за тестирање.

n = количеството жива (во μl) прочитана од инструментот.

Количеството жива, изразено како жива, како процент од масата се пресметува преку формулата:

$$\% \text{ жива} = \frac{n}{m}$$

7. ЗАБЕЛЕШКИ

- 7.1. За да се подобри минерализацијата може да е потребно да се започне со разредување на мострата.
- 7.2. Доколку се сомнева на апсорпција на живата од страна на супстратот, треба да се изврши квантитативно одредување со методот на стандардни додавања.

8. ПОВТОРЛИВОСТ²⁶

²⁶ NORM ISO 5725.

Во случаи на живина концентрација од 0,007%, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,00035%.

Х.МЕТОД НА ЈОДОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА АЛКАЛНИ И ЗЕМНО АЛКАЛНИ СУЛФИДИ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод го опишува одредувањето на сулфидите присутни во козметички производи. Присуството на тиоли или други агенси за редуцирање (вклучително и сулфити) не пречат.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на сулфидите одредена во согласност со овој метод, е изразена како процент од масата.

3. НАЧЕЛО

После закиселување на средината, водород сулфидот се внесува со млаз од азот и се преведува во форма на кадмиум сулфид. Второспоменатиот се филтрира и се исплакнува, а потоа се одредува со јодометрија.

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота.

- 4.1. Концентрирана хидрохлорна киселина, $d^{20}_4 = 1,19 \text{ g/ml}$.
- 4.2. Натриум тиосулфат, 0,1 М стандарден раствор.
- 4.3. Јод, 0,05 М стандарден раствор.
- 4.4. Динатриум сулфид.
- 4.5. Кадмиум ди(ацетат).
- 4.6. Концентриран амонијак, $d^{20}_4 = 0,90 \text{ g/ml}$.
- 4.7. Амонијачен раствор на кадмиум ди(ацетат): растворете 10 г кадмиум ди(ацетат) (4.5) во приближно 50 ml вода. Додадете амонијак (4.6) сè додека талогот повторно не се раствори (на пр. приближно 20 ml). Дополнете со вода до 100 ml ознака.
- 4.8. Азот.
- 4.9. Амонијачен раствор М.

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
- 5.2. 100 ml колба со тркалезно дно и со три шлифувани отвори.(вратови од брусено стакло)
- 5.3. Две 150 ml конусни колби со шлиф, опремени со направа која содржи цевка-црпалка и странична излезна цевка за ослободување на затворениот гас.
- 5.4. Една инка со долг одвод.

6. ПОСТАПКА

- 6.1. Затворање на сулфидите.
 - 6.1.1. Земете пакување кое не е претходно отворено. Точно измерете маса (m) (изразена во грами) од производот кој одговара на не повеќе од 30 mg

- сулфидни јони во колба со тркалезно дно (5.2). Додадете 60 ml вода и две капки од течноста против пенење.
- 6.1.2. Пренесете 50 ml од растворот (4.7) од секоја од двете конусни колби (5.3).
- 6.1.3. Поставете ја инката за капење, цевката-црпалка и излезната цевка во колбата со тркалезно дно (5.2). Поврзете ја излезната цевка со конусната колба (5.3) поврзувајќи ги во серија преку ПВЦ цевки.
Забелешка: Затворената апаратура треба да го мине следниов тест за истекување: симулирајќи ги условите за тестирање, заменете го производот кој се одредува со 10 ml сулфидниот раствор (приготвен од 4.4) кој содржи 'X mg' сулфид (јодометрички одреден). 'Y' е бројот во милиграми на сулфид откриен на крајот од оваа операција. Разликата помеѓу количеството 'X' и количеството 'Y' не треба да надмине 3%.
- 6.1.4. Пуштете го азотот (4.8) низ апаратурата 15 минути, со проток од две меурчиња во секунда, за да се исфрли воздухот содржан во колбата со тркалезно дно (5.2).
- 6.1.5. Загревајте ја колбата со тркалезно дно до $85^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- 6.1.6. Запрете го млазот од азот (4.8) и додадете 40 ml хлороводородна киселина (4.1) капка по капка.
- 6.1.7. Повторно вклучете го млазот од азот (4.8) кога скоро сета киселина е пренесена, оставајќи минимално количество течност за заптивање што ќе го спречи истекувањето на водород сулфид.
- 6.1.8. Престанете со загревањето по 30 минути. Оставете колбата (5.2) да се олади и продолжете да го пуштате млазот од азот (4.8) низ апаратурата час и половина.
- 6.2. Титрација
- 6.2.1. Филтрирајте го кадмиумовиот сулфид низ инката со долг одвод (5.4).
- 6.2.2. Исплакнете ја конусната колба (5.3) прво со раствор од амонијак (4.9) и истурете врз филтерот. Тогаш исплакнете со дестилирана вода и употребете ја водата за да го измиете талогот задржан на филтерот.
- 6.2.3. Завршете го миењето на талогот со 100 ml вода.
- 6.2.4. Поставете ја хартијата за филтрирање во конусната колба која го содржи талогот. Додадете 25 ml (n_1) јодов раствор (4.3), приближно 20 ml хлороводородна киселина (4.1) и 50 ml дестилирана вода.
- 6.2.5. Одредите го прекумерниот јод употребувајќи раствор од натриум тиосулфат (n_2) (4.2).

7. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Количеството сулфид во мострата изразено како сулфур, како масен процент, се пресметува преку следнава формулата:

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

каде:

n_1 = бројот (во милилитри) на користениот стандарден раствор на јод (4.3),

x = моларност на овој раствор,

n_2 = бројот (во милилитри) на стандарден растворот од натриум тиосулфат (4.2),

x_2 = моларност на овој раствор,
 m = маса (во грами) од пробата/примерокот за тестирање.

8. ПОВТОРЛИВОСТ²⁷

За концентрација на сулфид од околу 2% (m/m), разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,2%(m/m).

²⁷ NORM ISO 5725.

Прилог бр.4

I. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И
МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВИСОК ПРИТИСОК ЗА
ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ГЛИЦЕРОЛ 1-(4-АМИНОБЕНЗОАТ)

А. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Со овој метод се утврдува присуство на алфа-моноглицерил 4-аминобензоат (глицерол 1-(4-аминобензоат). Истиот утврдува присуство и на етил 4-аминобензоат (бензокаин INN) кој може да биде присутен како нечистотија.
2. НАЧЕЛО
Оваа идентификација се изведува со тенкослојна хроматографија на силика гел со флуоросцентен индикатор и откривање на слободната примарна аминок група со диазо боја на плочата.
3. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да бидат со аналитички квалитет.
 - 3.1. Мешавина од растворувач: циклохексан/пропан-2-ол/стабилизиран дихлорометан 48/64/9 (v/v/v).
 - 3.2. Развоен растворувач: петрол етер (40-60)/бензен/ацетон/ раствор на амониум хидроксид (минимум 25% NH₃): 35/35/35/1 (v/v/v/v).
 - 3.3. Развоен раствор: (а) натриум нитрит: 1 g во 100 ml 1 M хлороводородна киселина (приготвена веднаш пред употребата);
(б) 2-нафтол: 0,2 g во 100 ml 1 M калиум хидроксид.
 - 3.4. Стандардни раствори:
алфа-моноглицерил 4-аминобензоат: 0,05 g во 100 ml мешан раствор 3.1;
етил 4-аминобензоат: 0,05 g во 100 ml мешан раствор 3.1;
 - 3.5. Силика гел 60 Ф254 плочи, 0,25 mm дебелина, 200 mm x 200 mm.
4. АПАРАТУРА
 - 4.1. Вообичаена апаратура за тенкослојна хроматографија.
 - 4.2. Ултразвучен вибратор.
 - 4.3. Милипор филтер ФХ 0,5 μm или негов еквивалент.
5. ПОСТАПКА
 - 5.1. Припрема на мострата
Точно измерете 1,5 g од испитуваниот производот кој се анализира во 10 ml градуирана колба со брусено грло. Дополнете со растворувачот 3.1. до ознаката. Зачепете и оставете да стои еден час на собна температура во ултразвучна мешалка(4.2). Филтрирајте низ Милипор филтер (4.3) и филтратот користете го за хроматографија.
 - 5.2. Тенкослојна хроматографија

На плочата (3.5) внесете 10 μ l раствор од мострата (5.1) и од секој стандарден раствор (3.4).

Хроматограмот го развивате до висина од 150 mm во резервоар претходно заситен со растворувач (3.2). Оставете плочата да се исуши на амбиентална температура.

5.3. Развивање

5.3.1. Набљудувајте ја плочата под УВ ламба на 254 nm.

5.3.2. Комплетно исушената плоча испрскајте ја со растворот 3.3. (а).

Оставете да се исуши на собна температура околу 1 минута и веднаш испрскајте со растворот 3.3 (б).

Исушете ја плочата во печка на 60°C. Дамките кои се појавуваат имаат портокалова боја. Алфа-моноглицерил 4-аминобензоат: Rf 0,07; етил 4-аминобензоат Rf 0,55.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод го одредува алфа моноглицерил 4-аминобензоат. Со него се одредува и етил 4-аминобензоат. Тој не може да одреди повеќе од 5% (m/m) на алфа моноглицерил 4-аминобензоат и 1% (m/m) етил 4-аминобензоат.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржините на алфа моноглицерил 4-аминобензоат и на етил 4-аминобензоат одредени со овој метод се изразени како процент од масата (% m/m) од производот.

3. НАЧЕЛО

Производот кој се анализира се суспендира во метанол и по соодветен третман на мострата се одредува со високоперформансна течна хроматографија (HPLC).

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота и да се соодветни за HPLC кога тоа е соодветно.

4.1. Метанол.

4.2. Калиум дихидрогенортофосфат (KH_2PO_4).

4.3. Цинк ди(ацетат) ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$).

4.4. Оцетна киселина ($d^{20}_4 = 1,05$ g/ml).

4.5. Тетракалиум хексацијаноферат, ($K_4(Fe(CN)_6) \cdot 3H_2O$).

4.6. Етил 4-хидроксибензоат.

4.7. Алфа моноглицерил 4-аминобензоат.

4.8. Етил 4-аминобензоат.

4.9. Фосфатен Пуфер (0,02M): растворете 2,72 g калиум дихидрогенортофосфат (4.2) во еден литар вода.

4.10. Елуант: пуфер раствор на фосфат (4.9)/метанол (4.1) 61/39(v/v)

Составот на мобилната фаза може да се промени со цел да се постигне фактор на резолуција $R \geq 1,5$.

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

каде:

R1 и R2 = време на задржување, во минути, на пикот

W1 и W2 = широчина на пикот на половина од височината, во милиметри

d' = брзина на хартијата, во милиметри во минута.

- 4.11. Основен раствор од алфа моноглицерил 4-аминобензоат: измерете точно околу 40 mg алфа моноглицерил 4-аминобензоат и внесете го во 100 ml градуирана колба. Растворете во 40 ml метанол (4.1). Дополнете до обележувањето со пуфер раствор (4.9) и измешајте.
- 4.12. Основен раствор од етил 4-аминобензоат: измерете точно околу 40 mg етил 4-аминобензоат и внесете го во 100 ml градуирана колба. Растворете во 40 ml метанол (4.1). Дополнете до обележувањето со пуфер раствор (4.9) и измешајте.
- 4.13. Внатрешен стандарден раствор: измерете точно околу 5 mg етил 4-аминобензоат (4.6) и пренесете го во 100 ml градуирана колба. Растворете во 40 ml метанол (4.1), дополнете до обележувањето со пуфер раствор (4.9) и измешајте.
- 4.14. Стандардни раствори: пригответе четири стандардни раствори со растворање на 100 ml елуат (4.10) во согласност со следнава табела:

стандарден раствор	алфа моноглицерил 4-аминобензоат		етил 4-аминобензоат		етил 4-хидроксибензоат	
	(µg/ml)(*)	ml (4.11)	(µg/ml)(*)	ml (4.11)	(µg/ml)(*)	ml (4.11)
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

(*) Овие вредности се дадени како ознака и одговараат на точните маси од 4.11, 4.12 и 4.13.

Забелешка: Овие вредности може да се приготват на различен начин.

- 4.15. Раствор Карез I: растворете 26,5 g тетракалиум хексацијаноферат (4.5) во вода и дополнете до 250 ml.
- 4.16. Раствор Карез II: растворете 54,9 g цинк ди(ацетат) (4.3) и 7,5 ml оцетна киселина (4.4) во вода и дополнете до 250 ml.
- 4.17. Мерк Ликросорб РП-18, или негов еквивалент со просечна големина на честичките од 5 µm.

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 5.2. Опрема за високо квалитетна хроматографија со детектор за променлива должина на УВ брановите и термостатска комора поставена на 45°C.
- 5.3. Колона од нерѓосувачки челик: должина: 250 mm; внатршен дијаметар: 4,6 mm; пакување: Ликросорб РП-18 (4.17).
- 5.4. Ултразвучна бања.

6. ПОСТАПКА

- 6.1. Приготвување на мострата
 - 6.1.1. Точно измерете околу 1 g мостра во 100 ml лабораториска чаша и додадете 10 ml метанол (4.1).
 - 6.1.2. Поставете ја лабораториската чаша во ултразвучна бања (5.4) 20 минути за да се добие суспензија. Квантитативно пренесете ја добиената суспензија стандардна колба од 100 ml со не повеќе од 75 ml елутант (4.10).
Понатаму додадете 1 ml раствор Карез I (4.15) и 1 ml од раствор Карез II (4.16) и мешајте по секое додавање. Дополнете до обележувањето со елутант (4.10), повторно мешајте и филтрирајте низ набрана филтер хартија.
 - 6.1.3. Со пипета пренесете 3,0 ml од филтерот добиен 6.1.2 и 5,0 ml внатрешен стандарден раствор (4.13) во 50 ml стандардна колба. Дополнете до обележувањето (4.10) и мешајте. Употребете го така добиениот раствор за извршување на хроматографната анализа опишана во 6.2.
- 6.2. Хроматографија
 - 6.2.1. Прилагодете го протокот на мобилната фаза (4.10) на 1,2 ml/мин и поставете ја температурата на колоната на 45°C.
 - 6.2.2. Поставете го детекторот (5.2) на 274 nm.
 - 6.2.3. Со микрошприц, внесете најмалку два пати 20 µl од растворот (6.1.3) во хроматографот и измерете ја површината под пикот.
- 6.3. Крива на калибрација.
 - 6.3.1. Внесете 20 µl од секој од стандардните раствори (4.14) и измерете ја површината под пикот.
 - 6.3.2. За секоја концентрација пресметајте го односот помеѓу површината под пикот од алфа моноглицерил 4-аминобензоат и површината под пикот од внатрешниот стандард. Нацртајте го овој однос на апцисата, а на ординатата внесете ги соодветните маси.
 - 6.3.3. На истиот начин продолжете со етил 4-хидроксибензоат.

7. ПРЕСМЕТКИ

- 7.1. За кривата на калибрација добиена со 6.3 прочитајте ги масните соодноси (RP1, RP2) кој одговара на соодносите помеѓу површината под пикот пресметани во 6.2.3. каде:
RP1 = масата на алфа моноглицерил 4-аминобензоат/ масата на етил 4-хидроксибензоат,
RP2 = масата на етил 4-аминобензоат/ масата на етил 4-хидроксибензоат.

- 7.2. Од масените соодноси добиени на овој начин пресметајте ги содржините на алфа моноглицерил 4-аминобензоат и етил 4-аминобензоат како процент од масата (%m/m) со формулата:

$$RP \% (m/m) \text{ алфа моноглицерил 4-аминобензоат} = RP1 \times \frac{q}{6p}$$

$$RP \% (m/m) \text{ етил 4-аминобензоат} = RP2 \times \frac{q}{6p}$$

q = количество на измерениот етил 4-аминобензоат (внатрешен стандард), во милиграми, во 4.1.2,

p = количеството на мострата, во грами, измерено како 6.1.1.

8. ПОВТОРЛИВОСТ²⁸

- 8.1. За содржина од 5% алфа моноглицерил 4-аминобензоат, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,25%.
- 8.2. За содржина од 1% етил 4-аминобензоат, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,10%.

9. ЗАБЕЛЕШКИ

- 9.1. Пред извршување на анализа, проверете дали мострата содржи супстанции кои лесно може да се преклопат со највисоката точка на внатрешниот стандард (етил 4-аминобензоат) на хроматограмот.
- 9.2. За да се провери отсуството на секоја вмешување, повторете го одредувањето со тоа што ќе го промените соодносот на метанол во мобилната фаза со релативно 10%.

II. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХЛОРОБУТАНОЛ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод е соодветен за одредување на хлоробутанол (INN) до максимална концентрација од 0,5% (m/m) во сите козметички производи, освен аеросоли.

2. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на хлоробутанол во мострата измерена со овој метод е изразена како процент од масата (% m/m) на производот.

3. НАЧЕЛО

После соодветен третман на производот кој треба да се анализира одредувањето се врши со гасна хроматографија употребувајќи 2,2,2-трихлороетанол како внатрешен стандард..

4. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

²⁸ Norm ISO 5725.

- 4.1. Хлоробутанол (1,1,1-трихлоро-2-метилпропан-2-ол).
- 4.2. 2,2,2-трихлороетанол.
- 4.3. Абсолютен етанол.
- 4.4. Стандарден раствор на хлоробутанол: 0,025 g во 100 ml етанол (4.3) (m/v).
- 4.5. Стандарден раствор на 2,2,2-трихлороетанол: 4 mg во 100 ml етанол (4.3) (m/v).

5. АПАРАТУРА

- 5.1. Вообичаена лабораториска апаратура.
- 5.2. Гасен хроматограф со детектор за електрони, Ni 63.

6. ПОСТАПКА

6.1. Приготвување на мострата

- 6.1.1. Точно измерете помеѓу 0,1 и 0,3 g (p g) од мострата. Внесете во 100 ml волуметриска колба. Растворете во етанол (4.3), додадете 1 ml внатрешен стандарден раствор (4.5) и дополнете до обележувањето со етанол (4.3)

6.2. Услови за гасна хроматографија

- 6.2.1. Оперативните услови треба да имаат фактор на резолуција $R \geq 1,5$.

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

каде:

- R1 и R2 = време на задржување, во минути, на пикот
W1 и W2 = широчина на пикот на половина од височината, во милиметри
d' = брзина на хартијата, во милиметри во минута.

- 6.2.2. Како примери, следниве оперативни услови ја даваат бараната резолуција:

Колона	I	II
Материјал	Стакло	Нерѓосувачки челик
Должина	1,80 m	3 m
Дијаметар	3 mm	3 mm
Стационарна фаза	10% Carbowax 20 M TPA на Gaschrom Q 80-100 меша	5% OV 17 на Chromosorb WAW DMCS 80-100 меша
Услови		
Температура:	2 до 3 дена на 180°C	
- инјектор		150°C
- колона	200°C	100°C
- детектор	150°C	150°C
Носечки гас	200°C	Аргон/метан (95/5 v/v)
Проток	Азот 35 ml/мин	35 ml/мин

6.3. Стандардна крива

Употребувајќи пет 100 ml волуметриски колби додадете 1 ml стандарден раствор (4.5) и 0,2, 0,3, 0,4, 0,5 и 0,6 ml соодветно од растворот 4.4 и

додадете етанол (4.3) до ознаката и промешајте. Инјектирајте 1 μ l од секој од овие раствори во хроматографот во согласност со оперативните услови опишани во 6.2.2 и создадете крива на калибрација со вцртување на односот на масата на хлоробутанолот со онаа на 2,2,2-трихлороетан како апциса и односот на соодветната површина како ординатата.

6.4. Инјектирајте 1 μ l од растворот добиен во 6.1 и продолжете согласно условите опишани во 6.2.2.

7. ПРЕСМЕТКИ

7.1. Од стандардната крива (6.3) пресметајте го количеството 'а' изразено како μ g хлоробутан во растворот 6.1.

7.2. Содржината хлоробутанолот во мострата се пресметува според формулата:

$$\% \text{ хлоробутан (m/m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^2} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. ПОВТОРЛИВОСТ²⁹

За содржина од околу 0,5% (m/m) хлоробутан разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,01%.

Забелешка: Ако резултатот е еднаков на или ја надминува максимално дозволената концентрација потребно е да се провери отсуството на вмешување.

III. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПО ВИСОК ПРИТИСОК ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХИНИН

A. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Методот е соодветен за откривање на присуството на хинин во шампони и лосиони за коса.

2. НАЧЕЛО

Идентификувањето се врши со тенкослојна хроматографија на силика гел. Откривањето на хинин е преку сина флуоросцентност на хининот во кисела средина на 360 nm.

За дополнително потврдување, флуоросцентноста може да се отстрани со бромна пареа а пареа од амонијак ќе предизвика појава на жолтеникава флуоросцентност.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

²⁹ ISO 5725.

- 3.1. Плоча од силика гел без индикатори за флуоросцентност, 0,25 mm дебели, 200 x 200 mm.
- 3.2. Развоен растворувач: толуен/ диетил етер/ дихлорометан /диетиламин/ 20/20/20/8 (v/v/v/v).
- 3.3. Метанол.
- 3.4. Сулфурна киселина (96%($d^{20}_4 = 1,84$ g/ml).
- 3.5. Диетил етер.
- 3.6. Средство за развивање: внимателно додадете 5 ml сулфурна киселина (3.4) во 95 ml диетил етер (3.5) во оладен контејнер.
- 3.7. Бром.
- 3.8. Раствор од амонум хидроксид (28%($d^{20}_4 = 0,90$).
- 3.9. Хинин, анхидриден.
- 3.10. Стандарден раствор: точно измерете околу 100,0 mg анхидриден хинин (3.9) во стандардна колба и растворете во 100 ml метанол (3.3).

4. АПАРАТУРА

- 4.1. Вообичаена лабораториска апаратура за тенкослојна хроматографија.
- 4.2. Ултразвучна бања.
- 4.3. Милипор филтер, FH 0,5 fm или негов еквивалент со соодветна опрема за филтрирање.

5. ПОСТАПКА

- 5.1. Приготвување на мострата
Измерете точно количество од мострата која може да содржи приближно 100 mg хинин во 100 ml стандардна колба, и дополнете со метанол (3.3) до обележувањето.
Зачепете ја колбата и оставете ја еден час на собна температура во ултразвучен вибратор (4.2). Филтрирајте (4.3) и употребете го филтратот за хроматографија.
- 5.2. Тенкослојна хроматографија
Нанесете 1,0 μ l стандарден раствор (3.10) и 1,0 μ l раствор од мострата (5.1) врз плоча од силика гел (3.1). Развијте го хроматограмот на далечина од 150 mm употребувајќи раствор 3.2. во комора претходно заситена со растворувач (3.2).
- 5.3. Развивање
 - 5.3.1. Исушете ја плочата на собна температура.
 - 5.3.2. Испрскајте ја со реагенсот 3.6.
 - 5.3.3. Оставете ја плочата да се исуши еден час на собна температура.
 - 5.3.4. Набљудувајте ја плочата над светло од УВ лампа на бранова должина од 360 nm. Хинин се појавува како флуоросцентна интензивна сина дамка.
Табелата подолу преку примери дава вредности на RF на главните алкалоиди поврзани со хинин развиен со растворувачот 3.2.

Алкалоид	RF
Хинин	0,20
Хинидин	0,29
Цинхонин	0,33
Цинхонидин	0,27
Хидрохинидин	0,17

- 5.3.5. За дополнително потврдување на присуството на хинин, плочата околу еден час се изложува на бромна пареа (3.7). Флуоросценцијата исчезнува. Кога истата плоча се изложува на пареа од амонијак (3.8) повторно се појавуваат дамки со кафена боја а кога плочата повторно се набљудува под УВ лампа на бранова должина од 360 nm се појавува жолтеникава флуоросцентност.

Граница на откривање: 0,1 µg хинин.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА
Овој метод го опишува определувањето на содржината на хинин. Тој се употребува за одредување на максимална дозволена концентрација од 0,5% (m/m) во шампони и 0,2% во лосиони за коса.
2. ДЕФИНИЦИЈА
Содржините на хинин определени со овој метод е изразено како процент од масата (% m/m) од производот.
3. НАЧЕЛО
После соодветен третман на производот кој се анализира се одредува со високоперформаторна течна хроматографија (HPLC).
4. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота и да се соодветни за HPLC.
 - 4.1. Ацетонитрил.
 - 4.2. Калиум дихидрогенортофосфат (KH₂PO₄).
 - 4.3. Ортофосфорна киселина (85%; d²⁰₄ = 1,7).
 - 4.4. Тетраметиламиниум бромид.
 - 4.5. Хинин, анхидриден.
 - 4.6. Метанол.
 - 4.7. Раствор на ортофосфорна киселина (0,1M): одвагај 11,53 g ортофосфорна киселина (4.3) и растворете во 1000 ml вода во градуирана колба.
 - 4.8. Раствор на калиум дихидрогенортофосфат (0,1M): одвагај 13,6 g калиум дихидрогенортофосфат (4.2) и растворете во 1000 ml вода во градуирана колба.
 - 4.9. Раствор на тетраметиламиниум бромид: растворете 15,40 g тетраметиламиниум бромид (4.4) во 1000 ml вода во градуирана колба.
 - 4.10. Елуант: ортофосфорна киселина (4.7)/ калиум дихидрогенортофосфат (4.8)/ тетраметиламиниум бромид (4.9)/вода/ацетонитрил (4.1) 10/50/100/340/90 (v/v/v/v/v).

