

WYROBY KOSMETYCZNO- -PERFUMERYJNE	N O R M A B R A N Ź O W A	BN-85
	Surowce do wyrobów kosmetycznych Kolagen rozpuszczalny Wymagania i badania	6149-03
		Grupa katalogowa 1416

1. WSTĘP

1.1. Przedmiot normy. Przedmiotem normy jest specyficzne białko, występujące w tkance łącznej, rozpuszczone w słabo kwaśnym roztworze wodnym, charakteryzujące się wysoką zawartością aminokwasu-hydroksyproliny.

1.2. Zakres stosowania przedmiotu normy. Kolagen rozpuszczalny stosuje się jako aktywny składnik środków do pielęgnacji skóry i włosów: kremów, lotionów, szamponów, kosmetycznych soli kąpielowych itp.

2. PODZIAŁ I OZNACZENIE

2.1. Podział. Kolagen rozpuszczalny dzieli się na następujące odmiany w zależności od rodzaju surowca i zawartości hydroksyproliny:

1 — ze skór cielęcych, zawierający ponad 300 µg/ml hydroksyproliny;

2 — ze skór cielęcych, zawierający ponad 700 µg/ml hydroksyproliny;

3 — ze skór cielęcych lub bydłych, zawierający ponad 1500 µg/ml hydroksyproliny.

2.2. Sposób budowy oznaczenia — wg KTM, podbranza 1284, uzupełnione nazwą i numerem normy.

2.3. Przykład oznaczenia środka chemicznego pomocniczego (1284), do produkcji farmaceutyków i kosmetyków (-4), substancji biologicznie czynnej i odżywczej (30), kolagenu rozpuszczalnego (-100-00) o liczbie kontrolnej (3):

KTM 1284-430-100-003

KOLAGEN ROZPUSZCZALNY 1 BN-85/6149-03

3. WYMAGANIA

3.1. Wymagania ogólne. Kolagen rozpuszczalny jest nieprzejrystą cieczą o jednolitej konsystencji, bezbarwną lub lekko żółtawą o słabo charakterystycznym zapachu. Z wodą miesza się w dowolnym stosunku.

3.2. Wymagania chemiczne — wg tabl. 1.

Tablica 1

Lp.	Nazwa wskaźnika	Wartość wskaźnika dla odmiany		
		1	2	3
1	Zawartość hydroksyproliny, nie mniej niż, µg/ml	300	700	1500
2	Wartość pH	3,2 ÷ 4,2	3,2 ÷ 4,2	3,5 ÷ 5,0
3	Zawartość suchej pozostałości, nie mniej niż, %	1,6	1,6	2,0
4	Zawartość popiołu, nie więcej niż, %	1	1	1

Zgłoszona przez Instytut Przemysłu Skórzanego
Ustanowiona przez Ministra Przemysłu Chemicznego i Lekkiego dnia 9 stycznia 1985 r.
jako norma obowiązująca od dnia 1 lipca 1985 r.
(Dz. Norm. i Miar nr 7/1985 poz. 12)

3.3. Wymagania mikrobiologiczne dla odmiany 1 i 2 — wg tabl. 2.

Tablica 2

I.p.	Nazwa wskaźnika	Wartość wskaźnika
1	Ogólna liczba drobnoustrojów tlenowych, nie więcej niż	100 w 1 g
2	Liczba pleśni	nieobecna w 1 g
3	Gronkowce chorobotwórcze	nieobecne w 0,1 g
4	Pseudomonas aeruginosa	
5	Escherichia coli i bakterie z grupy coli	
6	Laseczki beztlenowe przetrwalnikowe	
7	Salmonella	nieobecna w 25 g

3.4. **Trwałość.** Kolagen przechowywany w warunkach podanych w rozdz. 4 powinien zachować swoje własności w ciągu 6 miesięcy, licząc od daty produkcji.

4. PAKOWANIE, PRZECHOWYWANIE I TRANSPORT

4.1. **Pakowanie.** Kolagen pakuje się po 5, 10, 20, 25 lub 100 kg do pojemników plastikowych szczelnie zamkniętych.

Na każdym opakowaniu powinny być umieszczone w sposób czytelny i trwały następujące dane:

- nazwa producenta,
- nazwa produktu,
- oznaczenie wg rozdz. 2,
- rok i miesiąc produkcji,
- masa netto, brutto i tara.

4.2. **Przechowywanie.** Kolagen należy przechowywać w temperaturze $15 \div 25^{\circ}\text{C}$ w szczelnie zamkniętych pojemnikach, zabezpieczonych przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.

4.3. **Transport.** Kolagen należy przewozić krytymi środkami transportu, przy czym należy uważać, aby opakowania były postawione zamknięciem do góry.

5. BADANIA

5.1. **Pobieranie próbek.** Przy pobieraniu próbek należy stosować wytyczne wg PN-67/C-04500.