Составот на мобилната фаза може да се промени со цел да се постигне фактор на резолуција $R \geq 1,5$.

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

каде:

R1 и R2 = време на задржување, во минути, на пикот

W1 и W2 = широчина на пикот на половина од височината, во милиметри

d' = брзина на хартијата, во милиметри во минута.

4.11. Кварц третиран со октадецилсилан, 10 μm .

4.12. Стандарден раствор: точно измерете околу 5,0, 10,0, 15,0 и 20, 0 mg анхидриден хинин (4.5) во 100 ml стандардни колби. Дополнете до ознаката со метанол (4.6) и протресете ја содржината на колбата се додека хининот се раствори. Филтрирајте го секој раствор низ 0,5 μm филтер.

5. АПАРАТУРА

5.1. Вообичаена лабораториска опрема.

5.2. Ултразвучна бања.

5.3. Опрема за високо квалитетна течна хроматографија со детектор за променлива бранова должина.

5.4. Колона: должина: 250 mm; внатрешен дијаметар: 4,6 mm; наполнет со кварц (4.11).

5.5. Милипор филтер, FH 0,5 fm или негов еквивалент со соодветна опрема за филтрирање.

6. ПОСТАПКА

6.1. Приготвување на мострата

Во 100 ml стандардна колба, измерете количество од производот доволно да содржи 10,0 mg анхидриден хинин, додадете 20 ml метанол (4.6) и колбата ставете ја 20 минути во ултразвучна бања (5.2). Дополнете со метанол (4.6) до обележувањето. Промешајте го растворот и филтрирајте точно определен дел (5.5).

6.2. Хроматографија

Проток: 1,0 ml/мин.

Детектор за бранова должина (5.3) : 332 nm.

Количество на инјектирање: 10 μl филтриран раствор (6.1).

Мерење: површина под пикот.

6.3. Крива на калибрање

Инјектирајте најмалку три пати 10,0 μl од секој од овие референтни раствори (4.12), измерете ги површините под пиковите и пресметајте ја просечната површина за секоја концентрација.

Нацртајте ја кривата на калибрација и потврдете дека истата е ректилинеарна.

7. ПРЕСМЕТКИ

7.1. Од стандардната крива (6.3) одредете го количеството изразено во μg анхидриден хинин присутен во инјектираното количество (6.2).

7.2. Содржината на анхидриден хинин во мострата како процент од масата (%m/m) се пресметува според формулата:

$$\% (m/m) \text{ анхидриден кинин} = \frac{B}{A}$$

каде:

B е количеството, во микрограми, на анхидриден хинин одредено во 10 микролитри филтриран раствор (6.1).

А е масата на мострата во грами (6.1).

8. ПОВТОРЛИВОСТ³⁰

За содржина од околу 0,5% (m/m) анхидриден хинин разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,02%.

За содржина од околу 0,2% (m/m) анхидриден хинин разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,01%.

IV.ОРГАНОЛЕПТИЧКИ МЕТОД ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА ТИТРАЦИЈА
ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА НЕОРГАНСКИ СУЛФИТИ И
ХИДРОГЕН СУЛФИТИ

ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод ја опишува употребата и определувањето на содржината на неоргански сулфити и хидроген сулфити во козметички производи. Применлив е само кај производи кои имаат водена или алкохолна фаза и за концентрации до 0,2% сулфур диоксид.

А. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. НАЧЕЛО

Мострата се загрева во хлороводородна киселина, ослободениот сулфур диоксид се идентификува или преку својата миризма или преку своите ефекти врз индикаторната хартија.

2. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

2.1. Хлороводородна киселина (4М).

2.2. Калиумјодатна скробна хартија или друга соодветна алтернатива.

3. АПАРАТУРА

3.1. Вообичаена лабораториска опрема.

3.2. Колба (25 ml) со кус рефлуксен кондензатор.

4. ПОСТАПКА

4.1. Ставете околу 2,5 g од мострата во колба (3.2) со 10 ml хлороводородна киселина (2.1).

4.2. Мешајте и загревајте до зовривање.

4.3. Тестирајте за испуштање на сулфур диоксид или преку мирис или преку индикаторна хартија (2.2).

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ДЕФИНИЦИЈА

³⁰ ISO 5725.

Содржините на хидроген сулфит во мострата одреден со овој метод е изразено како процент од масата на сулфур диоксид.

2. НАЧЕЛО

После закиселување на мострата, ослободениот сулфур диоксид се дестилира во раствор од хидроген пероксид. Формираната сулфурна киселина се титрира со стандарден раствор од натриум хидроксид.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота

- 3.1. Хидроген пероксид 0,2% (m/v). Приготвен истиот ден.
- 3.2. Ортофосфорна киселина ($d^{25}_4 = 1,75$).
- 3.3. Метанол.
- 3.4. Стандарден раствор на натриум хидроксид (0,01 M).
- 3.5. Азот.
- 3.6. Индикатор: мешавина 1:1(v/v) од метиленско црвено (0,03% m/v во етанол) и метиленско сино (0,05% m/v во етанол). Филтрирајте го растворот.

4. АПАРАТУРА

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 4.2. Апарат за дестилација (види слика).

5. ПОСТАПКА

- 5.1. Точно измерете околу 2,5 g од мострата во колба за дестилирање А (види слика).
- 5.2. Додадете 60 ml вода и 50 ml метанол (3.3) и измешајте.
- 5.3. Поставете 10 ml од хидроген пероксидот (3.1), 60 ml вода и неколку капки индикатор (3.6) во примачот на дестилацијата (види слика). Додадете неколку капки натриум хидроксид (3.4) се додека индикатор не стане зелен.
- 5.4. Повторете ја точка 5.3 за миење на шишето Е (види слика).
- 5.5. Склопете ја апаратурата и прилагодете го протокот на азот (3.5) на околу 60 меурчиња во минута.
- 5.6. Пуштете 15 ml ортофосфорна киселина (3.2) да протече низ инката во колбата за дестилација А.
- 5.7. Брзо загревајте до вриење а потоа вријте на слаб оган вкупно 30 минути.
- 5.8. Отстранете го примачот на дестилацијата Д. Исплакнете ја цевката, а потоа титрирајте со раствор од натриум хидроксид (3.4) сè додека индикаторот стане зелен (3.6).

6. ПРЕСМЕТКИ

Пресметајте ја содржината на сулфит или хидроген сулфит преку масата на мострата преку изразот:

$$\% \text{ m/m сулфур диоксид} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

каде:

- M = моларно количество на раствор од натриум хидроксид (3.4),
V = количеството на натриум хидроксид (3.4) потребен за титрација (5.8), во милилитри,
m = масата на мострата во грами (5.1).

7. ПОВТОРЛИВОСТ³¹

За содржина од околу 0,2% (m/m) сулфур диоксид разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,006%.

Апарат за дестилација на сулфурдиоксид според Танер

Сите димензии се во mm

³¹ ISO 5725.

А. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

1. НАЧЕЛО
Хлоратите се одделуваат од другите хелати со тенкослојна хроматографија, а се идентификуваат со оксидација на јодидот во форма на јод.
2. РЕАГЕНСИ
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота
 - 2.1. Референтни раствори: водени раствори на калиум хлорат, бромат и јодат (0,2% m/v) свежо приготвен.
 - 2.2. Развоен раствор: раствор на амонијак (28% m/v) ацетон/бутанол(60/130/30 v/v/v).
 - 2.3. Калиум јодид, воден раствор (5% m/v).
 - 2.4. Скробен раствор (1 до 5% m/v).
 - 2.5. Хлороводородна киселина (1M).
 - 2.6. Приготвени целулозни тенкослојни плочи (0,25 mm).
3. АПАРАТУРА
Вообичаена опрема за тенкослојна хроматографија.
4. ПОСТАПКА
 - 4.1. Извлечете околу 1 g од мострата со вода, филтрирајте и разредете до околу 25 ml.
 - 4.2. На плочата (2.6) внесете 2 μ l од растворот (4.1) заедно со 2 μ l точно определен дел од трите референтни раствори (2.1).
 - 4.3. Ставете ја плочата во резервоар и развивајте со нагорна хроматографија за три четвртини од должината на плочата (2.6) со растворувач 2.2.
 - 4.4. Отстранете ја од резервоарот и оставете растворувачот да испари. (Забелешка: ова може да потрае до два часа)
 - 4.5. Испрскајте ја плочата со калиум јодид (2.3) и оставете ја околу пет минути да се исуши.
 - 4.6. Испрскајте ја плочата со скробен раствор (2.4) и оставете ја околу пет минути да се исуши.
 - 4.7. Испрскајте ја чинијата со хлороводородна киселина (2.5).
5. ОЦЕНУВАЊЕ
Ако има присуство на хлорат ќе се појави сина дамка (можно е и кафена дамка) после половина час со RF вредност приближно 0,7 до 0,8.

Хелати	RF
Јодат	0 до 0,2
Бромат	0,5 до 0,6
Хлорат	0,7 до 0,8

Треба да се забележи дека броматите и јодатите реагираат веднаш. Треба да се внимава да не се помешаат дамките од броматите и хлоратите.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ДЕФИНИЦИЈА
Содржината на хлорат во мострата одредена со овој метод се изразува како процент од масата на хлоратот.

2. НАЧЕЛО

Хлоратот се редуцира од цинк во прав во кисели услови. Формираниот хлорид се мери со потенциометриска титрација употребувајќи раствор од сребро нитрат. Слично одредување пред редукцијата дозволува можно присуство на халиди.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

- 3.1. Оцетна киселина, 80% (m/m).
- 3.2. Цинк во прав.
- 3.3. Стандарден раствор од сребро нитрат (0,1 M).

4. АПАРАТУРА

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 4.2. Потенциометар опремен со индикаторна електрода за сребро.

5. ПОСТАПКА

5.1. Приготвување на мострата

Точно измерете количество 'm' од приближно 2 g во епрувета за центрифугирање. Додадете околу 15 ml оцетна киселина (3.1) и внимателно мешајте. Оставете го 30 минути и центрифугирајте 15 минути на 2000 вртежи/минута. Пренесете го супернантниот раствор во 50 ml волуметриска колба. Повторете го два пати центрифугирањето со додавање 15 ml оцетна киселина (3.1) во остатокот. Соберете го растворот кој содржи хлорат во истата волуметриска колба. Дополнете со оцетна киселина (3.1) до ознаката.

5.2. Редукција на хлоратот

Земете 20 ml од растворот 5.1. и додадете 0,6 g од цинкот во прав (3.2). Зовривајте го во колбата со кондензатор. По 30 минути вриење, оладете и филтрирајте. Исплакнете ја колбата со вода. Филтрирајте и комбинирајте ги филтратите.

5.3. Одредување на хлорид

Титрирајте 20 ml од растворот 5.2 со сребро нитрат (3.3) со употребување на потенциометарот (4.2). На ист начин титрирајте 20 ml од растворот 5.1. со сребро нитрат (3.3).

Забелешка: Ако производот содржи деривати на бром или јод по редукцијата, кривата на титрација ќе има неколку точки на модулација. Во овој случај количеството на титриран раствор (3.3) кое соодветствува на хлоридот е разликата помеѓу последната и претпоследните точки на модулација.

6. ПРЕСМЕТУВАЊЕ

Содржината на хлорат во мострата (% m/m), се пресметува преку формулата:

$$\text{Хлорат (ClO}_3^-) \% \text{ m/m} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

каде:

- V = количеството во милилитри од растворот на сребро нитрат (3.3) употребено за титрација на растворот 5.2,
V = количеството во милилитри од растворот на сребро нитрат (3.3) употребено за титрација на 20 милилитри од растворот 5.1,
M = моларност на стандардниот раствор од сребро нитрат (3.3),
m = маса на мострата, во грами.

7. ПОВТОРЛИВОСТ³²

За содржина на хлорат од 3 до 5%, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надмине апсолутна вредност од 0,07 % m/m.

VI. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКУВАЊЕ И МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВУИСОК ПРИТИСОК ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА НАТРИУМ ЈОДАТ

ОПСЕГ И ПОЛЕ НА ПРИМЕНА

Овој метод го опишува идентификувањето и одредувањето на испирање на козметички производи кои содржат натриум јодат.

A. ИДЕНТИФИКУВАЊЕ

1. НАЧЕЛО

Натриум јодат се одделува од останатите хелати со тенкослојна хроматографија, а се идентификуваат со оксидација на јодидот во форма на јод.

2. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота

- 2.1. Референтни раствори: водени раствори на калиум хлорат, бромат и јодат (0,01% m/v) свежо приготвен.
- 2.2. Развоен раствор.
Раствор на амонијак (28% m/v) ацетон/бутанол(60/130/30 v/v/v).
- 2.3. Калиум јодид, воден раствор (5% m/v).
- 2.4. Скробен раствор (1 до 5% m/v).
- 2.5. хлороводородна киселина (1M).

3. АПАРАТУРА

- 3.1. Приготвени целулозни плочи за тенкослојна хроматографија (0,25).
- 3.2. Вообичаена опрема за тенкослојна хроматографија.

4. ПОСТАПКА

- 4.1. Извлечете околу 1 g од мострата со вода, филтрирајте и растворете до околу 10 ml.

³² Norm ISO 5725.

- 4.2. На основната линија од плочата (3.1) внесете 2 μ l од растворот заедно со 2 μ l точно определен дел од трите референтни раствори (2.1).
- 4.3. Ставете ја плочата во резервоар и развивајте со нагорна хроматографија за три четвртини од должината на плочата со растворувач (2.2).
- 4.4. Отстранете ја од резервоарот и оставете растворувачот да испари. (Забелешка: ова може да потрае до два часа)
- 4.5. Испрскајте ја плочата со калиум јодид (2.3) и оставете ја околу пет минути да се исуши.
- 4.6. Испрскајте ја плочата со скробен раствор (2.4) и оставете ја околу пет минути да се исуши.
- 4.7. На крајот испрскајте ја плочата со хлороводородна киселина (2.5).

5. ОЦЕНУВАЊЕ

Ако има присуство на хлорат веднаш ќе се појави сина дамка (бојата може да е кафена или да стане кафена откако ќе отстои) со RF вредност приближно од 0 до 0,2.

Треба да се забележи дека броматите реагираат веднаш на RF вредност од приближно 0,5 до 0,6, а хлоратите, по 30 минути, на RF вредност од 0,7 до 0,8 соодветно.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. ДЕФИНИЦИЈА

Содржината на јодат во мострата одредена со овој метод се изразува како процент од масата на натриум јодат.

2. НАЧЕЛО

Натриум јодат се раствора во вода и се одредува со високо квалитетна течна хроматографија, употребувајќи во серија, реверзна фаза С 18 колона и колона за размена на анјони.

3. РЕАГЕНСИ

Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота и особено, да се соодветни за високо квалитетна течна хроматографија (HPLC).

- 3.1. Хлороводородна киселина (4 M).
- 3.2. Натриум сулфит вода, 5% m/v.
- 3.3. Основен раствор од натриум јодат.
Пригответе матичен раствор кој содржи 50 mg натриум јодат во 100 ml вода.
- 3.4. Калиум дихидрогенортофосфат.
- 3.5. Динатриум хидрогенортофосфат $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$.
- 3.6. Мобилна фаза на HPLC: растворете 3,88 g калиум дихидрогенортофосфат (3.4) и 1, 19 g динатриум хидрогенортофосфат $\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (3.5) во 1 литар вода.
pH вредноста на резултантниот раствор е 6,2.
- 3.7. Универзална индикатор хартија, pH вредност 1-11.

4. АПАРАТУРА

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема.
- 4.2. Циркуларна филтер хартија, дијаметар 110 mm, Шлајхер и Шул бр 575 или еквивалент.

- 4.3. Високоперформаторен течен хроматограф со детектор за променлива бранова должина.
- 4.4. Колона: должина: 120 mm; внатрешен дијаметар: 4,6 mm; број: две поврзани во серија; првата колона – Неклеозил^R 5 C18 или еквивалент; втората колона – ВајдакTM – 301 СБ или еквивалент.

5. ПОСТАПКА

5.1. Приготвување на мострата

5.1.1. Течни мостри (шампони)

Точно измерете количество за тестирање од приближно 1,0 g од мострата во 10 ml стаклена зачепна калибрирана епрувета или одмерна колба.

Дополнете со вода до ознаката и измешајте.

Ако е потребно, филтрирајте го растворот.

Одредете го јодатот во растворот со HPLC како што е опишано во 5.2.

5.1.2. Цврсти мостри (сапуни)

Фино одделете дел од мострата и точно измерете дел за тестирање од приближно 1,0 g во 100 ml стаклен зачепен мерлив цилиндар. Дополнете до 50 ml со вода и добро промешајте во тек на една минута. Центрифугирајте и филтрирајте низ филтер хартија (4.1) и оставете мешавината да отстои најмалку една вечер.

Добро измешајте го желатинозниот раствор и филтрирајте низ филтер хартија (4.1).

Одредете го јодатот во филтратот со HPLC како што е опишано во дел 5.2.

5.2. Хроматографија

Проток: 1 ml/мин.

Бранова должина (4.2): 210 nm.

Количество на инјектирање: 10 µl.

Мерење: површина под пикот.

5.3. Калибрирање

Со пипета внесете 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 и 20,0 ml основен раствор од натриум јодат (3.3) во 50 ml волуметриска колба. Дополнете до обележувањето и промешајте.

Така добиениот раствор содржи 0,01, 0,02, 0,05, 0,10, и 0,20 mg натриум јодат во ml соодветно.

Инјектирајте 10 µl од секој стандарден раствор од јодат во течен хроматограф (4.2) и добијте хроматограм. Одредете ја површината под пикот за јодат и вцртајте ја кривата површина на пикот - концентрациите на натриум јодат.

6. Пресметајте ја содржината на натриум јодат, во процент од масата (% m/m), употребувајќи ја формулата:

$$\% \text{ m/m натриум јодат} = \frac{V_c}{10m}$$

m е масата, во грами, од делот за тестирање (5.1),

V е вкупното количество на мострениот раствор, во милилитри, добиен како што е опишано во 5.1.

с е концентрацијата, во милиграми во милилитар на натриум јодат, добиен од кривата на калибрација (5.3).

7. ПОВТОРЛИВОСТ³³

За содржина од околу 0,1% натриум јодат, разликата помеѓу резултатите од две одредувања извршени паралелно врз иста мостра не треба да надминат апсолутна вредност од 0,002%.

8. ПОТВРДА

8.1. Начело

Во кисел раствор од козметички производ, јодатот (IO_3^-) со сулфит се редуцира до јодид (I^-) и резултантниот раствор се прегледува со HPLC. Ако пикот со време на задржување кое одговара на времето на задржување на јодатот исчезне по третманот со сулфит, оригиналниот пик може најверојатно да му се припише на јодатот.

8.2. Постапка

Со пипета внесете 5 ml од делот од мострениот раствор добиен како што е опишано во дел 5.1. во конусна колба.

Прилагодете ја рН вредноста на растворот до вредност од 3 или пониска со хлороводородна киселина (3.1); универзална индикаторна хартија (3.7).

Додадете три капки раствор од натриум сулфит (3.2) и мешајте.

Инјектирајте 10 μl дел од растворот во течниот хроматограф (4.2).

Споредете го овој хроматограм со хроматограмот добиен како што е опишано во став 5 за истата мостра.

³³ ISO 5725.

Прилог бр. 5

I. МЕТОД НА ТАЛОЖЕЊЕ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА АТОМСКА
АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА
СОДРЖИНАТА НА СРЕБРО НИТРАТ ВО КОЗМЕТИЧКИТЕ ПРОИЗВОДИ

А. Идентификација

1. Цел и опсег
Овој метод ја опишува идентификацијата на сребро нитрат како сребро во течните козметички производи.
2. Принцип
Среброто се идентификува со карактеристичен бел талог формиран со хлоридни јони.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Раствор на хлороводородна киселина, 2 М
 - 3.2. Раствор на амонијак: разредете концентриран раствор на амониум хидроксид ($d_{20} = 0,88 \text{ g/ml}$) со еднакво количество на вода и промешајте.
 - 3.3. Раствор на азотна киселина, 2 М
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема;
 - 4.2. Центрифуга
5. Постапка
 - 5.1. На приближно 1 грам од мострата во епрувета за центрифугирање додадете, капка по капка, 2М раствор на хлороводородна киселина (3.1), сè додека не се наталожи, потоа промешајте и центрифугирајте.
 - 5.2. Исфрлете ја супернатната течност и еднаш измијте го талогот со пет капки студена вода. Отфрлете го испирокот.
 - 5.3. Додадете количество на вода еднакво на остатокот од талогот во епруветата за центрифугирање. Загревајте до вриење и мешајте.
 - 5.4. Топло центрифугирајте; исфрлете ја супернатната течност.
 - 5.5. На талогот додадете неколку капки раствор од амонијак (3.2); мешајте и центрифугирајте.
 - 5.6. На една капка од супернатната течност на предметно стакло додадете неколку капки 2 М раствор од азотна киселина (3.3)
 - 5.7. Белиот талог укажува на присуство на сребро.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. Цел и опсег
Овој метод е соодветен за определување на содржината на сребро нитрат како сребро во козметички производи наменети за боене на трепките и веѓите.
2. Принцип
Среброто во производ се одредува со атомска апсорпциона спектрометрија.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Раствор на азотна киселина, 0,02 М
 - 3.2. Стандардни раствори на сребро
 - 3.2.1 Основен стандарден раствор на сребро, 1000 µg/ml во 0,5 М раствор на азотна киселина (Спектросол (SpectrosoL) или негов еквивалент)
 - 3.2.2. Стандарден раствор на сребро, 100 µg/ml: со пипета пренесете 10 ml од стандарден матичен раствор на сребро (3.2.1) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете со 0,02 М раствор од азотна киселина (3.1) и промешајте. Овој стандарден раствор треба да биде свежо приготвен и да се чува во стаклено шише со темна боја.
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема;
 - 4.2. Атомски апсорпционен спектрофотометар опремен со сребро шуплива катодна ламба
5. Постапка
 - 5.1. Подготовка на мострата
Точно измерете околу 0,1 g (m грам) од хомогена мостра од производот. Квантитативно пренесете во еднолитарска волуметриска колба и дополнете со 0,02 М раствор на азотна киселина (3.1) и промешајте.
 - 5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрометрија
Пламен: воздух-ацетилен
Бранова должина: 338,3 nm
Позаднинска корекција: да
Услови за горивото: слабо збогатена смеша; за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите на горивото.
 - 5.3. Калибрација
 - 5.3.1. Во серија од 100 ml волуметриски колби со пипета пренесете 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 и 5,0 ml од стандарден раствор на сребро (3.2.2). Дополнете ја секоја колба со 0,02 М раствор азотна киселина (3.1) и промешајте. Овие раствори содржат 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 и 5,0 µg сребро на милилитар, соодветно.

5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на 0,02 М раствор на азотна киселина (3.1) и употребете ја добиената вредност за нула концентрација на сребро за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард на калибрациони раствори на среброто. (5.3.1). Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите на апсорпција наспрема концентрацијата од сребро.

5.4. Одредување

Измерете ја апсорпцијата на растворот-мостра (пробниот раствор) (5.1). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на сребро која одговара на вредноста на апсорпција добиена од растворот на мострата.

6. Пресметки

Пресметајте ја содржината сребро нитрат во мострата во проценти од масата (% m/m) со помош на следнава формула:

$$\% (m/m) \text{ од сребро нитрат} = \frac{1,5748 \times c}{10 \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (5.1); и

c = концентрација на сребро во растворот-мостра (5.1), во микрограми, добиени од кривата на калибрација.

7. Повторливост³⁴

За содржина од 4% (m/m) сребро нитрат, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминува 0,05% (m/m).

II. МЕТОД НА БОЕЊЕ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА АТОМСКА АПСОРПИЦОНА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА СЕЛЕН ДИСУЛФИД ВО ШАМПОНИ ПРОТИВ ПРВУТ

A. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. Опсег и поле на примена

Овој метод ја опишува идентификацијата на селен дисулфид како селен во шампони против првут.

2. Принцип

Селенот се идентификува со карактеристичната жолта до портокалова боја добиена при реакција со уреа и калиум јодид.

3. Реагенси

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

3.1. Азотна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)

3.2. Уреа

³⁴ ISO 5725.

- 3.3. Раствор од калиум јодид, 10 % (m/v): растворете 10 g калиум јодид во 100 ml вода
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема;
 - 4.2. Колба за согорување, со капацитет од 100 ml
 - 4.3. Блок за согорување
 - 4.4. Филтер-хартија (Вотман бр. 42 или еквивалентен) или 0,45 μm филтер-мембрана
5. Постапка
 - 5.1. На приближно 1 g шампон во колба за согорување (4.2) додадете 2,5 ml концентрирана азотна киселина (3.1) и согорување на 150°C во период од 30 минути во блок за согорување (4.3).
 - 5.2. Растворете ја согорената мостра со 25 ml вода и филтрирајте низ филтер-хартија или 0,45 μm филтер-мембрана (4.4).
 - 5.3. На 2,5 ml од филтратот додадете 5 ml вода, 2,5 грами уреа (3.2) и загрејте до вриење. Оладете и додадете 1 ml раствор од калиум јодид (3.3).
 - 5.4. Жолта до портокалова боја која брзо потемнува при стоење укажува на присуство на селен.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. Опсег и поле на примена
Овој метод е соодветен за одредување на селен дисулфид како селен во шампони против првут кои содржат до 4,5% (m/m) селен дисулфид.
2. Принцип
Мострата се согорува со азотна киселина, а селенот се одредува со атомската апсорпциона спектрофотометрија.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Азотна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)
 - 3.2. Раствор на азотна киселина, 5 % (v/v): додадете 50 ml концентрирана азотна киселина (3.1) до 500 ml вода во лабораториска чаша, постојано мешајќи. Пренесете го овој раствор во еднолитарска волуметриска колба и дополнете со вода.
 - 3.3. Основен стандарден раствор на селен, 1 000 $\mu\text{g/ml}$ во 0,5 M раствор на азотна киселина (Спектросол или негов еквивалент)

4. Опрема

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема;
- 4.2. Колба за согорување, со капацитет од 100 ml
- 4.3. Блок за согорување
- 4.4. Филтер-хартија (Вотман бр. 42 или нејзин еквивалент) или 0,45 μ l филтер-мембрана
- 4.5. Атомски апсорпционен спектрофотометар опремен со селенска шуплива катодна ламба

5. Постапка

- 5.1. Подготовка на мострата
 - 5.1.1. Точно измерете околу 0,2 g (m грам) од хомогена мостра од шампонот во колба за согорување. (4.2).
 - 5.1.2. Додадете 5 ml од концентрирана азотна киселина (3.1) и согорувајте на 150°C за период од еден час во блок за согорување (4.3).
 - 5.1.3. Оставете растворот да се олади и растворете со вода до 100 ml. Филтрирајте низ филтер-хартија или 0,45 μ l филтер-мембрана (4.4) и задржете го филтрираниот раствор за одредување.
- 5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрофотометрија
Пламен: воздух-ацетилен
Бранова должина: 196,0 nm
Позаднинска корекција: да
Услови за горивото: слабо обогатена смеша за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите за гориво.
- 5.3. Калибрација
 - 5.3.1. Во серија од волуметриски колби од 100 ml со пипета пренесете 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 и 5,0 ml од стандарден раствор на селен (3.3). Дополнете ја секоја колба со 5 % (v/v) раствор на азотна киселина (3.2) и мешајте. Овие раствори содржат 10, 20, 30, 40 и 50 μ g селен на милилитар, соодветно.
 - 5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на 5 % (v/v) раствор на азотна киселина (3.2) и употребете ја добиената вредност за нула концентрација на селен за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард за калибрација на селенот. (5.3.1). Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите за апсорпција наспрема концентрација од сребро.
- 5.4. Одредување
Измерете ја апсорпцијата на растворот-мостра (5.1.3). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на селен која одговара на вредноста на апсорпција добиена од растворот-мостра (пробниот раствор)..

6. Пресметки

Пресметајте ја содржината на селен дисулфид во мострата во проценти од масата (% m/m) со помош на следнава формула:

$$\% (m/m) \text{ од селен дисулфид} = \frac{1,812 \times c}{100 \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (5.1.1); и

c = концентрација на селен во растворот-мостра (5.1.3), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација.

7. Повторливост³⁵

За содржина од 1% (m/m) селен дисулфид, разликата помеѓу резултатите на двете одредувања паралелно извршени врз иста мостра не треба да надминат 0,05% (m/m).

III. МЕТОД НА АТОМСКА АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА РАСТВОРЛИВ БАРИУМ И СТРОНЦИУМ ВО ПИГМЕНТИ ВО ФОРМА НА СОЛИ ИЛИ ЛАКОВИ

А. Определување на содржината на растворлив бариум

1. Опсег и поле на примена

Овој метод ја опишува постапката за извлекување и определување на содржината на растворлив бариум во пигменти во форма на соли или лакови.

2. Принцип

Пигментот се извлекува со 0,07 М раствор на хлороводородна киселина во дефинирани услови и количеството на бариум во екстрактот одреден со атомска апсорпциона спектрофотометрија.

3. Реагенси

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

3.1. Етанол, апсолутен

3.2. Раствор на хлороводородна киселина, 0,07 М

3.3. Раствор на хлороводородна киселина, 0,5 М

3.4. Раствор на калиум хлорид, 8 % (m/v): растворете 16 грами калиум хлорид во 200 ml од 0,07 М раствор на хлороводородна киселина (3.2)

3.5. Стандардни раствори на бариум

3.5.1. Основен стандарден раствор на бариум, 1 000 µg/ml во 0,5 М раствор на азотна киселина, (Спектросол' или еквивалент)

3.5.2. Стандарден раствор на бариум, 200 µg/ml: со пипета пренесете 20,0 ml од основен стандарден раствор на бариум (3.5.1) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете со 0,07 раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте.

³⁵ ISO 5725.

4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
 - 4.2. рН-метар со точност до $\pm 0,02$ единици
 - 4.3. Лабораториска чаша со рачна мешалка
 - 4.4. Мембрански филтер со големина на порите од $0,5 \mu\text{m}$
 - 4.5. Атомски апсорпционен спектрофотометар опремен со бариумска шуплива катодна ламба
5. Постапка
 - 5.1. Подготовка на мострата
 - 5.1.1. Точно измерете околу $0,5 \text{ g}$ (м грам) од пигментот во конусна колба (ерленмаер). За да се обезбеди доволен волумен за ефикасно мешање не се употребува колба со капацитет помал од 150 ml .
 - 5.1.2. Со пипета додадете $1,0 \text{ ml}$ етанол (3.1) и ротирајте ја колбата за да осигурате темелно навлажнување на пигментот. Од бирета додадете точно количество $0,07 \text{ M}$ раствор на хлороводородна киселина (3.2) потребни за да се добие сооднос на количеството од киселина со масата од пигментот од точно 50 милилитри на грам. Дозволете вкупното количество на средството за екстракција, вклучувајќи го и етанолот да биде $V \text{ ml}$. Мешајте ја содржината на колбата пет секунди за да осигурате темелно промешување на содржината.
 - 5.1.3. Со рН-метар (4.2) измерете ја рН вредноста на добиениот раствор и, доколку истата е поголема од $1,5$, додадете $0,5 \text{ M}$ раствор од хлороводородна киселина во вид на капки (3.3), сè додека не добиете опсег од $1,4$ до $1,5$.
 - 5.1.4. Ставете го затвораот и веднаш промешајте 60 минути употребувајќи лабораториска чаша со мешалка (4.3). Мешалката треба да работи со доволно голема брзина за да се предизвика пена. Филтрирајте низ филтер-мембраната од $0,45 \mu\text{m}$ (4.4) и соберете го филтратот. Не го центрифугирајте екстрактот пред филтрирањето. Пренесете со пипета $5,0 \text{ ml}$ од филтратот во 50 ml волуметриска колба; дополнете со $0,07 \text{ M}$ раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте. Овој раствор се употребува за одредување на стронциум (дел Б).
 - 5.1.5. Со пипета пренесете $5,0 \text{ ml}$ раствор од калиум хлорид (3.4) во 100 ml волуметриска колба и точно определен дел (W_{Ba} ml) од растворен филтрат (5.1.4) за да се добие очекувана концентрација од помеѓу 3 и $10 \mu\text{g}$ бариум на милилитар. (Точно определен дел од 10 ml треба да е задоволителна почетна точка.) Дополнете со $0,07 \text{ M}$ раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте.
 - 5.1.6. Одредете го количеството (ја концентрацијата на) бариум во растворот (5.1.5) со атомска апсорпциона спектрофотометрија истиот ден.
 - 5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрофотометрија

Пламен: азотен оксид/ацетилен

Бранова должина: 553,5 nm

Позаднинска корекција: не

Услови за гориво: слабо обогатена смеша; за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите за гориво.

5.3. Калибрирање

- 5.3.1. Во серија од волуметриски колби од 100 ml со пипета пренесете 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 и 5,0 ml од стандарден раствор на бариум (3.5.2.). Во секоја колба, со пипета, пренесете 5,0 ml раствор од калиум хлорид (3.4); дополнете со 0,07 M раствор од хлороводородна киселина (3.2) и мешајте. Овие раствори содржат 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 10,0 µg бариум на милилитар, соодветно.

На сличен начин, подгответе слепа проба изоставајќи го стандардниот раствор на бариум.

- 5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на празниот раствор (5.3.1) и употребете ја добиената вредност за нула концентрација на бариум за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард за калибрација на бариум. (5.3.1). Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите на апсорпција наспрема концентрација од бариум.

5.4. Одредување

Измерете ја апсорпцијата на слепата проба (5.1.5). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на бариум која одговара на вредноста на апсорпција добиена од растворот на мострата.

6. Пресметки

Содржината на растворлив бариум (% m/m) во пигмент се пресметува со формулава:

$$\% \text{ (m/m) од растворлив бариум} = \frac{c \times V}{10W_{Ba} \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (5.1.1);

c = концентрација на бариум во пробниот раствор (5.1.5), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација;

V = вкупно количество(волумен) од средство за екстракција во милилитри (5.1.2);

W_{Ba} = количество (волумен) на екстрактот во милилитри, според 5.1.5.

7. Повторливост

Најдобрата можна проценка на повторливоста (ISO 5725) за овој метод е 0,3% за содржина на растворлив бариум од 2 % (m/m).

8. Забелешки

- 8.1. Во одредени услови апсорпцијата на бариум може да се зајакне (зголеми) со присуство на калциум. Ова може да се спречи со додавање на магнезиумов јон со концентрација од 5 грами на литар³⁶.(1)
- 8.2. Употребата на индуктивна-двојна плазма – оптичка емисиона спектрофотометрија е дозволена како алтернатива на атомската апсорпциона спектрофотометрија.

Б. Определување на содржината на растворлив стронциум

1. Опсег и поле на примена
Овој метод ја опишува постапката за екстракција и определување на содржината на растворлив стронциум во пигменти во форма на соли или лакови.
2. Принцип
Пигментот се екстрахира со 0,07 М раствор на хлороводородна киселина во дефинирани услови и количеството на стронциум во екстрактот одреден со атомска апсорпциона спектрофотометрија.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Етанол, апсолутен
 - 3.2. Раствор на хлороводородна киселина, 0,07 М
 - 3.3. Раствор на калиум хлорид, 8 % (m/v): растворете 16 грами калиум хлорид во 200 ml од 0,07 М раствор на хлороводородна киселина (3.2).
 - 3.4. Стандардни раствори на стронциум
 - 3.4.1. Основен стандарден раствор на стронциум, 1 000 µg/ml во 0,5 М раствор на азотна киселина, (Спектросол или еквивалентно)
 - 3.4.2. Стандарден раствор на стронциум, 100 µg/ml: со пипета пренесете 10,0 ml од основен стандарден раствор на бариум (3.4.1) во 100 ml. волуметриска колба. Дополнете до ознаката со 0,07 раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте.
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
 - 4.2. Мембрански филтер со големина на порите од 0,45 µm
 - 4.3. Атомски апсорпционен спектрофотометар опремен со стронциумова шуплива катодна ламба

³⁶ 'Магнезиум како модификатор за одредување на бариум со пламена атомска емисиона спектрометрија'. Jerrow M. et al., Analytical Proceeding 1991, 28, 40.

5. Постапка

5.1. Подготовка на мострата

Растворот приготвен според А.5.1.4. се употребува за одредување на содржината на растворлив стронциум.

5.1.1. Во 100 ml. Волуметриска колба, со пипета, пренесете 5,0 ml раствор од калиум хлорид (3.3) и точно определен дел исто толку (V_{Sr} ml) од разредениот филтрат (А.5.1.4) за да дадат очекувана концентрација помеѓу 2 и 5 μg стронциум на милилитар. (Точно определен дел од 25 ml треба да е задоволителна почетна точка.) Дополнете со 0,07 M раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте.

5.1.2. Одредете го количеството на стронциум (ја концентрацијата) во растворот (5.1.1) со атомска апсорпциона спектрофотометрија истиот ден.

5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрофотометрија

Пламен: азотен оксид/ацетилен

Бранова должина: 460,7 nm

Позаднинска корекција: не

Услови за горивото: слабо обогатена смеша; за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите за гориво.

5.3. Калибрирање

5.3.1. Во серија од волуметриски колби од 100 mL со пипета пренесете 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 и 5,0 ml од стандарден раствор на стронциум (3.4.2.). Во секоја колба, со пипета, пренесете 5,0 ml раствор од калиум хлорид (3.3); дополнете со 0,07 M раствор од хлороводородна киселина (3.2) и мешајте. Овие раствори содржат 1,0, 2,0, 4,0 и 5,0 μg стронциум на милилитар, соодветно.

На сличен начин, подгответе слепа проба прескокнувајќи го стандардниот раствор на стронциум.

5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на слепата проба (5.3.1) и употребете ја добиената вредност за концентрација нула на стронциум за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард за калибрација на стронциум. (5.3.1). Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите на апсорпција наспрема концентрација од стронциум.

5.4. Одредување

Измерете ја апсорпцијата на растворот-мостра (пробниот раствор) (5.1.1). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на стронциум која одговара на вредноста на апсорпција добиена од растворот на мострата.

6. Пресметка

Содржината на растворлив стронциум (% m/m) во пигмент се пресметува со формулава:

$$\% (m/m) \text{ од растворлив стронциум} = \frac{c \times V}{10W_{Sr} \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (А.5.1.1);

c = концентрација на стронциум во пробниот раствор (5.1.1), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација;

V = (волумен на средство за екстракција во милилитри (А.5.1.2);

W_{Sr} = волумен на екстрактот во милилитри, земен во 5.1.1.

7. Повторливост
Најдобрата можна проценка на повторливоста (ISO 5725) за овој метод е 0,09% за содржина на растворлив стронциум од 0,6 % (m/m).
8. Забелешка
Употребата на индуктивна-двојна плазма – оптичка емисиона спектрометрија е дозволена како алтернатива на атомска апсорпциона спектрофотометрија.

IV. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА БЕНЗИЛ АЛКОХОЛ ВО КОЗМЕТИЧКИ ПРОИЗВОДИ

А. Идентификација

1. Опсег и поле на примена
Овој метод ја опишува постапката за идентификација на бензил алкохол во козметички производи.
2. Принцип
Бензил алкохол се идентификува со тенкослојна хроматографија на плоча од силика гел.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Бензил алкохол
 - 3.2. Хлороформ
 - 3.3. Етанол, апсолутен
 - 3.4. n-пентан
 - 3.5. Растворувач за развивање: диетил етер
 - 3.6. Стандарден раствор од бензил алкохол: измерете 0,1 g. бензил алкохол (3.1) во 100 ml волуметриска колба, дополенете со етанол (3.3) и промешајте.
 - 3.7. Плочи за тенкослојна хроматографија, стаклени, 100 x 200 mm или 200 x 200 mm, со 0,25 mm слој од силика гел 60 F₂₅₄.
 - 3.8. Агенс за визуелизација: 12-молибдофосфорна киселина, 10 % (m/v) во етанол (3.3).
4. Опрема

- 4.1. Вообичаена опрема за тенкослојна хроматографија
- 4.2. Резервоар за хроматографија, дупла комора, вкупни димензии од приближно 80 mm x 230 mm x 240 mm
- 4.3. Хроматографска хартија: Вотман, или нејзин еквивалент
- 4.4. Ултравиолетова ламба, бранова должина 254 nm.
5. Постапка
 - 5.1. Подготовка на мострата
Измерете 1,0 грами од производот за да се анализира во 10 ml волуметриска колба. Додадете 3 ml хлороформ (3.2) и добро промешајте сè додека производот не се диспергира. Дополнете го волуменот со етанол (3.3) и добро промешајте за да се добие бистар, или скоро бистар раствор.
 - 5.2. Тенкослојна хроматографија
 - 5.2.1. Заситете го резервоарот за хроматографија (4.2) со n-пентан (3.4) како што следува: хартијата за хроматографија (4.3) поставете ја до ѕидот на комората близо до крајниот дел, со што се осигурува дека понискиот дел од хартијата е до крајот. Пренесете 25 ml од n-пентанот (3.4) во задниот дел со полевање на растворувачот над изложената површина на поставената хартија за хроматографија. Веднаш заменете го капакот и оставете го резервоарот да отстои 15 минути.
 - 5.2.2. Поставете 10 μ l од растворот-мостра (5.1) и 10 μ l стандарден раствор од бензил алкохол (3.6) на соодветни точки на почетната линија од плочката за тенкослојна хроматографија (3.7). Оставете да се исуши.
 - 5.2.3. Со пипета внесете 10 ml диетил етер (3.5) на почетокот (фронтот) од резервоарот и веднаш потоа поставете ја плочката (5.2.2) низ истиот дел. Веднаш заменете го капакот и развивајте ја плочката на оддалеченост од 150 mm. Отстранете ја плочката од резервоарот за хроматографија и оставете да се исуши на собна температура.
 - 5.2.4. Набљудувајте ја плочката (5.2.3) под ултравиолетово светло и обележете ја позицијата на виолетовите точки. Испрскајте ја плочката со агенс за визуелизирање (3.8) и потоа загревајте ја плочката на 120°C за период од 15 минути. Бензил алкохолот се појавува како темно сини точки.
 - 5.2.5. Пресметајте ја R_f вредноста добиена од стандарден раствор од бензил алкохол. Темно сина точка со иста R_f вредност добиена од пробниот раствор укажува на присуство на бензил алкохол.
Граница на откривање: 0,1 μ g бензил алкохол

Б. Определување на содржината

1. Опсег и поле на примена
Овој метод го опишува определување на содржината на бензил алкохол во козметичките производи.
2. Дефиниција
Количеството на бензил алкохол одреден со овој метод се изразува како процент од масата (%m/m).

3. **Принцип**
Мострата се екстрахира со метанол и количеството на бензил алкохол во екстрактот се одредува со тенкослојна хроматографија под висок притисок (HPLC).
4. **Реагенси**
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота и да се соодветни за HPLC, кога тоа е соодветно.
 - 4.1. **Метанол**
 - 4.2. **4-етоксифенол**
 - 4.3. **бензил алкохол**
 - 4.4. **мобилна фаза: метанол (4.1)/вода (45:55; v/v)**
 - 4.5. **Основен раствор на бензил алкохол: точно измерете околу 0,1 грам бензил алкохол (4.3) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете го волуменот со метанол (4.1) и промешајте.**
 - 4.6. **Основен стандарден раствор: точно измерете околу 0,1 грам 4-етоксифенол (4.2) во 100 ml волуметриска колба. Дополнете со метанол (4.1) и промешајте.**
 - 4.7. **Стандардни раствори: во серија од 25 ml волуметриски колби, со пипета пренесете количества од основен раствор на бензил алкохол (4.5) и основен внатрешен стандарден раствор од внатрешен еталон (4.6) според табелата поставена подолу. Дополнете го волуменот со метанол (4.1) и промешајте.**

Стандарден раствор	Концентрација на бензил алкохол		Концентрација на 4-етоксифенол	
	ml (4.5) додадено	µg/ml (*)	ml (4.6) додадено	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

(*) Овие вредности се дадени како назнака и кои одговараат на концентрациите на стандардните раствори подготвени употребувајќи ги растворите на бензил алкохол (4.5) и 4-етоксифенол (4.6) кои содржат точно 0,1 % (m/v) бензил алкохол и точно 0,1 % (m/v) 4-етоксифенол, соодветно.

5. **Опрема**
 - 5.1. **Вообичаена лабораториска опрема**
 - 5.2. **Опрема за HPLC (течна хроматографија под висок притисок) со детектор со променлива бранова должина и 10 µl шприц за вбригување**

- 5.3. Аналитичка колона: 250 mm x 4,6 mm колона од нерѓосувачки челик пакувана со 5 μ m сферисорб ОДС (Spherisorb ODS) или еквивалентно.
- 5.4. Водена бања
- 5.5. Ултразвучна бања
- 5.6. Центрифуга
- 5.7. Епрувети за центрифуга, со капацитет од 15 ml
6. Постапка
 - 6.1. Подготовка на мострата
 - 6.1.1. Точно измерете околу 0,1 грам (m грам) од мострата во епрувета за центрифугирање (5,7) и додадете 5 ml метанол (4.1).
 - 6.1.2. Загревајте 10 минути во водена бања (5.4) која се одржува на 50°C и тогаш поставете ја епруветата во ултразвучна бања (5.5) сè додека мострата темелно не се диспергира.
 - 6.1.3. Изладете и центрифугирајте на 3 500 вртежи во минута во период од пет минути.
 - 6.1.4. Пренесете ја супернантната течност во 25 милилитарска колба.
 - 6.1.5. Извршете повторна екстракција на мострата со дополнителни 5 ml метанол (4.1). Комбинирајте ги екстрактите во 25 милилитарска колба.
 - 6.1.6. Во 25 ml колба, со пипета, пренесете 2,0 ml основен внатрешен стандарден раствор (4.6). Дополнете го волуменот со метанол (4.1) и промешајте. Овој раствор се употребува за одредување во фазите за анализа опишани во 6.4.
 - 6.2. Хроматографија
 - 6.2.1. Поставете ја опремата за HPLC (5.2) на вообичаениот начин. Прилагодете ја брзината на проток на мобилната фаза (4.4) до 2,0 милилитри во минута.
 - 6.2.2. Поставете ја брановата должина на УВ детекторот (5.2) на 210 nm.
 - 6.3. Калибрирање
 - 6.3.1. Инјектирајте 10 μ l од секој од стандардните раствори на бензил алкохол (4.7) и измерете ги површините на пиковите на бензил алкохол и 4-етоксифенол.
 - 6.3.2. За секој од стандардните раствори на бензил алкохол (4.7) пресметајте го соодносот на површините на пиковите на бензил алкохол и 4-етоксифенол. Нацртајте ја кривата на калибрација употребувајќи го овој сооднос како ордината наспрема соодветната концентрација на бензил алкохол во μ g на милилитар како апсциса.
 - 6.4. Одредување
 - 6.4.1. Инјектирајте 10 μ l од растворот-мостра (6.1.6) и измерете ги површините на пиковите на бензил алкохол и 4-етоксифенол. Пресметајте го соодносот на површините на пиковите на бензил алкохол и 4-етоксифенол. Повторете го овој процес со дополнителни 10 μ l точно определени делови од растворот-мостра сè додека не се добијат конзистентни резултати.

6.4.2. Од кривата на калибрација (6.3.2) прочитајте ги концентрациите на бензил алкохол кои соодветствуваат на соодносот на површините на пикот на бензил алкохолот со 4-етоксифенол.

7. Пресметки

Пресметајте ја содржината на бензил алкохол во пробниот раствор, како процент од масата, употребувајќи ја следнава формула:

$$\% (m/m) \text{ од бензил алкохол} = \frac{c}{400 \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (6.1.1);

c = концентрација на бензил алкохол во пробниот раствор (6.1.6), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација;

8. Повторливост³⁷

За содржина бензил алкохол од 1% (m/m) разликата помеѓу резултатите од две одредувања паралелно извршени на иста мостра не треба да надмине 0,10%.

V. МЕТОД НА ТАЛОЖЕЊЕ ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА НА ЦИРКОНИУМ, МЕТОД НА ПЛАМЕНА АТОМСКА АПСОРПЦИОНА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ЦИРКОНИУМ И АЛУМИНИУМ И МЕТОД НА НА ПОТЕНЦИОМЕТРИСКА ТИТРАЦИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХЛОР ВО НЕАЕРОСОЛНИ АНТИПЕРСПИРАНТИ

Методот се состои од пет фази:

А. Идентификација на циркониум

Б. Одредување на циркониум

В. Одредување на алуминиум

Г. Одредување на хлор

Д. Пресметување на соодносите на атомите на алуминиум со атомите на циркониум и соодносот на алуминиум плус атомите на циркониум со хлорните атоми

А. Идентификација на циркониум

1. Опсег и поле на примена

Овој метод ја опишува постапката за идентификување на циркониум во неаеросолните антиперспирантни козметички производи. Не е направен обид да се опишат методите погодни за идентификување на алуминиум циркониум хлорид хидрокси комплексот $[Al_xZr(OH)_yCl_z \cdot nH_2O]$.

2. Принцип

Циркониумот се идентификува со карактеристичен црвено-виолетов талог произведен со ализаринско црвено S во силно кисели услови.

3. Реагенси

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.

³⁷ ISO 5725.

- 3.1. Хлороводородна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)
- 3.2. Ализаринско црвено S (Cl. 58005) раствор: 2% (m/v) воден раствор од ализарин сулфонат.
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
5. Постапка
 - 5.1. Во епрувета се става приближно 1 g мостра и се додаваат 2 ml вода. Затворете со затварач и протресете.
 - 5.2. Додадете три капки раствор од ализаринско црвено S (3.2) по што ќе додадете 2 ml концентрирана хлороводородна киселина (3.1). Затворете со затварач и протресете.
 - 5.3. Оставете да отстои приближно две минути.
 - 5.4. Присуството на црвено-виолетов супернатантен раствор и талог укажува на присуство на циркониум.

Б. Определување на содржината на циркониум

1. Опсег и поле на примена
Овој метод е соодветен за одредување на циркониум во алуминиум циркониум хлорид хидрокси комплексот со максимални концентрации од 7,5% (m/m) циркониум во неаеросолните антиперпиранти.
2. Принцип
Циркониумот се извлекува од производот во кисела средина и се одредува со пламена атомска апсорпциона спектрометрија.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Хлороводородна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)
 - 3.2. Раствор од хлороводородна киселина, 10% (v/v): додадете 100 ml концентрирана хлороводородна киселина (3.1) на 500 ml вода во колба (чаша) постојано мешајќи. Пренесете го овој раствор во волуметриска колба од еден литар и дополнете со вода.
 - 3.3. Стандарден раствор од матичен циркониум, 1 000 $\mu\text{g/ml}$ во 0,5 M раствор од хлороводородна киселина ('Спектросол' или еквивалентно).
 - 3.4. Алуминиум хлорид (хидрат) $[\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}]$ реагенс: растворете 22,6 g алуминиум хлорид хексахидрат во 250 ml 10% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2).
 - 3.5. Амониум хлорид реагенс: растворете 5,0 g амониум хлорид во 250 ml 10% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2).

4. Опрема

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
- 4.2. Магнетска мешалка со греач
- 4.3. Филтер-хартија (Вотман бр. 41 или еквивалентно)
- 4.4. Атомски апсорпционен спектрофотометар опремен со циркониумова ламба со шуплива катода

5. Постапка

5.1. Подготвување на мострата

- 5.1.1. Точно измерете околу 1,0 g (м грам) хомогена мостра од производот во 150 милилитарска чаша. Додадете 40 милилитри вода и 10 милилитри концентрирана хлороводородна киселина (3.1).
- 5.1.2. Поставете ја чашата на магнетска мешалка со греач (4.2). Започнете со мешање и загревајте до вриење. За да го спречите брзото сушење поставете саатно стакло врз чашата. Вријте пет минути, отстранете ја чашата и оставете ја да се олади на собна температура.
- 5.1.3. Употребувајќи филтер-хартија (4.3), филтрирајте ја содржината од чашата во 100-ml волуметриска колба. Исплакнете ја чашата со два 10-ml делови вода и додадете го измиениот филтрат во колбата. Дополнете со вода до волуменот и мешајте. Овој раствор исто така се употребува за одредување и на алуминиум (дел В).
- 5.1.4. Во 50-ml волуметриска колба, со пипета пренесете 20,00 ml од растворот-мостра (5.1.3), 5,00 ml реагенс од алуминиум хлорид (3.4) и 5,00 ml реагенс од амониум хлорид (3.5). Дополнете со 10% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2) и мешајте.

5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрометрија

Пламен: азотен оксид/ацетиленски

Бранова должина: 360,1 nm

Позаднинска корекција: не

Услови за горивото: обогатена смеша; за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите за гориво.

5.3. Калибрирање

- 5.3.1. Во серија од 50 mL волуметриски колби со пипета пренесете 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 и 25,00 ml од стандарден раствор на матичен циркониум (3.3). Во секоја волуметриска колба, со пипета, пренесете 5,0 ml раствор од реагенс од алуминиум хлорид (3.4) и 5 mL амониум хлорид (3.5); Дополнете со 10% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте. Овие раствори содржат 100, 200, 300, 400 и 500 µg циркониум на милилитар, соодветно.
На сличен начин, подгответе слепа проба без стандарден раствор на циркониум.
- 5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на слепата проба (5.3.1) и употребете ја добиената вредност за нула концентрација на циркониум за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард за калибрација на циркониум (5.3.1). Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите на апсорпција наспрема концентрација од циркониум.

- 5.4. Одредување
Измерете ја апсорпцијата на пробниот раствор(растворот-мостра) (5.1.4). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на циркониум соодветна на апсорпционата вредност добиена од пробниот раствор (растворот-мостра).
6. Пресметки
Пресметајте ја содржината на циркониум во мострата, како процент од масата, употребувајќи ја следнава формула:
- $$\% (m/m) \text{ од циркониум} = \frac{c}{40 \times m}$$
- каде:
m = масата во грами од мострата земена за анализа (5.1.1);
c = концентрација на циркониум во растворот-мостра (5.1.4), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација.
7. Повторливост³⁸
За содржина на циркониум од 3,00% (m/m) разликата помеѓу резултатите од две одредувања паралелно извршени на иста мостра не треба да надминува 0,10% (m/m).
8. Забелешка
Употребата на индуктивно-двојна плазма – оптичка емисиона спектрометрија е дозволена како алтернативна на пламена атомска апсорпциона спектрофотометрија.

С. Определување на содржината на алуминиум

1. Опсег и поле на примена
Овој метод е соодветен за определување на содржината на алуминиум присутен во алуминиум циркониум хлорид хидрокси комплекси со максимални концентрации од 12% (m/m) алуминиум во неаерослните антиперпиранти.
2. Принцип
Алуминиумот се извлекува од производот во кисела средина и се одредува со пламена атомска апсорпциона спектрометрија.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
- 3.1. Хлороводородна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,18 \text{ g/ml}$)
- 3.2. Раствор од хлороводородна киселина, 1% (v/v): додадете 10 ml концентрирана хлороводородна киселина (3.1) во 500 ml вода во чаша постојано мешајќи. Пренесете го овој раствор во волуметриска колба од еден литар и дополнете со вода.
- 3.3. Основен стандарден раствор на алуминиум, 1 000 $\mu\text{g/ml}$ во 0,5 M раствор од азотна киселина ('Спектросол' или еквивалентно).

³⁸ ISO 5725.

- 3.4. Калиум хлорид реагенс: растворете 10,0 g калиум хлорид во 250 ml 1% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2).

4. Опрема

- 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
4.2. Атомски апсорпционен спектрометар опремен со алуминиумова ламба со шуплива катода

5. Постапка

- 5.1. Приготвување на мострата
Овој раствор приготвен согласно Б.5.1.3 се употребува за одредување на количеството алуминиум.

- 5.1.1. Во 100 ml волуметриска колба со пипета пренесете 5,00 ml раствор-мостра (Б.5.1.3) и 10,00 ml реагенс од калиум хлорид (3.4). Дополнете за волумен со 1% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2) и мешајте.

- 5.2. Услови за атомска апсорпциона спектрометрија
Пламен: азотен оксид/ацетилен
Бранова должина: 309,3 nm
Позаднинска корекција: не
Услови за горивото: обогатена смеша; за максимална апсорпција, потребна е оптимизација на висината на горилникот и условите за гориво.

5.3. Калибрирање

- 5.3.1. Во серија од 100 mL волуметриски колби со пипета пренесете 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 и 5,00 ml од основен стандарден раствор на алуминиум (3.3). Во секоја волуметриска колба, со пипета пренесете 10,00 ml раствор од реагенс од калиум хлорид (3.4) и дополнете до волумен со 1% (v/v) раствор од хлороводородна киселина (3.2) и промешајте. Овие раствори содржат 10, 20, 30, 40 и 50 µg алуминиум на милилитар.

На сличен начин, подгответе слепа проба без стандарден раствор на алуминиум.

- 5.3.2. Измерете ја апсорпцијата на слепата проба (5.3.1) и употребете ја добиената вредност за нула концентрација на алуминиум за кривата на калибрација. Измерете ја апсорпцијата на секој стандард за калибрација на алуминиум. Нацртајте ја кривата на калибрација за вредностите на апсорпција наспрема концентрација од алуминиум.

5.4. Одредување

Измерете ја апсорпцијата на растворот-мостра(пробниот раствор) (5.1.1). Од кривата на калибрација прочитајте ја концентрацијата на алуминиум соодветна на апсорпционата вредност добиена од растворот-мостра (пробниот раствор).

6. Пресметки

Пресметајте ја содржината на алуминиум во мострата, како масен процент, употребувајќи ја следнава формула:

$$\% \text{ (m/m) од алуминиум} = \frac{c}{5 \times m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (Б.5.1.1);

c = концентрација на алуминиум во растворот-мостра (5.1.1), во микрограми на милилитар, добиени од кривата на калибрација.

7. Повторливост³⁹
За содржина на алуминиум од 3,5% (m/m) разликата помеѓу резултатите од две одредувања паралелно извршени на иста мостра не треба да надминува 0,10% (m/m).
9. Забелешка
Употребата на индуктивно-двојна плазма – оптичка емисиона спектрометрија е дозволена како алтернативна на пламената атомска апсорпциона спектрофотометрија.

Д. Определување на содржината на хлор

1. Опсег и поле на примена
Овој метод е соодветен за определување на содржината на хлор присутен хлорид јон во алуминиум циркониум хлорид хидрокси комплексот во неаеросолните антиперспиранти.
2. Принцип
Хлоридниот јон во производ се одредува со потенциометриска титрација со стандарден сребро нитратен раствор.
3. Реагенси
Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота.
 - 3.1. Азотна киселина, концентрирана ($d_{20} = 1,42 \text{ g/ml}$)
 - 3.2. Раствор од азотна киселина, 5% (v/v): додадете 25 ml концентрирана азотна киселина (3.1) во 250 ml вода во чаша постојано мешајќи. Пренесете го овој раствор во волуметриска колба од 500 mL и дополнете со вода.
 - 3.3. Ацетон
 - 3.4. Сребро нитрат, 0,1 M волуметриски раствор ('АналаР' или негов еквивалент).
4. Опрема
 - 4.1. Вообичаена лабораториска опрема
 - 4.2. Магнетска мешалка со греач
 - 4.3. Сребрена електрода
 - 4.4. Каломел референтна електрода
 - 4.5. рН/миливолт метар соодветен за потенциометриска титрација
5. Постапка

³⁹ ISO 5725.

- 5.1. Приготвување на пробен раствор
- 5.1.1. Точно измерете околу 1,0 g (m грам) хомогена мостра од производот во 250 милилитарска чаша. Додадете 80 милилитри вода и 20 милилитри 5% (v/v) раствор од азотна киселина (3.2).
- 5.1.2. Поставете ја чашата на магнетска мешалка со греач (4.2). Започнете со мешање и загревајте до вриење. За да го спречите брзото сушење поставете саатно стакло врз чашата. Вријте пет минути, отстранете ја чашата и оставете ја да се олади на собна температура.
- 5.1.3. Додадете 10 ml ацетон (3.3), вронете ја електродата (4.3 и 4.4) под површината на растворот и започнете со мешање. Потенциометриски титрирајте со 0,1 M раствор од сребро нитрат и впишете ја диференцијалната крива за одредување на крајната точка (V ml).

6. Пресметки
Пресметајте ја содржината на хлор во мострата, како масен процент, употребувајќи ја следнава формула:

$$\% (m/m) \text{ од хлор} = \frac{0,3545 \times V}{m}$$

каде:

m = масата во грами од мострата земена за анализа (5.1.1);

v = волумен 0,1 M сребро нитрат, во милилитри, титрирано на крајната точка (5.1.3).

7. Повторливост⁴⁰
За содржина хлор од 4% (m/m) разликата помеѓу резултатите од две одредувања паралелно извршени на иста мостра не треба да надмине 0,10% (m/m).

Е. Пресметување на соодносот на алуминиумови атоми со циркониумови атоми и алуминиум плус циркониум атоми со хлорни атоми

1. Пресметување на соодносот на алуминиумови атоми со циркониумови атоми

Пресметајте го соодносот на Al : Zr употребувајќи ја формулата:

$$\text{Однос Al: Zr} = \frac{\text{Al}\%(m/m) \times 91,22}{\text{Zr}\%(m/m) \times 26,98}$$

2. Пресметување на соодносот на алуминиум плус циркониум атоми со хлорни атоми

Пресметајте го соодносот на (Al + Zr) : Cl употребувајќи ја формулата:

⁴⁰ ISO 5725.

$$\text{Сооднос (Al + Zr) : Cl} = \frac{\frac{\text{Al}\%(m/m)}{26,98} + \frac{\text{Zr}\%(m/m)}{91,22}}{\frac{\text{Cl}\%(m/m)}{35,45}}$$

VI. МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВИСОК ПРИТИСОК ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХЕКСАМИДИН, ДИБРОМОХЕКСАМИДИН, ДИБРОМОПРОПАМИДИН И ХЛОРХЕКСИДИН

1. Опсег и поле на примена
Овој метод го опишува квалитативното и квантитативното определување на содржината на:
 - хексамидин и неговите соли, вклучително изетионат и 4-хидроксибензоат,
 - дибромохексамидин и неговите соли, вклучувајќи и изетионат,
 - дибромопропамидин и неговите соли, вклучувајќи и изетионат,
 - хлорхексидин диацетат, диглуконат и дихидрохлорид во козметички производи.
2. Дефиниција
Концентрациите на хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин и хлорхексидин одредени со овој метод се изразуваат како масен процент (%m/m).
3. Принцип
Идентификацијата и определувањето на содржината се врши со јонски-пар, реверзибилна фаза за течна хроматографија под висок притисок (HPLC) по која следува ултравиолетова спектрофотометриска детекција. Хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропрамидин и хлорхексидин се идентификуваат преку нивните времиња на задржување во хроматографската колона.
4. Реагенси
Сите реагенси треба да имаат аналитичка чистота и да се погодни за HPLC, кога тоа е соодветно.
 - 4.1. Метанол
 - 4.2. 1-хептансулфонска киселина, натриумова сол, монохидрат
 - 4.3. Оцетна киселина, глацијална ($d_{20} = 1,05 \text{ g/ml}$)
 - 4.4. Натриум хлорид
 - 4.5. Мобилни фази
 - 4.5.1. Растворувач I : 0,005M раствор од 1-хептансулфонска киселина, натриумова сол, монохидрат (4.2) во метанол (4.1) и нагодете ја pH вредноста од 3,5 со глацијална оцетна киселина (4.3).
 - 4.5.2. Растворувач II : 0,005M раствор од 1-хептансулфонска киселина, натриумова сол, монохидрат (4.2) во вода и нагодете ја pH вредноста од 3,5 со глацијална оцетна киселина (4.3).

Забележете: Доколку е потребно да се подобри обликот на пикот, мобилните фази може да се модификуваат и да се приготват како што следува:

- растворувач I: растворете 5,84 g. натриум хлорид (4.4) и 1,1013 g од 1-хептансулфонска киселина, натриумова сол, монохидрат (4.2) во 100 ml вода. Додадете 900 ml метанол (4.1) и нагодете ја рН вредноста од 3,5 со глацијална оцетна киселина (4.3).
- растворувач II: растворете 5,84 g. натриум хлорид (4.4) и 1,1013 g од 1-хептансулфонска киселина, натриумова сол, монохидрат (4.2) во еден литар вода и нагодете ја рН вредноста од 3,5 со глацијална оцетна киселина (4.3).
- 4.6. Хексамидин диизетионат [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
- 4.7. Дибромохексамидин диизетионат [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
- 4.8. Дибромпропамидин диизетионат [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]
- 4.9. Хлорхексидин диацетат [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]
- 4.10. Референтни раствори: пригответе 0,05% (m/v) раствори од секој од четирите конзерванси (4.6 до 4.9) во растворувачот I (4.5.1).
- 4.11. 3,4,4'-трихлорокарбанилид (триклокарбан)
- 4.12. 4,4'-дихлоро-3-(трифлуорометил) карбанилид (халокарбан)

5. Опрема

- 5.1. Вообичаена лабораториска опрема
- 5.2. Високопритисочен течен хроматограф со променлива бранова должина и УВ детектор
- 5.3. Аналитичка колона: нерѓосувачки челик, должина 30 cm, внатрешен дијаметар 4 mm, пакувано со μ -бондпак C_{18} , 10 μm или еквивалентно
- 5.4. Ултразвучна бања

6. Идентификација

6.1. Приготвување на мострата

Точно измерете околу 0,5 g од мострата во 10 ml волуметриска колба и дополнете до волумен со растворувач I (4.5.1). Поставете ја колбата во ултразвучна бања (5.4) за период од 10 минути. Филтрирајте или центрифугирајте го растворот. Соберете го филтратот или супернатантот за хроматографија.

6.2. Хроматографија

6.2.1. Градиент на мобилната фаза

Време (мин)	Растворувач I (%v/v) (4.5.1)	Растворувач II (%v/v) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Прилагодете го протокот на мобилната фаза (6.2.1) на 1,5 ml/мин и температурата на колоната на 35°C.

6.2.3. Поставете го детекторот на бранова должина од 264 nm.

- 6.2.4. Инјектирајте 10 µl од секој од референтните раствори (4.10) и впишете ги нивните хроматограми.
- 6.2.5. Инјектирајте 10 µl од секој од пробниот раствор (растворот-мостра) (6.1) и впишете го неговиот хроматограм.
- 6.3. Идентификувајте го присуството на хексамидинот, дибромохексамидинот, дибромопропамидинот или хлорхексидинот со споредување на времињата на задржување на врвните вредности опишани во 6.2.5. со оние добиени од референтните раствори во 6.2.4.
7. Определување на содржината
- 7.1. Определување на содржината
Приготвување на еталонски раствори
Употребете еден од конзервансите (4.6 до 4.9) кој не е присутен во мострата како внатрешен стандард. Доколку ова не е возможно, може да се употреби триклокарбан (4.11) или халокарбан (4.12).
- 7.1.1. А 0,05 % (m/v) основен раствор во растворувачот I (4.5.1) на конзервансот идентификувано во 6.3.
- 7.1.2. А 0,05 % (m/v) основен раствор во растворувачот I (4.5.1) на конзервансот избран како внатрешен стандарден раствор.
- 7.1.3. За секој идентификуван конзерванс, подгответе четири стандардни раствори со пренесување во серија од 10 ml волуметриски колби на количество од основниот раствор од идентификуваниот конзерванс (7.1.1) и соодветни количества од основен раствор од внатрешен стандард (7.1.2) во согласност со табелата дадена подолу. Дополнете ја секоја колба со растворувач I (4.5.1) и промешајте.

Стандарден раствор	основен раствор од внатрешен стандард	Идентификуван основен раствор од конзервансот	
	додадено ml (7.1.2)	додадено ml (7.1.1)	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

(*) Овие вредности се дадени како показател и одговараат на концентрациите на идентификуваниот конзерванс во основниот раствор приготвен употребувајќи основен раствор што содржи точно 0,05% од идентификуваниот конзерванс.

- 7.2. Приготвување на растворот
- 7.2.1. Точно измерете околу 0,5 g (p грам) мостра во 10 милилитарска колба, додадете 1,0 милилитри внатрешен стандарден раствор (7.1.2) и 6 ml од растворувач I (4.5.1) и промешајте.
- 7.2.2. Поставете ја колбата во ултразвучна бања (5.4.) за период од 10 минути. Оставете ја да се олади. Дополнете со растворувач I и промешајте. Центрифугирајте или филтрирајте преку набрана филтер хартија. Соберете го супернатантот или филтратот, во зависност од случајот, за хроматографија.
- 7.3. Хроматографија

- 7.3.1. Прилагодете го градиентот на мобилната фаза, протокот, температурата на колоната и детекторот за бранова должина на опремата за HPLC (5.2) кон условите како што е побарано во фазата на идентификација (6.2.1 до 6.2.3).
- 7.3.2. Инјектирајте 10 µl на растворот-мостра (7.2.2) и измерете ги површината на пиковите. Повторете го процесот со дополнителни 10 µl точно определени делови од мострата сè додека не се добијат конзистентни резултати. Пресметајте го соодносот на површината на пиковите добиени од соединението кое се анализира со површината на пиковите произведени од внатрешниот стандард.
- 7.4. Калибрирање
- 7.4.1. Инјектирајте 10 µl од секој од стандардните раствори (7.1.3) и измерете ги површините на пиковите .
- 7.4.2. За секој стандарден раствор (7.1.3), пресметајте го соодносот на површините на пиковите на хексамидин, дибромохексан, дибромопропамидин или хлорхексодин со површината на пикот на внатрешниот стандард. Нацртајте ја кривата на калибрација употребувајќи ги овие соодноси како ордината наспрема соодветните концентрации на идентификуваниот конзерванс во стандардните раствори, во микрограми на милилитар, како апциса.
- 7.4.3. Од кривата на калибрација (7.4.2), прочитајте ги концентрациите на идентификуваниот конзерванс што одговараат на соодносот на површините на пиковите пресметани во 7.3.2.

8. Пресметки

- 8.1. Пресметајте ги содржините на хексамидинот, дибромохексамидинот, дибромопропамидинот или хлорхексидин во мострата, како масен процент, употребувајќи ја следнава формула:

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

каде:

p = масата во грами од мострата земена за анализа (7.2.1);

c = концентрацијата на конзервансот во пробниот раствор (растворот-мостра),

во микрограми на милилитар, добиена од кривата на калибрација;

MW₁= молекуларна маса на основната форма на присутниот конзерванс; и

MW₂= молекуларна маса на соодветната сол (види точка 10).

9. Повторливост⁴¹

За хексамидин, дибромохексамидин, дибромопропамидин или хлорхексидин, во концентрации од 0,1% (m/m) разликата помеѓу резултатите од две одредувања паралелно извршени на иста мостра не треба да надминува 0,005%.

10. Табела на тежински формули

Хексамидин	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂	354,45
Хексамидин диизотионат	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂ · 2C ₂ H ₆ O ₄ S	606,72
Хексамидин ди-р-хидроксибензоат	C ₂₀ H ₂₆ N ₄ O ₂ · 2C ₂ H ₆ O ₃	630,71

⁴¹ ISO 5725.

Дибромохексамидин	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Дибромохексамидин диизетионат	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Дибромопропамидин	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Дибромопропамидин диизетионат	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Хлорхексидин	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Хлорхексидин диацетат	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Хлорхексидин диглуконат	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Хлорхексидин дихидрохлорид	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

Прилог бр. 6

I. МЕТОД НА ТЕНКОСЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И
ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА БЕНЗОЕВА КИСЕЛИНА, 4-
ХИДРОБЕНЗОЕВА КИСЕЛИНА, СОРБИНСКА КИСЕЛИНА, САЛИЦИЛНА
КИСЕЛИНА И ПРОПИОНСКА КИСЕЛИНА ВО КОЗМЕТИЧКИ ПРОИЗВОДИ

1. Опсег и поле на примена

Методот се применува за идентификација и одредувањето на бензоева киселина, 4-хидробензоева киселина, сорбинска киселина, салицилна киселина и пропионска киселина во козметички производи. Различни постапки ја опишуваат идентификацијата на овие конзерванси; одредувањето на пропионска киселина; и одредувањето на 4-хидробензоева киселина, салицилна киселина, сорбинска киселина и бензоева киселина.

2. Дефиниција

Количините на бензоева киселина, 4-хидробензоева киселина, салицилна киселина, сорбинска киселина и пропионска киселина одредени со овој метод се изразуваат како масен процент на слободните киселини.

A. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. Принцип

По кисело/базната екстракција на конзервансот, екстрактот се анализира со тенкослојна хроматографија (TLC) употребувајќи дериватизација во исто време. Во зависност од резултатите, идентификацијата се потврдува со течна хроматографија под висок притисок (HPLC) или, во случај на пропионска киселина, со гасна хроматографија (GC).

2. Реагенси

2.1. Општо

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота. Треба да се употребува дестилирана вода или вода со најмалку еквивалентна чистота.

2.2. Ацетон

2.3. Диетил етер

2.4. Ацетонитрил

2.5. Толуен

2.6. n-хексан

2.7. Парафин, течен

- 2.8. Хлороводородна киселина, 4М
- 2.9. Калиум хидроксид, воден раствор, 4М
- 2.10. Калциум хлорид, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 2.11. Литиум карбонат, Li_2CO_3
- 2.12. 2-бромо-2'-ацетонафтон
- 2.13. 4-хидроксибензоева киселина
- 2.14. Салицилна киселина
- 2.15. Бензоева киселина
- 2.16. Сорбинска киселина
- 2.17. Пропионска киселина
- 2.18. Референтни раствори
Подгответе раствори од 0,1% m/v (100 mg/100 ml) од секој од петте конзерванси (2.13 до 2.17) во диетил етер
- 2.19. Реагенси за дериватизација
Раствор од 0,5 % m/v од 2-бромо-2'-ацетонафтон (2.12) во ацетонитрил (2.4) (50 mg/10 ml). Овој раствор треба да се подготвува неделно и да се чува во фрижидер.
- 2.20. Каталитички раствор
Раствор од 0,3% m/v од литиум карбонат (2.11) во вода (300 mg/100 ml). Овој раствор треба да се подготвува свеж.
- 2.21. Растворувач за развивање
Толуен (2.5)/ацетон (2.2) (20:0,5, v/v)
- 2.22. Течен парафин 2.7)/n-хексан (2.6) (1:2, v/v)
3. Опрема
Вообичаена лабораториска опрема
- 3.1. Водена бања, во која може да се одржува температура од 60°C
- 3.2. Резервоар (комора) за развивање
- 3.3. Извор на ултравиолетова светлина, 254 и 366 nm
- 3.4. Тенкослојни плочки, Кислегел (Kieslegel) 60, без флуоросцентен индикатор, 20 × 20 cm, со дебелина на слојот од 0,25 mm и зона на концентрација од 2,5 × 20 cm (Мерк (Merck) 11845, или еквивалентно)
- 3.5. Микрошприц, 10 µl

3.6. Микрошприц, 25 μ l

3.7. Печка (Сушара, сушница), во која може да се одржува температура до 105°C

3.8. 50-ml стаклена епрувета со затворац со навртка

3.9. Филтер-хартија, дијаметар 90 mm, (Schleicher & Schull), (Weisband) бр. 5892, или
еквивалентно

3.10. Универзална рН индикаторска хартија, рН 1-11

3.11. 5-ml стаклени пробни шишенца

3.12. Испарувач со ротирачки филм (ротоиспарувач или еквивалентно)

3.13. Решо

4. Постапка

4.1. Подготовка на мостра

Измерете приближно 1 g од мострата во 50-ml стаклена епрувета со затворац со навртка (3.8). Додадете четири капки на хлороводородна киселина 4M (2.8) и 40 ml ацетон (2.2). За многу алкални производи како што е обичниот сапун, треба да се додадат 20 капки хлороводородна киселина 4M (2.8). Проверете дали рН вредноста е приближно два, употребувајќи индикаторска хартија (3.10). Затворете ја епруветата и силно протресувајте една минута.

Доколку е неопходно, олеснете ја екстракцијата на конзервансот во ацетонската фаза, загрејте ја мешавината полека на околу 60°C за да се истопи течната фаза. Изладете го растворот на собна температура и исфилтрирајте го преку филтер-хартија (3.9) во конусна колба.

Префрлете 20 ml од филтратот во 200-ml конусна колба, додадете 20 ml вода и измешајте. Прилагодете ја рН вредноста на мешавината на приближно 10 со калиум хидроксид 4M (2.9), употребете индикаторска хартија (3.10) за да ја измерите рН вредноста.

Додадете 1 g калциум хлорид (2.10) и силно протресете. Филтрирајте преку филтер-хартија (3.9) во 250-ml одделителна инка која содржи 75 ml диетил етер (2.3) и протресувајте силно една минута. Оставете да се издвои и испуштете го водениот слој во 250 ml конусна колба. Отфрлете го слојот со етер. Употребувајќи индикаторска хартија (3.10), прилагодете ја рН вредноста на водениот раствор на приближно два со помош на хлороводородна киселина 4M (2.8). Додадете 10 ml диетил етер (2.3), затворете ја колбата и протресувајте силно една минута. Оставете да се одделат и префрлете го слојот со етер во ротационен испарувач под вакуум (3.12). Отфрлете го водениот слој.

Испарувајте го слојот со етер скоро до исушување и повторно растворете го остатокот во 1 ml диетил етер (2.3). Префрлете го растворот во пробно шишенце (3.11).

4.2. Тенкослојна хроматографија

За сите стандарди и мострите кои се хроматографираат, нанесете приближно 3 μ л раствор на литиум карбонат (2.20) со шприц (3.5) на еднакви растојанија од почетната линија во зоната на концентрација на плочката за TLC (3.4) и исушете го со млаз од студен воздух.

Префрлете ја плочката за TLC на решо (3.13) загреано на 40°C, со цел да се одржуваат точките колку што е можно помали. Со микрошприц (3.5) нанесете 10 μ л од секој референтен раствор (2.18) и раствор-мостра (пробен раствор) (4.1) на почетната линија на плочката, на точките каде што е нанесен растворот на литиум карбонат.

Конечно, нанесете приближно 15 μ л реагенс за дериватизација (2.19) (раствор на 2-бromo-2'-ацетонафтон) повторно на точките каде што референтниот раствор/растворот-мостра (пробниот раствор) и растворот на литиум карбонат се нанесени.

Загревајте ја плочката за TLC 45 минути во печка (сушница) (3.7) на 80°C. По ладењето, развијте ја плочката во резервоар (комора) (3.2), којшто еквилибрирала 15 минути (без да се употребува обложувањето со филтер-хартија), употребувајќи растворувач за развивање 2.21 (толуен/ацетон), сè додека предниот бран на растворувачот не достигне растојание од 15 cm (ова може да потрае приближно 80 минути).

Исушете ја плочката во млаз на студен воздух и испитајте ги добиените точки со УВ светло (3.3). За да се зголеми флуоросцентноста на послабите точки, плочката за TLC може да се потопи во течен парафин/п-хексан (2.22).

5. Идентификација

Пресметајте ја R_f за секоја точка.

Споредете ги R_f вредностите и однесувањето под УВ радијација добиени за мострите со тие добиени за референтните раствори.

Извлечете прелиминарен заклучок за присуството и идентитетот на присутните конзерванси. Изведете ја постапката за ВКТХ опишана во дел Б, или, кога се покажува дека е присутна пропионска киселина, постапката за ГХ опишана во дел Ц. Споредете ги добиените времиња на задржување со тие добиени за референтните раствори.

Комбинирајте ги резултатите од TLC и HPLC или GC и базирајте ја конечната идентификација на конзервансите присутни во мострата на комбинираниите резултати.

Б. МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВИСОК ПРИТИСОК ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА БЕНЗОЕВА КИСЕЛИНА, 4-ХИДРОБЕНЗОЕВА КИСЕЛИНА, СОРБИНСКА КИСЕЛИНА И САЛИЦИЛНА КИСЕЛИНА

1. Принцип

По закиселувањето, мострата се екстрахира со мешавина на етанол и вода. По филтрацијата, заштитните средства се одредуваат со течна хроматографија под висок притисок (HPLC).

2. Реагенси

2.1. Сите реагенси треба да се со аналитичка чистота и погодна за HPLC, кога тоа е соодветно. Треба да се употребува дестилирана вода, или вода со најмалку еквивалентна чистота

2.2. Етанол, апсолутен

2.3. 4-хидроксибензоева киселина

2.4. Салицилна киселина

2.5. Бензоева киселина

2.6. Сорбинска киселина

2.7. Натриум ацетат, ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)

2.8. Оцетна киселина, (α)²⁰₄ = 1,05 g/ml

2.9. Ацетонитрил

2.10. Сулфурна киселина, 2M

2.11. Калиум хидроксид, раствор, 0,2M

2.12. 2-метоксибензоева киселина

2.13. Мешавина етанол/вода

Измешајте девет волумени на етанол (2.2) и еден волумен на вода (9:1)

2.14. Внатрешен стандарден раствор

Подгответе раствор што содржи приближно 1g 2-метоксибензоева киселина (2.12) во 500 ml мешавина од етанол/вода (2.13)

2.15. Мобилна фаза за HPLC

2.15.1. Ацетатен пуфер: на 1l вода додадете 6,35g натриум ацетат (2.7) и 20,0 ml оцетна киселина (2.8) и измешајте

2.15.2. Подгответе ја мобилната фаза со мешање на девет волумени на ацетатниот бафер (2.15.1) и еден волумен на ацетонитрил (2.9)

2.16. Основни раствори на конзервансот

Точно измерете приближно 0,05g 4-хидроксибензоева киселина (2.3), 0,2g салицилна киселина (2.4), 0,2g бензоева киселина (2.5) и 0,05g сорбинска киселина (2.6) во 50-ml волуметриска колба и дополнете ја со мешавината од етанол/вода (2.13). Складирајте го овој раствор во фрижидер. Растворот е стабилен една недела.

2.17. Стандардни раствори на конзерванси

Префрлете соодветно 8,00, 4,00, 2,00, 1,00 и 0,50 ml на основните стандардни раствори (2.16) во серија од 20-ml волуметриски колби. Точно измерете приближно 0,05g 4-хидроксибензоева киселина (2.3), 0,2g салицилна киселина (2.4), 0,2g бензоева киселина (2.5) и 0,05g сорбинска киселина (2.6) во 50-ml волуметриска колба и дополнете ја со мешавината од етанол/вода (2.13).

Во секоја колба, додадете 10,00 ml внатрешен стандарден раствор (2.14) и 0,5 ml сулфурна киселина 2M (2.10). Дополнете со мешавина од етанол/вода (2.13). Овие раствори треба да се подготвуваат свежи.

3. Опрема

Вообичаена лабораториска опрема освен кога е наведено поинаку и:

3.1. Водена бања, загреана на 60°C

3.2. Апарат за течна хроматографија под висок притисок со УВ детектор со променлива бранова должина и 10- μ l шприц.

3.3. Аналитичка колона

Нерфосувачки челик, должина 12,5 до 25 cm, внатрешен дијаметар 4,6 mm, спакувана со нуклеосил (Nucleosil) 5C18 или еквивалентно.

3.4. Филтер-хартија, дијаметар: 90 mm, Шлејхер и Шул (Schleicher & Schull), Вајсбанд (Weisband) бр. 5892, или еквивалентно

3.5. 50-ml стаклена епрувета со затворац со навртка

3.6. 5-ml стаклени пробни шишенца

3.7. Порозни нерастворливи каменчиња за вриење, карборундум, со големина од 2 до 4 mm, или еквивалентно

4. Постапка

4.1. Подготовка на мостра

4.1.1. Подготовка на мостра без додавање на внатрешен стандард

Измерете приближно 1 g од мострата во 50-ml стаклена епрувета со затворац со навртка (3.5). Пипетирајте 1,00 ml сулфурна киселина 2M (2.10) и 40,0 ml мешавина етанол/вода (2.13) во епруветата. Додадете приближно 1 g каменчиња за вриење (3.7), затворете ја епруветата и силно протресувајте најмалку една минута сè додека не се добие хомогена суспензија. За да ја олесните екстракцијата на конзервансите во етанолната фаза, ставете ја епруветата точно пет минути во водена бања (3.1) одржувана на 60°C.

Изладете ја епруветата веднаш во млаз од студен воздух и складирајте го екстрактот на 5°C еден час.

Филтрирајте го екстрактот преку филтер-хартија (3.4). Префрлете приближно 2 ml од екстрактот во пробно шишенце (3.6). Складирајте го екстрактот на 5°C и извршете одредување со HPLC во рок од 24 часа од подготовката.

4.1.2. Подготовка на мостра со додавање на внатрешен стандард

Измерете приближно $1 \pm 0,1$ g (а грами) од мострата во 50-ml стаклена епрувета со затворац со навртка (3.5). Додадете со пипета 1,00 g сулфурна киселина 2M (2.10) и 30,0 ml мешавина етанол/вода (2.13). Додадете приближно 1g каменчиња за вриење (3.7) и 10,00 ml внатрешен стандарден раствор (2.14). Затворете ја епруветата и силно протресувајте најмалку една минута сè додека не се добие хомогена суспензија. За да ја олесните екстракцијата на конзервансите во етанол фазата, ставете ја епруветата точно пет минути во водена бања (3.1) одржувана на 60.

Изладете ја епруветата веднаш во млаз од студен воздух и складирајте го екстрактот на 5°C еден час.

Филтрирајте го екстрактот преку филтер-хартија (3.4). Префрлете приближно 2 ml од филтратот во пробно шишенце (3.6). Складирајте го филтратот на 5°C и извршете одредување со HPLC во рок од 24 часа од подготовката.

4.2. течна хроматографија под висок притисок

Мобилна фаза: ацетонитрилен/ацетатен пуфер (2.15).

Прилагодете го протокот на мобилната фаза низ колоната на $2,0 \pm 0,5$ ml/минута.

Наместете ја брановата должина на детекторот на 240 nm.

4.2.1. Калибрација

Инјектирајте 10 μ l од секој стандарден раствори на конзервансите (2.17) во течниот хроматограф (3.2). За секој раствор одредете ги соодносите на висините на пиковите на испитаните конзерванси во висината на пиковите на внатрешниот стандард добиена од хроматограмите. Нацртајте графикон за секој конзерванс поврзувајќи го соодносот на висините на пиковите наспрема концентрацијата на секој стандарден раствор.

Потврдете дали се добива линеарна зависност за стандардните раствори во постапката за калибрација.

4.2.2. Одредување

Инјектирајте 10 μ l од екстрактот на мострата (4.1.1) во течниот хроматограф (3.2) и забележете го хроматограмот. Инјектирајте 10 μ l од стандардниот раствор на конзервансот (2.17) и забележете го хроматограмот. Споредете ги добиените хроматограми. Доколку во хроматограмот на екстрактот од мострата (4.1.1) не се појават пикови при истото време на задржување како за 2-метоксибензоевата киселина (препорачан внатрешен стандард), инјектирајте 10 μ l од екстрактот од мострата со додаден внатрешен стандард (4.1.2) во течниот хроматограф и забележете го хроматограмот.

Доколку се набљудува интерферентен пик во хроматограмот на екстрактот од мострата (4.1.1) со исто време на задржување како 2-метоксибензоевата киселина, треба да се избере друг соодветен внатрешен стандард. (Доколку еден од конзервансите којшто се испитува отсутствува на хроматограмот, тој конзерванс може да се употреби како внатрешен стандард.)

Потврдете дали хроматограмите добиени за стандардни раствори и за растворот-мостра ги задоволуваат следниве барања:

- одделување на пиковите кај најлошо одделените парови е најмалку 0,90. (За дефинирање на одделувањето на пиковите, види слика 1.)

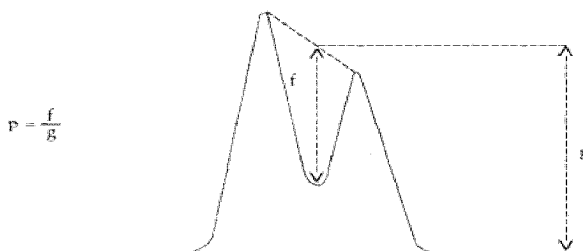
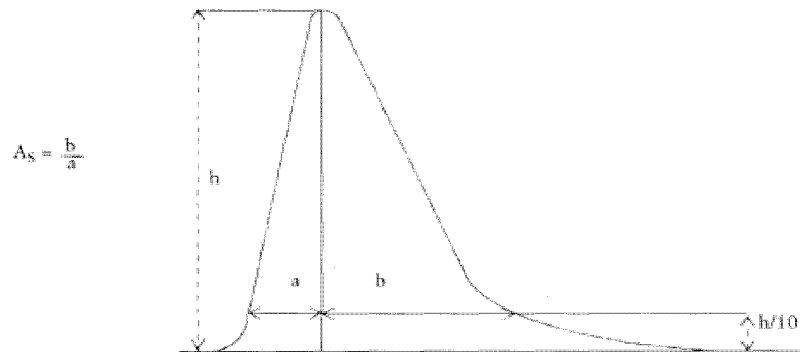


Figure 1: Peak separation

- Доколку не се постигне потребното одделување, или треба да се употреби поефикасна колона Слика 1: разделување на пиковите да се нагоди сè додека не се исполни

- Факторот на асиметрија A_s на сите добиени пикови е помеѓу 0,9 и 1,5. (За дефинирање на факторот на асиметрија на пиковите, види слика 2.) За да се забележи хроматограмот за одредување на факторот на асиметрија се препорачува брзина на графиконот од најмалку 2 cm/минута.



Слика 2: фактор на асиметрија на пиковите

- Се добива стабилна базна линија.

5. Пресметки

Употребете ги соодностите на висината на пиковите на испитаните конзерванси со висината на 2-метоксибензоевата киселина (внатрешен стандард) и графиконот за калибрација за да ја пресметате концентрацијата на киселите конзерванси во растворот-мостра. Пресметајте ја содржината на бензоевата киселина, 4-хидроксибензоевата киселина, сорбинска киселина или салицилна киселина во мострата, како процент од масата (масен процент)(x_i), користејќи ја формулата:

$$x_i \% (m/m) = \frac{100 \cdot 20 \cdot b}{10^6 \cdot a} = \frac{b}{500 \cdot a}$$

каде:

a = масата (g) на делот што се тестира (4.1.2),

b = концентрацијата ($\mu\text{g/ml}$) на конзервансот во екстрактот од мострата (4.1.2) добиена од графиконот за калибрација.

6. Повторливост⁴²

За содржина од 0,40% 4-хидроксибензоева киселина, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,035 %.

За содржина од 0,50% бензоева киселина, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,050 %.

За содржина од 0,50 % салицилна киселина, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,045 %.

⁴² ISO 5725.

За содржина од 0,60 % сорбинска киселина, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат апсолутна вредност од 0,035 %.

7. Забелешки

7.1. Резултатите од изведениот тест за отпорност за методот наведуваат дека количината на сулфурна киселина додадена за да се екстрахираат киселините од мострата е критична и дека границите за количините за обработена мостра треба се одржуваат во пропишаните граници.

7.2. Доколку тоа се посакува, може да се употреби соодветна заштитна колона.

V. МЕТОД НА ГАСНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ПРОПИОНСКА КИСЕЛИНА

1. Опсег и поле на примена

Овој метод е погоден за одредување на пропионска киселина со максимална концентрација од 2% m/m во козметичките производи.

2. Дефиниција

Концентрацијата на пропионска киселина измерена со овој метод се изразува како процент од масата (% m/m) на производот.

3. Принцип

По екстракцијата на пропионската киселина од производот, се извршува одредување со гасна хроматографија и употреба на 2-метилпропионска киселина како внатрешен стандард.

4. Реагенси

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота. Треба да се употребува дестилирана вода или вода со еквивалентна чистота.

4.1. Етанол 96% v/v

4.2. Пропионска киселина

4.3. 2-метилпропионска киселина

4.4. Ортофосфорна киселина, 10% m/v

4.5. Раствор на пропионска киселина

Точно измерете приближно 1,00 g (p грами) пропионска киселина во 50-ml волуметриска колба и дополнете ја со етанол (4.1)

4.6. Внатрешен стандарден раствор

Точно измерете приближно 1,00 g (e грами) 2-метилпропионска киселина во 50-ml волуметриска колба и дополнете ја со етанол (4.1)

5. Опрема

- 5.1. Вообичаена лабораториска опрема и:
- 5.2. Гасен хроматограф со пламен јонизирачки детектор
- 5.3. Стаклена епрувета (20 × 150 mm) со затворац со навртка
- 5.4. Када со вода на 60°C
- 5.5. 10 ml стаклен шприц со филтер-мембрана (дијаметар на порите: 0,45 µm)

6. Постапка

6.1. Подготовка на мостра

6.1.1. Подготовка на мостра без додавање на внатрешен стандард

Во стаклена епрувета (5.3), измерете приближно 1 g од мострата. Додадете 0,5 ml фосфорна киселина (4.4) и 9,5 ml етанол (4.1).

Затворете ја епруветата и протресете силно. Доколку тоа е неопходно, ставете ја епруветата во водена бања загреана на 60°C (5.4) пет минути со цел потполно да се раствори липидната фаза. Изладете ја брзо под млаз на проточна вода. Филтрирајте го делот од растворот низ филтер-мембрана (5.5). Хроматографирајте го филтратот истиот ден.

6.1.2. Подготовка на мостра со внатрешен стандард

Измерете со точност до три децимални места $1 \pm 0,1$ g (а грами) од мострата во стаклена епрувета (5.3). Додадете 0,5 ml фосфорна киселина (4.4), 0,50 ml внатрешен стандарден раствор (4.6) и 9 ml етанол (4.1).

Затворете ја епруветата и протресете силно. Доколку тоа е неопходно, ставете ја епруветата во водена бања загреана на 60 (5.4) пет минути со цел да се раствори липидната фаза. Изладете брзо под млаз на вода. Филтрирајте го делот од растворот низ филтер-мембрана (5.5). Хроматографирајте го филтратот истиот ден.

6.2. Услови за гасна хроматографија

Се препорачуваат следниве оперативни услови:

Колона

Тип	Нерѓосувачки челик
Должина	2 m
Дијаметар	1/8"
Пакување	10 % ТМОС (SP™) 1000 (или еквивалентно) + 1 % H ₃ PO ₄ на хромосорб (chromosorb) WAW сито со големина 100 на 120

Температура

Инјектор	200°C
Колона	120°C
Детектор	200°C
Носечки гас	азот
Проток	25 ml/минута

6.3. Хроматографија

6.3.1. Калибрација

Во серија од 20-ml волуметриски колби, префрлете со пипета 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 и 4,00 ml соодветно од растворот на пропионска киселина (4.5). Во секоја волуметриска колба префрлете со пипета 1,00 ml од внатрешниот стандарден раствор (4.6); дополнете со етанол (4.1) и измешајте. Растворот подготвен на овој

начин содржи е mg/ml на 2-метилпропионска киселина како внатрешен стандард (односно, 1 mg/ml доколку $e = 1\,000$) и $p/4$, $p/2$, p , $2p$, $4p \text{ mg/ml}$ пропионска киселина (односно, $0,25$, $0,50$, $1,00$, $2,00$, $4,00 \text{ mg/ml}$ доколку $p = 1\,000$). Инјектирајте $1 \mu\text{l}$ од секој од овие раствори и добијте ја кривата на калибрација нанесувајќи го соодносот на масата на пропионска киселина/2-метилпропионска киселина на x -оската наспрема соодносот на соодветната површина на пиковите на y -оската. Направете три инјектирања од секој раствор и пресметајте го соодносот на просечната површина на пиковите.

6.3.2. Одредување

Инјектирајте $1 \mu\text{l}$ од филтратот на мострата 6.1.1. Споредете го хроматограмот со таков на стандарден раствор (6.3.1). Доколку пикот има приближно исто време на задржување како 2-метилпропионска киселина, сменете го внатрешниот стандард. Доколку не се промени интерференција, инјектирајте $1 \mu\text{l}$ од филтратот на мострата 6.1.2 и измерете ги површините на пиковите на пропионската киселина и внатрешниот стандард.

Направете три инјектирања од секој раствор и пресметајте го соодносот на просечната површина на пиковите.

7. Пресметки

7.1. Од кривата на калибрација добиена според 6.3.1, добијте го соодносот на масата (K) што одговара на соодносот на површината на пикот пресметана според 6.3.2.

7.2. Од соодносот на масата добиен на тој начин пресметајте ја содржината на пропионска киселина на мострата (X) како процент од масата употребувајќи ја формулата:

$$x_i \% (m/m) = K \cdot \frac{0,5 \cdot 100 \cdot e}{50 \cdot a} = K \cdot \frac{e}{a}$$

каде:

K = соодносот пресметан според 7.1,

e = маса во грами на внатрешен стандард измерена според 4.6,

a = маса во грами на мострата измерена според 6.1.2.

Заокружете ги резултатите со точност до една децимала.

8. Повторливост¹⁰

За содржина од 2% m/m на пропионска киселина, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминуваат 0,12%.

II. МЕТОД НА ТЕНКСОЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВИСОК ПРИТИСОК ЗА ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА ХИДРОХИНОН, ХИДРОХИНОН МОНОМЕТИЛЕТЕР, ХИДРОХИНОН МОНОЕТИЛЕТЕР И ХИДРОХИНОН МОНОБЕНЗИЛЕТЕР ВО КОЗМЕТИЧКИТЕ ПРОИЗВОДИ

A. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. Опсег и поле на примена

Опишаниот метод за детекција и идентификација на хидрохинон, хидрохинон монометилетер, хидрохинон моноетилетер и хидрохинон монобензилетер (монобензон) во козметички производи за осветлување на кожата.

2. Принцип

Хидрохинон и неговите етери се идентификуваат со тенкослојна хроматографија (TLC).

3. Реагенси

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота

3.1. Етанол, 96% v/v

3.2. Хлороформ

3.3. Диетил етер

3.4. Растворувач за развивање: хлороформ/диетил етер, 66:33 v/v

3.5. Амонијак, 25% m/m ($d_{4}^{20} = 0,91 \text{ g/ml}$)

3.6. Аскорбинска киселина

3.7. Хидрохинон

3.8. Хидрохинон монометилетер

3.9. Хидрохинон моноетилетер

3.10. Хидрохинон монобензилетер (монобензон)

3.11. Стандардни раствори

Следниве стандардни раствори треба да бидат свежо подготвени и се стабилни еден ден.

3.11.1. Измерете 0,05 g хидрохинон (3.7) во 10-ml градуирана епрувета. Додадете 0,250 g аскорбинска киселина (3.6) и 5 ml етанол (3.1). Додадете амонијак (3.5) сè додека рН вредноста е 10 и дополнете до 10 ml со етанол (3.1).

3.11.2. Измерете 0,05 g хидрохинон монометилетер (3.8) во 10-ml градуирана епрувета. Додадете 0,250 g аскорбинска киселина (3.6) и 5 ml етанол (3.1). Додадете амонијак (3.5) сè додека рН вредноста е 10 и дополнете до 10 ml со етанол (3.1).

3.11.3. Измерете 0,05 g хидрохинон моноетилетер (3.9) во 10-ml градуирана епрувета . Додадете 0,250 g аскорбинска киселина (3.6) и 5 ml етанол (3.1). Додадете амонијак (3.5) сè додека рН вредноста е 10 и дополнете до 10 ml со етанол (3.1).

3.11.4. Измерете 0,05 g хидрохинон монобензилетер (3.10) во 10-ml градуирана епрувета. Додадете 0,250 g аскорбинска киселина (3.6) и 5 ml етанол (3.1). Додадете амонијак (3.5) сè додека рН вредноста е 10 и дополнете до 10 ml со етанол (3.1)

3.12. Сребро нитрат

3.13. 12-молибдофосфорна киселина

3.14. Калиум ферицијанид хексахидрат

3.15. Фери хлорид, хексахидрат

3.16. Распрскувачки реагенси

3.16.1. На 5% m/v воден раствор од сребро нитрат (3.12), додадете амонијак (3.5) сè додека не се раствори талогот што се формира.

Предупредување: растворот станува експлозивно нестабилен доколку стои и треба да се исфрли по употребата.

3.16.2. 10 % m/v раствор од 12-молибдофосфорна киселина (3.13) во етанол (3.1).

3.16.3. Подгответе 1 % m/v воден раствор на калиум ферицијанид (3.14) и 2 % (m/v) воден раствор на фери хлорид (3.15). Помешајте еднакви делови од двата раствори пред употребата.

4. Опрема

Вообичаена лабораториска опрема и:

4.1. Вообичаена TLC опрема

4.2. TLC плочки, подготвени за употреба: силика гел GHR/UV254; 20 × 20 cm (Махери (Machery), Нејгел (Nagel) или еквивалентни); дебелина на слојот 0,25 mm

4.3. Ултразвучна бања

4.4. Центрифуга

4.5. УВ лампа, 254 nm

5. Постапка

5.1. Подготовка на мострата

Измерете 3,0 g од мострата во 10-ml градуирана епрувета. Додадете 0,250 g аскорбинска киселина (3.6) и 5 ml етанол (3.1). Нагодете ја рН вредноста на вредноста на 10, употребувајќи амонијак. Дополнете до 10 ml со етанол (3.1). Затворете ја епруветата со затворац и хомогенизирајте 10 минути во ултразвучна бања. Филтрирајте низ филтер-хартија или центрифуга со 3 000 вртежи во минута.

5.2. TLC

5.2.1. Заситете го резервоарот (комората) за хроматографија со растворувачот за развивање (3.4).

5.2.2. Ставете на плочката 2 µl на стандарден раствор (3.11) и 2 µl на растворот-мостра (5.1). Развивајте во темно на собна температура сè додека предниот бран на растворувачот не се помести 15 cm од почетната позиција. 5.2.3. Отстранете ја плочката и дозволете да се исуши на собна температура.

5.3. Детекција

5.3.1. Набљудувајте ја плочката под УВ светло на 254 nm и обележете ја позицијата на точките.

5.3.2. Испрскајте ја плочката со:

- сребро нитрат реагенс (3.16.1), или
- реагенс 12-молибдофосфорна киселина (3.16.2); загрејте до приближно 120°C, или
- раствор на калиум ферицијанид и раствор на фери хлорид (3.16.3).

6. Идентификација

Пресметајте ја R_f за секоја точка.

Споредете ги добиените точки за растворот-мостра со тие на стандардните раствори во поглед на: нивните R_f вредности; бојата на точките под УВ радијација; и боите на точките по визуелизацијата со распрскувачкиот реагенс.

Спроведете ја HPLC опишана во претходниот дел (Б) и споредете ги времињата на задржување добиени за врвните вредности (пиковите) на мострата со тие добиени за стандардните раствори.

Комбинирајте ги резултатите од TLC и HPLC за да го идентификувате присуството на хидрохинон и/или неговите етери.

7. Забелешки

Според опишаните услови, следниве R_f вредности беа забележани:

хидрохинон: 0,32

хидрохинон монометилетер: 0,53

хидрохинон моноетилетер: 0,55

хидрохинон монобензилетер: 0,58

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. Опсег и поле на примена

Овој метод ја специфицира постапката за определување на содржината на хидрохинон, хидрохинон монометилетер, хидрохинон моноетилетер и хидрохинон монобензилетер во козметички производи за осветлување на кожата.

2. Принцип

Мострата се екстрахира со мешавина на вода/метанол со слабо загревање за да се растопи липидниот материјал. Одредувањето на анализите во добиениот раствор се изведува со течна хроматографија на реверзибилната фаза со УВ детекција.

3. Реагенси

3.1. Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота. Треба да се употребува дестилирана вода, или вода со најмалку еквивалентна чистота

3.2. Метанол

3.3. Хидрохинон

3.4. Хидрохинон монометилетер

3.5. Хидрохинон моноетилетер

3.6. Хидрохинон монобензилетер (монобензон)

3.7. Тетрахидрофуран, HPLC ранг

3.8. Мешавина вода/метанол 1:1 v/v. Измешајте еден волумен вода со еден волумен метанол (3.2).

3.9. Мобилна фаза: мешавина тетраhydroфуран/вода 45:55 v/v. Измешајте 45 волумни тетраhydroфуран (3.7) и 55 волумни вода.

3.10. Стандарден раствор

Измерете 0,06 g хидрохинон (3.3), 0,08 g хидрохинон монометилетер (3.4), 0,10 g хидрохинон моноетилетер (3.5) и 0,12 g хидрохинон монобензилетер (3.6) во 50-ml волуметриска колба. Растворете и дополнете со метанол (3.2). Подгответе го стандардниот раствор со разредување на 10,00 ml од овој раствор со 50,00 ml мешавина вода/метанол (3.8). Овие раствори треба да се свежо подготвени.

4. Опрема

Вообичаена лабораториска опрема и:

4.1. Водена бања, во која може да се одржува температура од 60°C

4.2. Апарат за течна хроматографија под висок притисок со УВ детектор со променлива бранова должина и 10- μ l шприц.

4.3. Аналитичка колона:

Хроматографска колона од нерѓосувачки челик, должина 250 mm, внатрешен дијаметар 4,6 mm, спакувана со Зорбакс фенил (хемиски врзан фенетилсилан на (Zorbax SIL), затворен на едниот крај со триметилхлоросилан), големина на честичките од 6 μ m, или еквивалентно. Не употребувајте заштитна колона, освен заштитен фенил или еквивалентно

4.4. Филтер-хартија, дијаметар: 90 mm, Schleicher & Schull, Weisband бр. 5892, или еквивалентно

5. Постапка

5.1. Подготовка на мостра

Измерете со точност до три децимални $1 \pm 0,1$ g (а грами) од мострата во 50-ml волуметриска колба. Диспергирајте ја мострата во 25 ml мешавина на вода/метанол (3.8). Затворете ја колбата и протресете силно сè додека не се добие хомогена суспензија. Протресувајте најмалку една минута. Ставете ја колбата во водена бања (4.1) загреана на 60°C за да се подобри екстракцијата. Разладете ја колбата и дополнете со вода/метанол (3.8). Филтрирајте го екстрактот со филтер-хартија (4.4). Извршете го одредувањето со HPLC во рок од 24 часа од подготвувањето на екстрактот.

5.2. течна хроматографија под висок притисок.

5.2.1. Прилагодете го протокот на мобилната фаза (3.9) на 1,0 ml/минути и поставете ја брановата должина на детекторот на 295 nm.

5.2.2. Инјектирајте 10 μ l од растворот-мостра добиен на начинот опишан во 5.1 и забележете го хроматограмот. Измерете ги површините на пиковите. Извршете калибрација како што е опишано во 5.2.3. Споредете ги добиените хроматограми

за растворот-мостра(пробниот раствор) и стандардниот раствор. Употребете ги површините на пиковите и факторот на реакција (RF) пресметан според 5.2.3 за да се пресмета концентрацијата на аналитите во растворот-мостра (пробниот раствор).

5.2.3. Калибрација

Инјектирајте 10 μ l од референтниот раствор (3.10) и забележете го хроматограмот. Инјектирајте неколку пати сè додека не се добие постојана површина на пиковите. Одредете го факторот на реакција RF_i :

$$RF_i = \frac{P_i}{c_i}$$

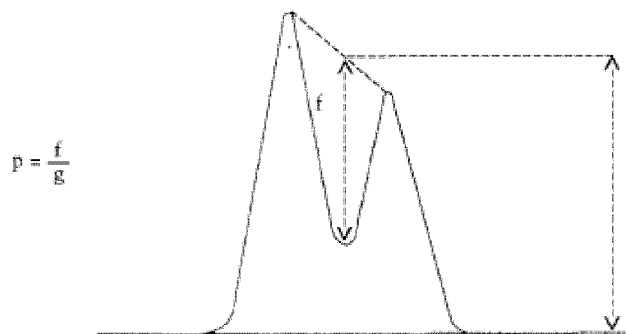
каде:

p_i = површината на пиковите за хидрохинон, хидрохинон монометилетер, хидрохинон моноетилетер или хидрохинон монобензилетер и

c_i = концентрацијата (g/50 ml) во стандардниот раствор (3.10) на хидрохинон, хидрохинон монометилетер, хидрохинон моноетилетер или хидрохинон монобензилетер.

Потврдете дали хроматограмите добиени за стандарден раствор и за растворот-мостра ги задоволуваат следниве барања:

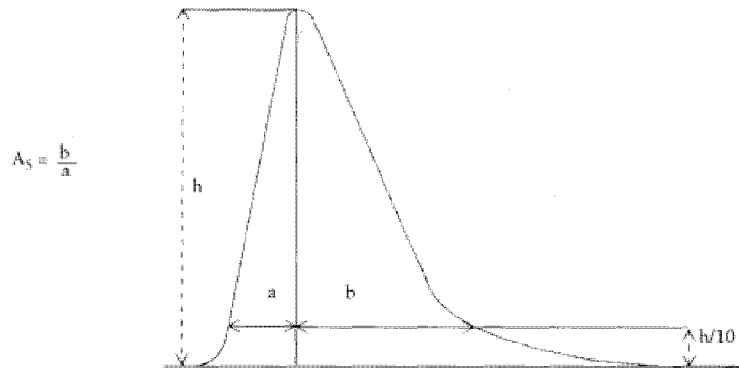
- одделување на пиковите кај најлошо одделените парови е најмалку 0,90. (За дефинирање на одделувањето на врвните вредности, види слика 1.)



Слика 1: разделување на пиковите

Доколку не се постигне потребното одделување, или треба да се употреби поефикасна колона или составот на мобилната фаза треба да се прилагоди сè додека не се исполни барањето.

- Факторот на асиметрија A_s на сите добиени пикови е помеѓу 0,9 и 1,5. (За дефинирање на факторот на асиметрија на пиковите, види слика 2.) За да се забележи хроматограмот за одредување на факторот на асиметрија се препорачува брзина на графиконот од најмалку 2 cm/минута.



Слика 2: фактор на асиметрија на пиковите

Се добива стабилна базна линија.

6. Пресметки

Употребете ги површините на пиковите на аналитите за да се пресмета концентрацијата на аналитите во мострата. Пресметајте ја концентрацијата на аналитите во мострата, како процент од масата, x_i употребувајќи ја формулата:

$$x_i \% (m/m) = \frac{b_i \cdot 100}{RF_i \cdot a}$$

каде:

a = масата на мострата во грами, и

b_i = површината на пикот на аналитот i во мострата.

7. Повторливост ⁴³

7.1. За содржина од 2,0 % хидрохинон, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминува апсолутна вредност од 0,13 %.

7.2. За содржина од 1,0 % хидрохинон монометилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминува апсолутна вредност од 0,1 %.

7.3. За содржина од 1,0 % хидрохинон моноетилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминува апсолутна вредност од 0,11 %.

7.4. За содржина од 1,0 % хидрохинон монобензилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра не треба да надминува апсолутна вредност од 0,11 %.

8. Репродуктивност ¹¹

8.1. За содржина од 2,0 % хидрохинон, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра во различни услови

⁴³ ISO 5725.

(различни лаборатории, различни оператори, различна опрема и/или различно време) не треба да надминува апсолутна вредност од 0,37 %.

8.2. За содржина од 1,0 % хидрохинон монометилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра во различни услови (различни лаборатории, различни оператори, различна опрема и/или различно време) не треба да надминува апсолутна вредност од 0,21 %.

8.3. За содржина од 1,0 % хидрохинон моноетилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра во различни услови (различни лаборатории, различни оператори, различна опрема и/или различно време) не треба да надминува апсолутна вредност од 0,19 %.

8.4. За содржина од 1,0 % хидрохинон монобензилетер, разликата помеѓу резултатите од две одредувања спроведени паралелно на истата мостра во различни услови (различни лаборатории, различни оператори, различна опрема и/или различно време) не треба да надминува апсолутна вредност од 0,11 %.

9. Забелешки

9.1. Кога ќе се најде содржина на хидрохинон значително повисока од 2 % и кога е потребна точна проценка на содржината, екстрактот на мострата (5.1) треба да се разреди во слична концентрација која би се добила од мостра што содржи 2 % хидрохинон, а одредувањето да се повтори.

(Во некои инструменти апсорпцијата може да биде надвор од линеарниот опсег на детекторот за високи концентрации на хидрохинон.)

9.2. Интерференции

Методот опишан погоре дозволува одредување на хидрохинон и неговите етери во единствен изократен обид. Употребата на фенил колоната обезбедува доволно задржување на хидрохинонот, што не може да се гарантира кога се употребува C18 колона со опишаната мобилна фаза.

Сепак, овој метод е подложен на интерференции од голем број на парабени. Во таквите случаи одредувањето треба да биде повторено со употреба на различен систем со мобилна/стационарна фаза. Погодни методи може да се најдат во упатувањата 1 и 2, имено:

Колона: Зорбакс ODS, 4,6 mm × 25 mm, или еквивалентно:

температура: 36°C

проток: 1,5 ml/минута

мобилна фаза:

за хидрохинон: метанол/вода 5/95 V/V

за хидрохинон монометилетер: метанол/вода 30/70 V/V

за хидрохинон монобензилетер: метанол/вода 80/20 V/V)⁴⁴.

Колона: Сферисорб (Spherisorb) S5-ODS, или еквивалентно:

мобилна фаза: вода/метанол 90/10 V/V

проток: 1,5 ml/минута.

Овие услови се погодни за хидрохинон⁴⁵.

⁴⁴ (1) M. Herpol-Borremans et M.-O. Masse, Идентификација на дозата на хидрохинон и неговите метил и бензил етери во козметички производи за осветлување на кожата. *Int. j. Cosmet. Sci.* 8-203-214 (1986).

⁴⁵ J. Firth and I. Rix, Одредување на хидрохинон во креми за тонирање на кожата, *Analyst* (1986), 111, p. 129.

Прилог бр.7

І.МЕТОД НА ТЕНКСОЛОЈНА ХРОМАТОГРАФИЈА ЗА ИДЕНТИФИКАЦИЈА И
МЕТОД НА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЈА ПОД ВИСОК ПРИТИСОК ЗА
ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА НА 2-ФЕНОКСИЕТАНОЛ, 1-
ФЕНОКСИПРОПАН-2-ОЛ, МЕТИЛ, ЕТИЛ, ПРОПИЛ, БУТИЛ И БЕНЗИЛ 4-
ХИДРОКСИБЕНЗОАТ ВО КОЗМЕТИЧКИ ПРОИЗВОДИ

А. ИДЕНТИФИКАЦИЈА

1. Опсег и област на примена

Овој метод одредува TLC постапка која, во комбинација со методот за одредување од Дел Б, ја дозволува идентификацијата на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксибензоат, етил 4-хидроксибензоат, пропил 4-хидроксибензоат, бутил 4-хидроксибензоат и бензил 4-хидроксибензоат во козметички производи.

2. Принцип

Конзервансите се екстрахираат од закиселена козметичка мостра(проба, примерок) со ацетон. По филтрацијата, ацетонскиот раствор се меша со вода, а во алкален медиум масните киселини се таложат како нивни калциумови соли. Алкалната мешавина ацетон/вода се екстрахира со диетилетер за да се отстранат липофилните супстанции. По закиселувањето конзервансите се екстрахираат со диетилетер. Точно одреден дел од диетилетер екстрактот се става на плочка обложена со тенок слој на силика гел. По развивањето на плочката, добиениот хроматограм се набљудува под УВ светло и се визуелизира со употреба на Милонов реагенс.

3. Реагенси

3.1. Општо

Сите употребени реагенси се со аналитичка чистота. Водата е дестилирана вода, или вода со најмалку еквивалентна чистота.

3.2. Ацетон

3.3. Диетилетер

3.4. n-пентан

3.5. Метанол

3.6. Оцетна киселина, глацијална

3.7. Раствор на хлороводородна киселина, $c(\text{HCl})=4\text{mol/l}$ 3.8. Раствор на калиум хидроксид, $c(\text{KOH})=4\text{mol/l}$ 3.9. Калциум хлорид дихидрат ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

3.10. Реагенс за детекција: Милонов реагенс

Милоновиот реагенс (жива (II) нитрат) е подготвен раствор кој е комерцијално достапен (Fluka 69820).

3.11. 2-феноксиетанол

3.12. 1-феноксипропан-2-ол

3.13. Метил 4-хидроксибензоат (метилпарабен)

3.14. Етил 4-хидроксибензоат (етилпарабен)

3.15. n-пропил 4-хидроксибензоат (пропилпарабен)

3.16. n-бутил 4-хидроксибензоат (бутилпарабен)

3.17. Бензил 4-хидроксибензоат (бензилпарабен)

3.18. Референтни раствори

Подгответе 0,1 % m/V раствори од секоја од референтните супстанции 3.11, 3.12, 3.13, 3.14, 3.15, 3.16 и 3.17 во метанол.

3.19. Растворувач за развивање

Помешајте 88 волуменски единици на n-пентан (3.4) со 12 волуменски единици на глацијална оцетна киселина (3.6).

4. Апарати

Вообичаена лабораториска опрема, и:

4.1. Водена бања, способна да одржува температура од 60°C

4.2. Резервоар за развивање (необложен со филтер-хартија)

4.3. Извор на ултравиолетова светлина, 254 nm

4.4. Тенки плочки, 20 cm x 20 cm, претходно обложени со 0,25 mm силика гел 60F254, со концентрирана зона (Мерк бр. 11798, Дармштад или еквивалентно)

4.5. Печка(Сушница) способна за одржување на 105°C

4.6. Фен за топол воздух

4.7. Волнен ваљак за боење, должина приближно 10 cm, надворешен дијаметар приближно 3,5 cm. Дебелината на волнениот слој е 2 до 3 mm. Потшишајте ја волната доколку е потребно.

Види забелешка 5.2

4.8. 50-ml стаклени епрувети со капаче со навој

4.9. Електрично решо, со термостатски контролер на температурата. Температурно нагдување: околу 80 °C. Топлото решо се покрива со алуминиумска плоча 20 cm x 20 cm и дебелина од околу 6 mm, за да се добие рамномерна распределба на топлината.

5. Постапка

5.1. Подготовка на мострата

Измерете приближно 1 g мостра во 50-ml стаклена епрувета со капаче со навој (4.8). Додадете четири капки раствор на хлороводородна киселина (3.7) и 40 ml ацетон.

За силно базни козметички производи, како што е тоалетен сапун, се додаваат 20 капки раствор на хлороводородна киселина. Затворете ја епруветата, полека загревајте ја мешавината за приближно 60°C за да се олесни екстракцијата на конзерванси во ацетонската фаза и силно протресувајте го околу една минута.

Мерењето на рН вредноста на растворот со индикаторска хартија за рН и нагдување на рН вредноста на растворот на ≤ 3 со раствор од хлороводородна киселина. Повторно протресете силно околу една минута.

Оладете го растворот на собна температура и филтрирајте го преку филтер-хартија во конусна колба. Пренесете 20 ml од филтратот во 200-ml конусна колба, додадете 60 ml вода и измешајте. Нагодете ја рН вредноста на мешавината на приближно 10 со калиум хидроксид (3.8), употребувајќи рН индикаторска хартија.

Додадете 1 g калциум хлорид дихидрат (3.9) и протресете силно. Филтрирајте го растворот преку филтер-хартија во 250-ml одделителна инка која содржи 75 ml диетилетер и силно протресете околу една минута. Дозволете фазите да се раздвојат и соберете го водниот раствор во 200-ml конусна колба. Нагодете ја рН вредноста на растворот приближно на 2 со раствор на хлороводородна киселина, употребувајќи рН индикаторска хартија. Потоа, додадете 10 ml диетилетер и протресете силно околу една минута. Дозволете фазите да се раздвојат и пренесете приближно 2 ml од слојот на диетилетер во 5-ml шишенце за мостри.

5.2. Тенкослојна хроматографија (TLC)

Ставете ја TLC плочката (4.4) на загреана алуминиумска плоча (4.9). Ставете 10 μ l од секој референтен раствор (3.18) и 100 μ l од пробниот(ите) раствор(и) (5.1) на почетната линија на зоната на концентрација на TLC плочката.

Доколку сакате, може да се употреби воздушен млаз(струја на воздух) за да се олесни испарувањето на растворувачот. Отстранете ја TLC плочката од загреаната плоча и дозволете и' да се олади на собна температура. Пренсете 100 ml од растворувачот за развивање (3.19) во резервоарот за развивање (4.2).

Ставете ја TLC плочката веднаш во незаситена комора и развивајте на собна температура сè додека фронтот на растворувачот не се помести околу 15 cm од основната линија. Отстранете ја плочката од резервоарот за развивање и исушете ја со топол воздушен млаз од фен за топол воздух.

Испитајте ја плочката под УВ светло (4.3) и означете ја позицијата на точките. Загревајте ја плочката околу 30 минути во печка (4.5) на 100°C за да се отстрани вишокот на оцетна киселина. Визуелизирајте ги конзервансите во хроматограмот со Милонов реагенс (3.10), со потопување на ваљакот за боја (4.7) во реагенсот и поминувајќи со него по TLC плочката сè додека истата не е подеднакво натопена.

Забелешка: Алтернативно, точките може да бидат визуелизирани со внимателно нанесување на капка од Милоновиот реагенс на секоја од точките означени под УВ светлото.

Естрите на 4-хидроксibenзоева киселина се покажуваат како црвени точки, 2-феноксиетанолот и 1-феноксипропан-2-олот како жолти точки. Забележете, сепак, дека 4-хидроксibenзоева киселина, која може да биде присутна во мострите како конзерванс или продукт од распаѓање на парабените, исто така ќе се појави како црвена точка. Види 7.3 и 7.4.

6. Идентификација

Пресметајте ја Rf-вредноста за секоја точка. Споредете ги точките добиени од пробниот раствор со тие на референтниот раствор во поглед на нивните Rf-вредности, нивното однесување под УВ зрачење и бојата по визуелизацијата. Нацртајте прелиминарни заклучоци за идентитетот на конзервансите.

Доколку парабените се покажат како присутни, се изведува HPLC постапката опишана во Дел Б. Комбинирајте ги резултатите од TLC и високо квалитетната течна хроматографија (HPLC) за се потврди присуството на 2-феноксиетанол, 1-феноксипропан-2-ол и на парабени.

7. Забелешки

7.1. Поради токсичноста на Милоновиот реагенс, овој реагенс најдобро се нанесува со една од опишаните постапки. Распрскувањето не е препорачливо.

7.2. Останатите соединенија кои содржат хидроксилни групи може исто така да прикажат боја со Милоновиот реагенс. Табела со бои и Rf-вредности добиени за одреден број на конзерванси со оваа TLC постапка може да се најде во: Н. де Крујф М.А. Х. Ријк, Л. А. Пранато-Соетарди и А. Шоутен (1987): Одредување на конзерванси во козметички производи I: Постапка за тенкослојна хроматографија за идентификација на конзерванси во козметички производи (J. Хроматографија 410, 395-411).

7.3. Rf-вредностите наведени во следнава табела служат како показател за вредностите што може да се добијат:

Состојка	hR_f	Боја
4-хидроксибензоева киселина	11	црвена
метилпарабен	12	црвена
етилпарабен	17	црвена
пропилпарабен	21	црвена
бутилпарабен	26	црвена
бензилпарабен	16	црвена
2-феноксietанол	29	жолта
1-феноксипропан-2-ол	50	жолта

7.4. Не е постигнато раздвојување на 4-хидроксибензоева киселина и метилпарабен или за бензилпарабен и етилпарабен. Идентификацијата на овие состојки треба да се потврди со изведување на HPLC методот опишан во Дел Б и со споредба на времињата на задржување добиени од мострата за тие стандарди.

Б. ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА СОДРЖИНАТА

1. Опсег и област на примена

Овој метод одредува постапка за одредување на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксибензоат, етил 4-хидроксибензоат, пропил 4-хидроксибензоат, бутил 4-хидроксибензоат и бензил 4-хидроксибензоат во козметички производи.

2. Дефиниција

Количествата на конзерванси одредени со овој метод се изразени во масени проценти

3. Принцип

Мострата се закиселува со додавање на сулфурна киселина и потоа се потопува во мешавина на етанол и вода. По благото загревање на мешавината за да се стопи липидната фаза и потпомогне квантитативната екстракција, мешавината се филтрира.

Конзервансите во филтратот се одредуваат со реверзно фазна HPLC со употреба на 4-хидроксибензоат како внатрешен стандард.

4. Реагенси

4.1. Општо

Сите реагенси треба да бидат со аналитичка чистота и погодни за HPLC кога тоа е соодветно. Водата е дестилирана вода, или вода со најмалку еквивалентна чистота.

4.2. Етанол, апсолутен

4.3. 2-феноксietанол

4.4. 1-феноксипропан-2-ол

4.5. Метил 4-хидроксибензоат (метилпарабен)

4.6. Етил 4-хидроксибензоат (етилпарабен)

4.7. n-пропил 4-хидроксибензоат (пропилпарабен)

4.8. Изопропил 4-хидроксибензоат (изопропилпарабен)

- 4.9. n-бутил 4-хидроксибензоат (бутилпарабен)
- 4.10. Бензил 4-хидроксибензоат (бензилпарабен)
- 4.11. Тетрахидрофуран
- 4.12. Метанол
- 4.13. Ацетонитрил
- 4.14. Раствор на сулфурна киселина $c(H_2SO_4)=2 \text{ mol/l}$
- 4.15. Етанол/вода мешавина

Помешајте девет волумени етанол (4.2) со еден волумен вода.

- 4.16. Внатрешен стандарден раствор

Точни измерете приближно 0,25 g изопропилпарабен (4.8), пренесете го тоа во 500-ml волуметриска колба, растворете и дополнете до ознаката со етанол/вода мешавина (4.15).

- 4.17. Мобилна фаза: мешавина на тетраhydroфуран/вода/метанол/ацетонитрил

Помешајте 5 волуменски единици тетраhydroфуран, 60 волумени вода, 10 волумени метанол и 25 волумени ацетонитрил.

- 4.18. Основен раствор на конзерванс

Точно измерете приближно 0,2 g 2-феноксietанол, 0,2 g 1-феноксипропан-2-ол, 0,05 g метилпарабен, 0,05 g етилпарабен, 0,05 g пропилпарабен, 0,05 g бутилпарабен и 0,025 g бензилпарабен во 100-ml волуметриска колба, растворете и дополнете до ознаката со мешавина на етанол/вода.

Чуван во фрижидер растворот е стабилен една недела.

- 4.19. Стандарден раствор на конзерванс

Од основниот раствор (4.18) пренесете соодветно 20,00 ml, 10,00 ml, 5,00 ml, 2,00 ml и 1,00 ml во 50-ml волуметриски колби. На секоја колба, додадете и' 10,00 ml внатрешен стандарден раствор (4.16) и 1,0 ml раствор на сулфурна киселина (4.14) и дополнете до ознаката со мешавина на етанол/вода. Овие раствори треба да се подготвуваат свежи.

5. Апарати

Вообичаена лабораториска опрема, и:

- 5.1. Водена бања, способна да одржува температура од $60^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$.

- 5.2. Високо квалитетен течен хроматограф со УВ-детектор, бранова должина 280 nm

- 5.3. Аналитичка колона:

Нерѓосувачки челик, 25 cm x 4,6 mm i.d. (или 12,5 cm x 4,6 mm i.d.) спакуван со Нуклеозил 5С18, или еквивалентно (види 10.1)

- 5.4. 100-ml стаклени епрувети со капаче со навој

- 5.5. Нерастворливи порозни гранули, карборундум, големина 2 до 4 mm, или еквивалентно

6. Постапка

- 6.1. Подготовка на мострата

- 6.1.1. Подготовка на мостра без додавање на внатрешен стандард

Измерете приближно 1,0 g од мострата во 100-ml стаклена епрувета со капаче со навој. Ставете со пипета 1,0 ml раствор на сулфурна киселина (4.14) и 50,0 ml мешавина на етанол/вода (4.15) во епруветите. Додадете приближно 1 g нерастворливи порозни гранули (5.5), затворете ја епруветата и протресете силно сè додека не се добие хомоген раствор. Протресете барем една минута. Ставете

ја епруветата пет минути во када со вода (5.1) одржувана на $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ за да се олесни екстракцијата на конзервансите во етанолната фаза.

Веднаш оладете ја епруветата во ладна вода и складирајте го екстрактот во фрижидер еден час. Филтрирајте го екстрактот со филтер-хартија. Пренесете приближно 2 ml од филтратот во 5-ml шишенце за мостри. Складирајте ги екстрактите во фрижидер и спроведете го HPLC одредувањето во рок од 24 часа.

6.1.2. Подготовка на мостра со додавање на внатрешен стандард

Измерете со точност до три децимални места $1,0 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ од мострата во 100-ml стаклена епрувета со капаче со навој.

Ставете со пипета 1,0 ml раствор на сулфурна киселина и 40,0 ml етанол/вода мешавина во епруветите. Додадете приближно 1 g нерастворливи порозни гранули (5.5) и точно 10,00 ml внатрешен стандарден раствор. Затворете ја епруветата и протресете силно сè додека не се добие хомоген раствор. Протресете барем една минута. Ставете ја епруветата пет 5 минути во водена бања одржувана на $60^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ за да се олесни екстракцијата на конзервансите во етанолната фаза.

Веднаш оладете ја епруветата во ладна вода од чешма и складирајте го екстрактот во фрижидер еден час. Филтрирајте го екстрактот со филтер-хартија.

Пренесете приближно 2 ml од филтратот во 5-ml шишенце за мостри (раствор за тестирање). Складирајте го екстрактот во фрижидер и спроведете ги HPLC одредувањата во рок од 24 часа.

6.2. Високо квалитетната течна хроматографија (HPLC)

6.2.1. Хроматографски услови

- Мобилна фаза: мешавина на тетраhydroфуран/вода/метанол/ацетонитрил (4.17)

- Проток: 1,5 ml/минута

- Бранова должина на детекција: 280 nm

6.2.2. Калибрација

Инјектирајте 10 μl од секој стандарден раствор на конзерванси (4.19). Од добиените хроматограми одредете ги соодносите на висините на пиковите за стандардните раствори на конзерванси со висините на пиковите за внатрешниот раствор. Нацртајте крива за секој конзерванс поврзувајќи ги овие соодноси со концентрациите на стандардните раствори.

6.2.3. Одредување

Инјектирајте 10 μl од растворот за мостра без внатрешен стандард (6.1.1) во хроматографот и забележете го хроматограмот.

Инјектирајте 10 ml од еден од стандардните раствори на конзерванси (4.19) и забележете го хроматограмот. Споредете ги добиените хроматограми.

Доколку, во хроматограмот на пробниот екстракт (6.1.1), нема пик со приближно исто време на задржување како изопропилпарабен (препорачан внатрешен стандард), продолжете се инјектирање на 10 μl растворот мостра со внатрешен стандард (6.1.2). Забележете го хроматограмот и измерете ги висините на пиковите.

Доколку се забележи издвоен пик во хроматограмот на пробниот раствор со приближно исто време на задржување како изопропилпарабен, треба да се избере друг внатрешен раствор.

Доколку еден од испитуваните конзерванси не е присутен на хроматограмот на пробата, овој конзерванс може да се употреби како алтернативен внатрешен стандард.

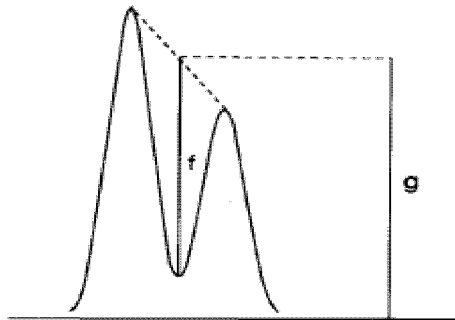
Пресметајте ги соодносите на висините на пиковите од испитуваните конзерванси со висините на пиковите на внатрешниот стандард.

Потврдете дека за стандардните раствори употребени во постапката за калибрација се добива линеарен резултат.

Потврдете дали добиените хроматограми за стандарден раствор и растворот мостра ги исполнуваат следниве услови:

- раздвојувањата на пиковите на најлошиот раздвоен пар изнесува најмалку 0,90. (За дефиниција на раздвојувањето и раздвојување на пиковите (ρ))

$$\rho = f/g$$



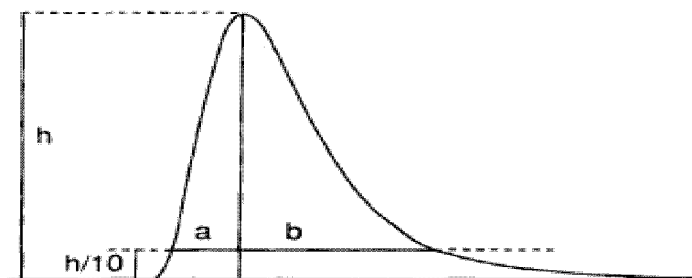
Слика 1: Раздвојување на пиковите

Доколку потребното раздвојување не се постигне, или треба да се употреби поефикасна колона, или составот на мобилната фаза треба да се прилагоди сè додека не се исполнат условите.

- факторот за асиметријата A_s на сите пикови добиени треба да биде помеѓу 0,9 до 1,5. (За дефиниција на факторот на асиметрија на пикот, видете слика 2.) За да се забележи хроматограмот за одредување на факторот на асиметрија препорачлива е брзина на хартијата од најмалку 2 cm/минута.

Фактор на асиметрија (A_s)

$$A_s = b/a$$



Слика 2: Фактор на асиметрија на пикот

- се добива стабилна основна (базна) линија.

7. Пресметување

Употребете ја кривата на калибрација (6.2.2) и соодносите на врвните вредности на испитаните конзерванси со висина на пиковите на внатрешниот стандард за да се пресмета концентрацијата на конзервансите во растворот за мостра. Пресметајте ја содржината на 2-феноксietанол, 1-феноксипропан-2-ол, метил 4-хидроксибензоат, етил 4-хидроксибензоат, пропил 4-хидроксибензоат, бутил 4-хидроксибензоат и бензил 4-хидроксибензоат, w_i , како процент од тежината (% m/m), употребувајќи ја формулата:

$$\% w_i (m/m) = \frac{b_i}{200 \times a}$$

во која:

b_i = концентрацијата ($\mu\text{g/ml}$) од конзерванс i во пробниот-раствор како што е отчитано од кривата на калибрација; и
 a = маса (g) на тест-позицијата.

8. Повторливост⁴⁶

Види забелешки, 10.5.

9. Репродуктивност¹¹

Види забелешки, 10.5.

10. Забелешки

10.1. Стационарна фаза

Однесувањето при задржување на растворувачите во HPLC одредувањата се силно зависни од видот, марката и историјата на стационарната фаза. Дали одредена колона може да се употреби за раздвојување на конзервансите што се испитуваат, може да се заклучи од резултатите добиени за стандардни раствори (види забелешки 6.2.3). Дополнително на предложениот материјал за пакување на колони, Хиперсил ОДС (Hypersil ODS) и Зорбакс ОДС (Zorbax ODS) исто така се сметаат за погодни.

Алтернативно, предложениот состав на мобилната фаза може да се оптимизира со цел да се добие бараното раздвојување.

10.2. Бранова должина на детекција

Тест за ригидност на опишаниот метод покажал дека мала промена во брановата должина на детекција може да имаа значителен ефект на резултатите од одредувањето.

Затоа, овој параметар треба да биде внимателно контролиран за време на анализата.

10.3. Интерференции

Според условите опишани во овој метод многу други состојки (соединенија), како што се конзерванси и козметички адитиви, се елуираат исто така. Времињата на задржување на голем број конзерванси споменати во Анекс VI на Директивата на Советот за козметички производи се наведени во: Н. де Крујф М.А. Х. Ријк, Л. А. Пранато-Соетарди и А. Шоутен (1989): Одредување на конзерванси во козметички производи II: Идентификација со високо квалитетната течна хроматографија (J. Хроматографија 469, 317-398).

10.4. За да се проектира аналитичката колона соодветна заштитна колона може да се употреби.

10.5. Методот бил испитан во соработка во кои учествувале деветте лаборатории. Три мостри биле анализирани. Следниве табели ги наведуваат, за секоја од трите мостри, средните вредности во % m/m (m), повторливоста (r), репродуцибилноста (R) добиени за супстанциите добиени со анализата кои ги содржеле:

Мостра	2-феноксиданол		1-фен-оксипропан-2-ол	Метил парабен	Етил парабен	Пропил парабен	Бутил парабен	Бензил парабен
Витаминска крема	m	1,124		0,250	0,0628	0,031	0,0906	
	r	0,016		0,018	0,0035	0,0028	0,0044	
	R	0,176		0,030	0,0068	0,0111	0,0034	
Дневна крема	m	1.196		0,266	0,076			
	r	0,040		0,003	0,002			
	R	0,147		0,022	0,004			
Крема за масирање	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

⁴⁶ ISO 5725.

1584.

Врз основа на членовите 29 став 4 и 33 став 2 од Законот за безбедност во снабдувањето со крв („Службен весник на Република Македонија“ бр. 110/2007), министерот за здравство донесе

П РА В И Л Н И К
ЗА ФОРМАТА И СОДРЖИНАТА НА ДОКУМЕНТАЦИЈАТА ВО ПРОЦЕСОТ НА УПОТРЕБАТА НА КРВТА, ОБРАСЦИТЕ И ПОСТАПКАТА ЗА ИЗВЕСТУВАЊЕ ЗА ПОЈАВА НА СЕРИОЗНО НЕПОВОЛНИТЕ НАСТАНИ И РЕАКЦИИ ОД УПОТРЕБЕНАТА КРВ И КРВНИ КОМПОНЕНТИ*

Член 1

Со овој правилник се пропишува формата и содржината на документацијата во процесот на употребата на крвта, обрасците и постапката за известување за појава на сериозно неповолните настани и реакции од употребената крв и крвни компоненти.

Член 2

Здравствената установа која користи крв и крвни компоненти води документација за секој пациент кој примил трансфузија на крв и/или крвни компоненти.

Документацијата од став 1 на овој член е составен дел од медицинското досие на пациентот што се води од страна на здравствениот работник со внесување на податоци за примената крв и крвни компоненти, за појава на сериозно неповолните настани или реакции од употребената крв и крвни компоненти и терапијата која е дадена.

Податоците за примената крв и крвни компоненти и терапијата која е дадена се внесуваат на температурната листа што се води за пациентот.

Податоците за појава на сериозно неповолните настани или реакции од употребената крв и крвни компоненти се содржани во известувањето за неповолни реакции што се води на Образец бр.1 и известувањето за неповолни настани што се води на Образец бр. 2.

Обрасците бр.1 и бр. 2 од став 4 на овој член се составен дел на овој правилник.

Член 3

Образецот бр.1 во кој се содржани податоците за појава на сериозно неповолните реакции од употребената крв и крвни компоненти е со димензии А4 210 x 297 мм, во бела боја.

На првата страна од Образецот бр.1 во Делот А) се содржани податоците за брзо известување за сомнителни сериозни неповолни реакции од употребената крв и крвни компоненти, и тоа: здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти; идентификација на извештајот; датум на известување (ден/месец/година) и час на здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти; идентификација на извештајот; датум на известување (ден/месец/годи-

на) и час на известување; датум на трансфузија (ден/месец/година) и час на трансфузија; возраст и пол на примателот; датум и час на сериозна неповолна реакција (ден/месец/година); сериозната неповолна реакција е поврзана со: полна крв, еритроцити, тромбоцитен концентрат; плазма; друго (наведете); видови сериозна неповолна реакција(и); имунолошка хемолiza како резултат на несоодветност на АВО; имунолошка хемолiza како резултат на друго изо-антитело; неимунолошка хемолiza; бактериска инфекција пренесена преку трансфузија; анафилакса / зголемена чувствителност; акутна белодробна повреда поврзана со трансфузија; вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХБВ); вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХЦВ); вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХИВ-1/2); вирусна инфекција пренесена преку трансфузија, друго (наведете); паразитска инфекција пренесена преку трансфузија (маларија); паразитска инфекција пренесена преку трансфузија, друго (наведете); посттрансфузиска пурпура; болеста на пресад наспроти домакилот (GvHD); друга сериозна реакција (и) (наведете); ниво на припишување (NA, 0-3).

Нивоата на припишување за сериозни неповолни реакции се водат на втората страна од Образецот бр. 1 во Делот Б) кој ги содржи следните податоци: ниво на припишување: NA, не подлежи на процена, 0, исклучено, не е веројатно; 1, возможно; 2, веројатно; 3, сигурно; објаснување: кога нема доволно податоци за процена на припишувањето; кога постои сигурен доказ надвор од основано сомнение за припишување на неповолната реакција на други причини; кога има јасен доказ дека неповолната реакција се должи на причини кои не се поврзани со крвта или со крвните компоненти; кога нема јасен доказ дека неповолната реакција се припишува на крвта или на крвната компонента или на други причини; кога има јасен доказ дека неповолната реакција се должи на крвта или на крвната компонента; кога постои сигурен доказ надвор од основано сомнение за припишување на неповолната реакција на крвта или на крвната компонента.

Потврдувањето на сериозно неповолните реакции се води на втората страна од Образецот бр.1 во Делот В) кој ги содржи следните податоци: здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти; идентификација на извештајот; датум на потврдување (ден/месец/година); датум на сериозно неповолна реакција (ден/месец/година) и час; потврдување сериозна неповолна реакција (да/не); ниво на припишување (NA, 0-3); промена на видот на сериозна неповолна реакција (да/не); за ДА, наведете: клинички резултат (доколку се знае), целосно закрепнување, лесна последица од болеста, сериозна последица од болеста, смрт.

Годишното известување за сериозно неповолните реакции се води на третата страна од Образецот бр. 1 во Делот Г) кој ги содржи следните податоци: установа за трансфузиона медицина; период на известување; оваа табела се однесува на: полна крв, црвени крвни клетки, крвни плочки плазма, друго (користете посебна табела за секоја компонента); бр.1 на издадени единици (вкупен број единици издадени со даден број крвни компоненти); број на приматели на кои се извршила трансфузија (вкупен број приматели на кои се изврши-

* Со овој правилник се врши усогласување со Директивата на Европскиот Парламент и Советот 2005/61EZ

Од 30 септември 2005 година за услови за следење и известување за сериозни несакани реакции и настани, 32005L0061

ла трансфузија со даден број крвни компоненти) (доколку е достапно); број на единици кои се дадени преку трансфузија (вкупен број крвни компоненти (единици) кои се дадени преку инфузија во текот на периодот на известување) (доколку е достапно); вкупен пријавен број, број на смртни случаи; број на сериозни неповолни реакции со ниво на припишување од 0 до 3 по потврдувањето (види известување за сомнителни сериозни неповолни реакции); имунолошка хемолiza, како резултат на несоодветност на АВО, како резултат на друго изо-антитело; неимунолошка хемолiza; бактеријска инфекција пренесена преку трансфузија; анафилактика/зголемена чувствителност; акутна белодробна повреда поврзана со трансфузија; вирусна инфекција пренесена преку трансфузија, ХБВ, ХЦВ, ХИВ-1/2, друго (неведете); паразитска инфекција пренесена преку трансфузија, маларија, друго (неведете); посттрансфузиска пурпура; пресад наспроти болест кај домаќинот (GvHD); други сериозни реакции (наведете); вкупно, смртни случаи; не подложи на проценка; ниво 0; ниво 1; ниво 2; ниво 3.

Член 4

Здравствениот работник во здравствената установа која ја употребува крвта и крвните компоненти треба веднаш без одлагање усно или писмено да достави известување до установата за трансфузиона медицина ако дојде до сериозна неповолна реакција која ќе се согледа кај примателот во текот или по трансфузијата што може да се припише на квалитетот и на безбедноста на крвта и на крвните компоненти.

Здравствената установа која ја употребува крвта и болничката трансфузиона комисија ја известуваат установата за трансфузиона медицина преку воспоставувени постапки за известување веднаш по дознавање на сите релевантни информации за сомнителни сериозни неповолни реакции кои се дадени на втората страна од Образецот бр. 1 кои содржат: информации за појавата на сериозно неповолни реакции со ниво на припишување 2 или 3 кои се припишуваат на квалитетот и на безбедноста на крвта и на крвните компоненти согласно член 3 став 3 на овој правилник; информации за секој случај на пренесување на заразни агенси преку крв и крвни компоненти; опишување на преземените активности во врска со други вклучени крвни компоненти кои се дистрибуирани за трансфузија или за употреба како што е плазма за фракционирање; проценување на сомнителните сериозни неповолни реакции во согласност со нивоата на припишување утврдени во член 3 став 3 од овој правилник; го подготвува известувањето за сериозно неповолна реакција, по завршување на истражувањето, користејќи го известувањето за потврдување на сериозно неповолни реакции и доставува целосен извештај за сериозни неповолни реакции.

Член 5

Образецот бр. 2 во кој се содржани податоците за појава на сериозно неповолните настани од употребената крв и крвни компоненти е со димензии А4 210 x 297 мм, во бела боја.

На првата страна од Образецот бр.2 во Делот А) се содржи податоците за брзо известување за појава на сериозно неповолни настани, и тоа: здравствена установа која ја употребува крвта и крвни компоненти; иденти-

фикационен број на крвните компоненти и идентификација на извештајот; датум на известување (ден/месец/година) и час на известување; датум на сериозно неповолен настан (ден/месец/година) и час; сериозно неповолен настан, кој може да влијае врз квалитетот и безбедноста на крвната компонента како резултат на нарушување кај: спецификација; неисправност на производот; дефект на опремата; човечка грешка; друго (наведете); при земање полна крв; земање афереза; тестирање на дадената крв; преработка; складирање; дистрибуција; материјали; друго (наведете).

Потврдувањето на сериозно неповолни настани се води на втората страна од образецот број 2 во Дел Б) кој ги содржи следните податоци: здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти; идентификација на извештајот; датум на потврдување (ден/месец/година); датум на сериозно неповолен настан (ден/месец/година) и час; сеопфатна анализа на причините (детали); преземени корективни мерки (детали).

Годишното известување за сериозни неповолни настани се води на втората страна од Образецот број 2 Дел В) ги содржи следните податоци: установа за трансфузиона медицина; период на известување 1 јануари - 31 декември (година); вкупен број преработена крв и крвни компоненти; сериозно неповолен настан, кој може да влијае врз квалитетот и безбедноста на крвната компонента како резултат на нарушување кај:; вкупен број на компоненти од спецификацијата; спецификација; неисправност на производот; дефект на опремата; човечка грешка; друго (неведете) при земање полна крв; земање афереза; тестирање на дадената крв; преработка; складирање; дистрибуција; материјали; друго (наведете).

Член 6

Известувањето за сериозно неповолни настани од страна на здравствените установи до болничката трансфузиона комисија и установата за трансфузиона медицина се доставува усно и писмено веднаш штом ќе се дознае за сите неповолни настани што може да влијаат врз квалитетот или безбедноста на крвта и на крвните компоненти, согласно внатрешно воспоставени постапки за известување на здравствената установа.

Здравствениата установа ја известува установата за трансфузиона медицина за сериозно неповолни настани што може да ги загрозат дарителите или примателите на крв и крвни компоненти кои не се директно вклучени во настанот.

Известувањето за сериозно неповолни настани од ставовите 1 и 2 на овој член се подготвува врз основа на проценка на сериозно неповолните настани при што се идентификуваат причините што можат да бидат спречени од страна на здравствената установа што се врши по завршеното истражување односно проценка.

Член 7

Овој правилник влегува во сила наредниот ден од денот на објавувањето на „Службен весник на Република Македонија“.

Бр. 10-5285/1
30 јуни 2010 година
Скопје

Министер за здравство,
д-р **Бујар Османи**, с.р.

Образец бр.1

Известување за сериозно неповолни реакции
Дел А)
Формулар за брзо известување за сериозно неповолни реакции
од употребата на крв и крвни компоненти

Здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти;

Идентификација на извештајот;

Датум на известување (ден/месец/година) и час на известување;

Датум на трансфузија (ден/месец/година) и час на трансфузија;

Возраст и пол на примателот;

Датум и час на сериозна неповолна реакција (ден/месец/година);

Сериозната неповолна реакција е поврзана со:

- Полна крв,
- Еритроцити,
- Тромбоцитен концентрат;
- Плазма;
- Друго (наведете);

Видови сериозна неповолна реакција(и);

- Имунолошка хемолиза како резултат на несоодветност на АВО;
 - Имунолошка хемолиза како резултат на друго изо-антитело;
 - Неимунолошка хемолиза;
 - Бактериска инфекција пренесена преку трансфузија;
 - Анафилакса / зголемена чувствителност;
 - Акутна белодробна повреда поврзана со трансфузија;
 - Вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХБВ);
 - Вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХЦВ);
 - Вирусна инфекција пренесена преку трансфузија (ХИВ-1/2);
 - Вирусна инфекција пренесена преку трансфузија, друго (наведете);
 - Паразитска инфекција пренесена преку трансфузија (маларија);
 - Паразитска инфекција пренесена преку трансфузија, друго (наведете);
-
- Посттрансфузиска пурпура;
 - Болеста на пресад наспроти домаќинот (GvHD);
 - Друга сериозна реакција(и) (наведете);

Ниво на припишување (NA, 0-3).

Дел Б)

Формулар за сериозно неповолни реакции - ниво на припишување

Ниво на припишување		Објаснување
NA,	Не подлежи на процена	Кога нема доволно податоци за процена на припишувањето.
0	Исклучено	Кога постои сигурен доказ надвор од основано сомнение за припишување на неповолната реакција на други причини;
	Не е веројатно	Кога има јасен доказ дека неповолната реакција се должи на причини кои не се поврзани со крвта или со крвните компоненти.
1	Возможно	Кога нема јасен доказ дека неповолната реакција се припишува на крвта или на крвната компонента или на други причини.
2	Веројатно	Кога има јасен доказ дека неповолната реакција се должи на крвта или на крвната компонента.
3	Сигурно	Кога постои сигурен доказ надвор од основано сомнение за припишување на неповолната реакција на крвта или на крвната компонента.

Дел В)

Формулар за потврдување сериозно неповолни реакции

Здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти;

Идентификација на извештајот;

Датум на потврдување (ден/месец/година);

Датум на сериозно неповолна реакција (ден/месец/година) и час;

Потврдување сериозна неповолна реакција (да/не);

Ниво на припишување (NA, 0-3);

Промена на видот на сериозна неповолна реакција (да/не);

За ДА, наведете:

- Клинички резултат (доколку се знае),
- Целосно закрепнување,
- Лесна последица од болеста,
- Сериозна последица од болеста,
- Смрт.

Образец бр.2

Известување за сериозно неповолни настани

Дел А)

Формулар за брзо известување за сериозно неповолни настани

Здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти				
Идентификационен број на крвните компоненти и идентификација на извештајот;				
Датум на известување (ден/месец/година) и час на известување;				
Датум на сериозно неповолен настан (ден/месец/година) и час;				
Сериозно неповолен настан, кој може да влијае врз квалитетот и безбедноста на крвната компонента како резултат на нарушување кај:	Спецификација			
	Неисправност на производот	Дефект на опремата	Човечка грешка	Друго (неведете)
Земање полна крв				
Земање афереза				
Тестирање на дадената крв				
Преработка				
Складирање				
Дистрибуција				
Материјали				
Друго (наведете)				

Дел Б)

Формулар за потврдување сериозно неповолни настани

Здравствена установа која ја употребува крвта и крвните компоненти;
Идентификација на извештајот;
Датум на потврдување (ден/месец/година);
Датум на сериозно неповолен настан (ден/месец/година) и час ;
Сеопфатна анализа на причините (детали)
Преземени корективни мерки (детали)

Дел В)

Формулар за годишно известување за сериозни неповолни настани

Установа за трансфузиона медицина					
Период на известување			1 јануари - 31 декември (година);		
Вкупен број преработена крв и крви компоненти:					
Сериозно неповолен настан, кој може да влијае врз квалитетот и безбедноста на крвната компонента како резултат на нарушување кај:	Вкупен број на компоненти од спецификацијата	Спецификација			
		Неисправност на производот	Дефект на опремата	Човечка грешка	Друго (неведете)
Земање полна крв					
Земање афереза					
Тестирање на дадената крв					
Преработка					
Складирање					
Дистрибуција					
Материјали					
Друго (наведете)					

Дел Г)
Формулар за годишно известување за сериозни неповолни реакции

Установа за трансфузиона медицина		Не подлежи на процена				
Период на известување		Ниво 0	Ниво 1	Ниво 2	Ниво 3	
Оваа табела се однесува на		Број на издадени единици (вкупен број единици издадени со даден број крвни компоненти)				
<input type="checkbox"/> Полна крв		Број на приматели на кои се извршила трансфузија (вкупен број приматели на кои се извршила трансфузија со даден број крвни компоненти) (доколку е достапно)				
<input type="checkbox"/> Црвени крвни клетки		Број на единици кои се дадени преку трансфузија (вкупен број крвни компоненти (единици) кои се дадени преку инфузија во текот на периодот на известување) (доколку е достапно)				
<input type="checkbox"/> Крвни плочки		Вкупен пријавен број				
<input type="checkbox"/> Плазма		Број на смртни случаи				
<input type="checkbox"/> Друго		Број на сериозни неповолни реакции со ниво на припишување од 0 до 3 по потврдувањето (види известување за сомнителни сериозни неповолни реакции)				
		Не подлежи на процена				
		Вкупно				
		Смртни случаи				
Имунолошка хемоллиза		Вкупно				
		Смртни случаи				
Неимунолошка хемоллиза		Вкупно				
		Смртни случаи				
Бактериска инфекција пренесена преку трансфузија		Вкупно				
		Смртни случаи				
Анафилактика/големена чувствителност		Вкупно				
		Смртни случаи				
Акутна белодробна повреда поврзана со трансфузија		Вкупно				
		Смртни случаи				
ХБВ		Вкупно				
		Смртни случаи				
ХЦВ		Вкупно				
		Смртни случаи				
ХИВ-1/2		Вкупно				
		Смртни случаи				
Друго (наведете)		Вкупно				
		Смртни случаи				
Маларија		Вкупно				
		Смртни случаи				
Друго (наведете)		Вкупно				
		Смртни случаи				
Посттрансфузиска пурпура		Вкупно				
		Смртни случаи				
Пресад наспроти болест кај домаќинот (GVHD)		Вкупно				
		Смртни случаи				
Други сериозни реакции (наведете)		Вкупно				
		Смртни случаи				

1585.

Врз основа на член 31 став 4 од Законот за безбедност во снабдувањето со крв („Службен весник на Република Македонија“ бр.110/07), министерот за здравство, донесе

**П РА В И Л Н И К
ЗА ФОРМАТА И СОДРЖИНАТА НА ЕВИДЕНЦИЈАТА
ЗА СЕКОЈА УПОТРЕБЕНА ЕДИНИЦА КРВ И КРВНИ КОМПОНЕНТИ**

Член 1

Со овој правилник се пропишува формата и содржината на евиденцијата за секоја употребена единица крв и крвни компоненти.

Член 2

Евиденцијата за секоја употребена единица крв и крвни компоненти, за текот и исходот на трансфузијата и за праќање на крв и крвни компоненти се води во пишана или електронска форма во установата за трансфузиона медицина и во здравствената установа што користи крв и крвни компоненти.

Член 3

Евиденцијата за секоја употребена единица крв крвни компоненти што ја води здравствениот работник во установата за трансфузиона медицина се води на Образец бр 1 кој е даден во прилог и е составен дел на овој правилник.

Евиденцијата од ставот 1 на овој член ги содржи следните податоци:

- На првата страна од образецот:
- назив и седиште на здравствената установа;
 - податоци за пациентот;
 - здравствена установа (клиника, оддел);
 - адреса, град;
 - единствен матичен број на граѓанин;
 - болнички матичен број;
 - дијагноза;
 - индикација на трансфузијата;
 - крвна група и Rh фактор D;
 - COOMBS тест (индиректен);
 - папаински тест;
 - интерреакција компактибилна со кеса (дарител) број;
 - количина во мл.(крв, еритроцитен концентрат, плазма, криопреципитат, албумини и тромбоцитен концентрат);
 - датум на експедиција и време (час, мин.) верте и
 - име и презиме на лекар трансфузиолог.

На втората страна од образецот се содржат податоци за:

- пред апликацијата да се измери: ToC;
- почеток на трансфузија (време) час, мин.;
- појава на реакција (време) (не-да) час, мин.;
- во случај на трансфузиска реакција, постапете на следниот начин:

1) запрете ја трансфузијата,

2) Земете крв од болниот во две епрувети за испитување со антикогуланс и без.

3)означете го видот на реакцијата со пополнување: треска, ToC; диспнеа, гадење, шок, уртикарија, цијаноza, болки во крст, повраќање, олигурија, ТА, главоболка, пулс, колапс, анурија.

- друго;
- антишок терапија;
- количина на трансфудираниот материјал;
- примероците со крв од болниот (10 ccm), кесата со крв или крвна компонента, системот за трансфузија и прашалникот доставете го до Институтот за трансфузиона медицина;

- (внимание) пополнетиот образец вратете го во Институтот во рок од 24 часа и
- дата, име и презиме и потпис на трансфузиолог кој бил присутен на трансфузија.

Член 4

Евиденцијата за побарување за крв и крвни компоненти што се води во здравствената установа што користи крв и крвни компоненти на Образец бр. 2 кој е даден во прилог и е составен дел на овој правилник.

Евиденцијата од ставот 1 на овој член ги содржи следните податоци:

На првата страна од образецот:

- назив и седиште на здравствената установа;
 - клиника/оддел за
 - контакт тел.
 - време на потребувањето, датум и час;
 - трансфузијата е потребна за, датум и час;
 - лабораториски параметри (Eгс x 106/L, Hct (0,??), Hb (g/L));
 - земал/а примерокот на крв,
 - потпис на одговорниот лекар;
 - лице кое го доставило примерокот,
 - степен на итност; 1. витална индикација, 2.итна постапка, 3.редовна постапка, 4. резервирана крв,
 - барање за крв и крвни компоненти и број на барање,
 - примател: име, татково име и презиме, пол: М/Ж;
 - подрачна единица на ФЗОМ, број на здравствена легитимација, ЕМБГ и болнички евидентен број;
 - дијагноза и крвна група: ABO и RhD фактор;
 - крвна компонента и количина: (единици/доза)
 - Eгс конц. Во (SAG, исплакнат, филтриран) плазма, криопреципитат (изогрупен, универзален);
 - резервирана крв (од бараните количини во резерва да се чува ___ и час или 72h по трансфузиката)
 - претходна трансфузија, бременост, имунизација (што, кога, колку);
 - тест на компактибилност;
 - крвната група ABO RhD позитивен негативен на примателот;
 - крвната група ABO RhD позитивен негативен на дарителот;
 - идентификационен број на крвната компонента,R ;
 - резултат: наведените броеви на крвна компонента се компатибилни;
 - забелешка,
 - изработил
 - назив и седиште на установата каде е изработен тестот на компактибилност;
 - име и презиме од лаборантот трансфузист кој го изработил тестот на компактибилност;
 - име и презиме од лекарот трансфузиолог кој го прочитал тестот на компактибилност и
 - податоци за исходот на трансфузијата - опис на евентуална посттрансфузиска реакција и известување до установата која го издала продуктот.
- На втората страна образецот содржи:
- упатство за употреба на крв и крвни компоненти и
 - упатство во случај на посттрансфузиска реакција.

Член 5

Овој правилник влегува во сила наредниот ден од денот на објавувањето во „Службен весник на Република Македонија“.

Бр. 10-5286/1
30 јуни 2010 година
Скопје

Министер за здравство,
д-р **Бујар Османи**, с.р.

Образец бр.1

Страна 1

Ј.З.У. Институт за трансфузиона медицина
на Република Македонија-Скопје
"Водњанска" 17, тел: 32 26 9223, факс: 32 11 92 27

Болен: _____
Установа
(Клиника, оддел.) _____

Адреса: _____ град: _____

Единствен мат.број на граѓанин: _____

Болнички мат.бр. _____

Дијагноза _____

Индикација на трансфузија _____

Крвна група _____, Rh фактор D _____

СОМБС ТЕСТ (индиректен) _____

ПАПАИНСКИ ТЕСТ _____

ИНТЕРРЕАКЦИЈА КОМПЛАТИБИЛНА
СО КЕСА (ДАРИТЕЛ) БРОЈ:

КОЛИЧИНА ВО мл:

КРВ _____

ЕРИТРОЦ. КОНЦ. _____

ПЛАЗМА _____

КРИОПРЕЦИПИТАТ _____

АЛБУМИН _____

ТРОМБОЦ. КОНЦ. _____

ДАТУМ НА ЕКСПЕДИЦИЈА,

ЛЕКАР трансфузиолог.,

ВРЕМЕ : час _____ мин. _____ ВЕРТЕ!

Страна 2

Пред апликацијата да се измери: T°C ,

Почеток на трансфузија (време)

час мин.

Појава на реакција (време)

не да

час мин.

Во случај на трансфузиска реакција, постапете на следниот начин:

1. Запрете ја трансфузијата,
2. Земете крв од болниот во две епрувети за испитување со антикоагуланс и без.
3. Означете го видот на реакцијата со пополнување:

<input type="checkbox"/> треска	<input type="checkbox"/> уртикарија,	<input type="checkbox"/> ТА,
<input type="checkbox"/> T°C	<input type="checkbox"/> цијаноза,	<input type="checkbox"/> главоболка,
<input type="checkbox"/> диспнеа,	<input type="checkbox"/> болки во крст,	<input type="checkbox"/> пулс,
<input type="checkbox"/> гадење,	<input type="checkbox"/> повраќање,	<input type="checkbox"/> колапс,
<input type="checkbox"/> шок,	<input type="checkbox"/> олигурија,	<input type="checkbox"/> анурија.

Друго: _____

Антишок терапија _____

4. Количина на трансфундиран материјал _____

5. Примероците со крв од болниот (10 ссм), кесата со крв или производот, системот за трансфузија и прашалникот даоставете ги до Институтот за трансфузиона медицина

ВНИМАНИЕ:

Пополнетиот прашалник вратете го во Институтот во рок од 24 часа.

Дата, _____

име и презиме на лекар трансфузиолог, _____

Образец бр.2

Страна 1

Ј.З.У. Институт за трансфузиона медицина
на Република Македонија
“Водњанска“ 17, тел: 32 26 9223, факс: 32 11 92 27

Клиника/Оддел за _____
време на требањето: _____

контакт тел: _____

транфузијата е потребна за: _____
_____ датум и час
_____ датум и час

Лабораториски параметри	
- Егс x 10 ⁶ /L	_____
-Hct (0,??)	_____
-Hb (g/L)	_____

земал/а примерок на крв _____ потпис на одговорниот лекар _____ лице кое го доставило примерокот _____

степен на итност: 1. витална индикација 2. итна постапка 3. редовна постапка 4. резервирана крв

БАРАЊЕ ЗА КРВ И КРВНИ КОМПОНЕНТИ / ПРОДУКТИ БР. _____

Примател: _____ пол: М Ж
_____ име, татково име и презиме

Подрачна единица на ФЗОМ: _____ Број на здравствена легитимација _____

ЕМБГ: _____ болнички евидентен број _____

Дијагноза: _____ Крвна група: _____
АВО и RhD фактор

Крвна компонента: _____

количина: _____
Егс конц во (SAG, исплакнат, филтриран) _____ единици/доза

плазма, криопреципитат (изогрупен, универзален)

резервирана крв _____
од бараните количини во резерва да се чува _____ и час (или 72h по трансфузиката)

претходна трансфузија, бременост, имунизација _____
што, кога, колку

ТЕСТ НА КОМПАТИБИЛНОСТ

примател				дарител				ID број на крвна компонента	R	
крвна група	ABO	RhD	позитивен	крвна група	ABO	RhD	позитивен			
			негативен				негативен			

Резултат: наведените броеви на крвна компонента се компатибилни

Забелешка: _____
Изработил: _____
ЈЗУ Институт за трансфузиона медицина _____ лаборант трансфузист _____ лекар

ПОДАТОЦИ ЗА ИСХОДОТ НА ТРАНСФУЗИЈАТА - опис на евентуална посттрансфузиска реакција и да се извести установата која го издала продуктот

Страна 2

УПАТСТВО за употреба на крв и крвни продукти

- 1. Еритроцитен концентрат - стандардна единица на деплазмирани Eре (280+ml)**
Индикации: супституција на анемија и крвање при алоимунизација на плазма протеини, АИНА, PNH
Чување: на температура 2-6°C до рокот на употреба.
- 2. Изплакнат еритроцитен концентрат - еритроцити без плазма.**
Индикации: супституција на анемија и крвање при алоимунизација на плазма протеини, АИНА, PNH
Чување: максимум 24 часа/2-6°C или 6 часа/собна температура по подготовката
- 3. Филтриран еритроцитен концентрат - еритроцити со мален број на леукоцити**
Индикации: супституција на анемија и крвање при можност од постоење леукоцитни антитела, таласемија, леукемија, апластична анемија, трансплантација на органи, пациенти на хемотерапија
Чување: максимум 24 часа/2-6°C или 6 часа/собна температура по подготовката
- 4. Тромбоцитен концентрат: - концентрирани тромбоцити добиени од 4-6 единици целокупна крв**
Индикации: Тромбоцитопени со крвање или опасност од крвање.
Чување: на температура 20-24°C, при соодветно протресување, 5 дена по подготовката
Да се назначи бројот на тромбоцити на пациентот пред трансфузијата.
- 5. Свежо смрзната плазма (ССП) - плазма издвоена и смрзната во рок од 6 часа по дарувањето**
Индикации: докажани недостатоци на фактори на коагулација, супституција на протеини или волумен заедно со Ерс концентрат, надомест на имуноглобулини и комплемент.
- 6. Криопреципитат- плазма продукт богат со FVIII, vW faktor, fibrinogen, FV, FXIII и fibronektin**
Индикации: супституција на FVIII, fibrinogen или некоја од другите состојки.
- 7. Албумин - 5% ml (12,5g) хуман албумин, двојно вирусно инактивиран, добиен со јоноизменувачка хроматографија.**
Индикации: супституција на албумин и волуменски експандер
- 8. Друго**
 - автологна крв
 - одмрзната ССП
 - петта крвна група
 - шеста крвна група
 - крв за интраутерина трансфузија
 - крвен продукт по договор со лекар специјалист трансфузиолог

Во случај на посттрансфузиска реакција: да се земе крв од другата рака на пациентот (една епрувета со антикоагуланс и друга без антикоагуланс), да се врати остатокот од кесата која се трансфуцирала и да се напише детална анамнеза и опис на реакцијата. Сето ова во најкраток рок да се достави до установата која го издала крвниот продукт.

Контакт телефони:

Образецот за потребување на крв треба да биде комплетно пополнет од страна на одговорните лица . Некомплетно пополнети обрасци нема да се примаат.

*по еден примерок од потребувањето да се чува во: историјата на болеста на пациентот, установата која ја издала крвта или крвниот продукт, сметководството на установите.

**АГЕНЦИЈА ЗА КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ
1586.**

Врз основа на член 152 став 1 од Законот за катастар на недвижности („Службен весник на РМ“ бр. 40/2008), директорот на Агенцијата за катастар на недвижности донесе

**РЕШЕНИЕ
ЗА СТАПУВАЊЕ ВО ПРИМЕНА НА ВОСТАНОВЕН
КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ**

Стапува во примена востановениот катастар на недвижности за катастарската општина Охрид 4 - Општина Охрид.

Катастарот на недвижности ќе се применува од 15-тиот ден од денот на објавувањето на ова решение во „Службен весник на Република Македонија“.

Со денот на стапување во примена на востановениот катастар на недвижности од став 1 од ова решение, престанува да се применува катастарот на земјиште за КО Охрид 4, востановен според Законот за премер и катастар на земјиштето („Службен весник на СРМ“ бр. 34/72 и 13/78).

Бр. 09-10061/1
25 јуни 2010 година
Скопје

Директор,
Љупчо Георгиевски, с.р.

1587.

Врз основа на член 152 став 1 од Законот за катастар на недвижности („Службен весник на РМ“ бр. 40/2008), директорот на Агенцијата за катастар на недвижности донесе

**РЕШЕНИЕ
ЗА СТАПУВАЊЕ ВО ПРИМЕНА НА ВОСТАНОВЕН
КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ**

Стапува во примена востановениот катастар на недвижности за катастарската општина Пожаране – Општина Врапчиште.

Катастарот на недвижности ќе се применува од 7-от ден од денот на објавувањето на ова решение во „Службен весник на Република Македонија“.

Со денот на стапување во примена на востановениот катастар на недвижности од став 1 од ова решение, престанува да се применува катастарот на земјиште за КО Пожаране, востановен според Законот за премер и катастар на земјиштето („Службен весник на СРМ“ бр.34/72 и 13/78).

Бр. 09-10062/1
25 јуни 2010 година
Скопје

Директор,
Љупчо Георгиевски, с.р.

1588.

Врз основа на член 160 став 3 од Законот за катастар на недвижности („Службен весник на СРМ“ бр. 40/2008), директорот на Агенцијата за катастар на недвижности донесе

**РЕШЕНИЕ
ЗА КОНВЕРЗИЈА НА ПОДАТОЦИТЕ ОД КАТАСТАР
НА ЗЕМЈИШТЕ ВО КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ**

Се врши конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности за катастарската општина Неготино (Неготино-Полошко) - Општина Врапчиште.

Катастарот на недвижностите ќе се применува од денот на објавувањето на ова решение во „Службен весник на Република Македонија“.

Со денот на стапување во примена на востановениот катастар на недвижности од став 1 од ова решение, престанува да се применува катастарот на земјиштето за КО Неготино (Неготино-Полошко) - Општина Врапчиште, востановен според Законот за премер и катастар на земјиштето („Службен весник на СРМ“ бр. 34/72 и 13/78).

Бр. 09-10063/1
25 јуни 2010 година
Скопје

Директор,
Љупчо Георгиевски, с.р.

1589.

Врз основа на член 160 став 3 од Законот за катастар на недвижности („Службен весник на РМ“ бр. 40/2008), директорот на Агенцијата за катастар на недвижности донесе

**РЕШЕНИЕ
ЗА КОНВЕРЗИЈА НА ПОДАТОЦИТЕ ОД КАТАСТАР
НА ЗЕМЈИШТЕ ВО КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ**

Се врши конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности за катастарската општина Чегране - Општина Гостивар.

Катастарот на недвижностите ќе се применува од денот на објавувањето на ова решение во „Службен весник на Република Македонија“.

Со денот на стапување во примена на востановениот катастар на недвижности од став 1 од ова решение, престанува да се применува катастарот на земјиштето за КО Чегране, востановен според Законот за премер и катастар на земјиштето („Службен весник на СРМ“ бр. 34/72 и 13/78).

Бр. 09-10064/1
25 јуни 2010 година
Скопје

Директор,
Љупчо Георгиевски, с.р.

1590.

Врз основа на член 160 став 3 од Законот за катастар на недвижности („Службен весник на РМ“ бр. 40/2008), директорот на Агенцијата за катастар на недвижности донесе

**РЕШЕНИЕ
ЗА КОНВЕРЗИЈА НА ПОДАТОЦИТЕ ОД КАТАСТАР
НА ЗЕМЈИШТЕ ВО КАТАСТАР НА НЕДВИЖНОСТИ**

Се врши конверзија на податоците од катастар на земјиште во катастар на недвижности за катастарската општина Врапчиште - Општина Врапчиште.

Катастарот на недвижностите ќе се применува од денот на објавувањето на ова решение во „Службен весник на Република Македонија“.

Со денот на стапување во примена на востановениот катастар на недвижности од став 1 од ова решение, престанува да се применува катастарот на земјиштето за КО Врапчиште, востановен според Законот за премер и катастар на земјиштето („Службен весник на СРМ“ бр.34/72 и 13/78).

Бр. 09-10065/1
25 јуни 2010 година
Скопје

Директор,
Љупчо Георгиевски, с.р.

**ВО ИЗДАНИЕ НА ЈП СЛУЖБЕН ВЕСНИК НА РМ
ИЗЛЕЗЕ ОД ПЕЧАТ ИЗДАНИЕТО**



1

300,00



Н О В О

300,00

2



НАЈНОВИ
ИЗДАНИЈА

П О Р А Ч К А Б Р. 87

Со ова неотповикливо го порачувам изданието под реден број: 1) во _____ примероци;
2) во _____ примероци.

Доказот за извршена уплата на жиро с-ка 30000000188798 и порачката ги испраќаме по пошта на адреса бул. „Партизански одреди“ бр. 29, п. фах 51, 1000, Скопје, или на телефакс број + 389-2-551-24-01.

Порачател: _____ Место: _____
ул. _____ бр. _____, тел./факс _____

Во _____, _____ 2010 година.

(М.П.)

Потпис на порачателот _____



www.sivesnik.com.mk
contact@sivesnik.com.mk

Издавач: ЈП СЛУЖБЕН ВЕСНИК НА РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА, ц.о.-Скопје
бул. „Партизански одреди“ бр. 29. Поштенски фах 51.
Директор и одговорен уредник - Тони Трајанов.
Телефон: +389-2-55 12 400.
Телефакс: +389-2-55 12 401.

Претплатата за 2010 година изнесува 9.200,00 денари.
„Службен весник на Република Македонија“ излегува по потреба.
Рок за рекламации 15 дена.
Жиро-сметка: 30000000188798.
Депонент на Комерцијална банка, АД - Скопје.
Печат: ГРАФИЧКИ ЦЕНТАР ДООЕЛ, Скопје.

ISSN 0354-1622



2010087