Próbki pierwotne pobierać po dokładnym wymieszaniu zawartości opakowania z całej wysokości słupa cieczy.

Z próbki pierwotnej przygotować próbkę laboratoryjną o masie około 0,2 kg. Podzielić ją na dwie części, z których jedną przeznaczyć do badań, a drugą przechowywać przez co najmniej sześć miesięcy do analizy rozjemczej lub kontroli.

5.2. Opis badań

5.2.1. **Sprawdzenie wymagań ogólnych** wykonać organoleptycznie po uprzednim dokładnym wymieszaniu produktu.

5.2.2. Oznaczenie zawartości hydroksyproliny

5.2.2.1. **Zasada metody** polega na kolorymetrycznym oznaczeniu związku powstałego z reakcji aldehydu *p*-dwumetyloaminobenzoesowego z produktami utleniania hydroksyproliny.

5.2.2.2. Przyrządy

a) Pehametr o zakresie pomiaru $0 \div 14$ pH (o dokładności odczytu 0,05 pH, z układem pomiarowym, elektroda odniesienia wbudowana lub oddzielona oraz elektroda pomiarowa szklana).

b) Fotokolorometr lub spektrofotokolorymetr o zakresie pomiarów 555 ± 3 nm.

c) Waga analityczna o dokładności 0,0001 g.

5.2.2.3. Odczynniki i roztwory

a) Bufor cytrynianowo-octanowy o pH 6.

1000 ml buforu zawiera:

50 g kwasu cytrynowego $\cdot 1\text{H}_2\text{O}$,

12 ml kwasu octowego lodowatego cz.d.a.,

34 g wodorotlenku sodowego cz.d.a.,

120 g octanu sodowego $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ cz.d.a.

Roztwór stabilizuje się za pomocą kilku kropeł toluenu.

b) Roztwór chloraminy T o $c = 0,03$ mol/l sporządzić z:

0,84 g chloraminy T $\cdot 3\text{H}_2\text{O}$,

20 ml wody destylowanej,

30 ml *n*-propanolu,

50 ml buforu cytrynianowo-octanowego wg poz. a).

c) Kwas solny cz.d.a., roztwór o $c(\text{HCl}) = 6$ mol/l.

d) Wodorotlenek sodowy cz.d.a., roztwór o $c(\text{NaOH}) = 2$ mol/l.

e) Kwas nadchlorowy cz.d.a., roztwór o $c(\text{HClO}_4) = 3$ mol/l.

f) Roztwór 5% (m/m) aldehydu *p*-dwumetyloaminobenzoesowego w *n*-propanolu.

g) Hydroksy-*L*-prolina krystaliczna cz.d.a.

Uwaga: Roztwory b) i f) należy sporządzić bezpośrednio przed wykonaniem oznaczenia.

5.2.2.4. **Hydroliza kolagenu.** 3 ml kolagenu zmieszać w probówce z 3 ml 6N kwasu solnego. Po zatopieniu probówkę ogrzewać w suszarce przez 3 h w temperaturze $+140^{\circ}\text{C}$. Hydrolizat oziębić, zobjętnić 2N wodorotlenkiem sodowym do pH od 5 do 7, a następnie odmianę 1 i 2 przenieść do kolby pomiarowej pojemności 250 ml, odmianę 3 — do kolby pomiarowej pojemności 500 ml i uzupełnić wodą destylowaną do kreski.

5.2.2.5. **Sporządzenie krzywej wzorcowej.** 0,01 g hydroksyproliny przenieść do kolby pomiarowej pojemności 100 ml i uzupełnić roztworem kwasu solnego o $c(\text{HCl}) = 0,01$ mol/l do kreski. Z tak przygotowanego roztworu podstawowego pobrać kolejno do kolb pomiarowych po 1,0 ml; 2,5 ml; 3,5 ml; 5,0 ml i uzupełnić wodą destylowaną do 50 ml. 1 ml roztworów wzorcowych sporządzonych w powyższy sposób zawiera odpowiednio: 0,002 mg; 0,005 mg; 0,007 mg i 0,010 mg hydroksyproliny. Do oznaczeń pobierać 1 ml roztworów wzorcowych i postępować dalej analogicznie jak w 5.2.2.6.

Sporządzić krzywą wzorcową odkładając na osi X zawartości hydroksyproliny, a na osi Y odpowiadające im wartości ekstynkcji.

5.2.2.6. Wykonanie oznaczania. Z otrzymanego roztworu hydrolizatu pobrać 1 ml, dodać 1 ml roztworu chloraminy T o $c = 0,03$ mol/l, często wstrząsając. Po 20 min dodać 1 ml roztworu kwasu nadchlorowego o $c(\text{HClO}_4) = 3$ mol/l, wstrząsając przez 5 min i dodać 1 ml 5% (m/m) roztworu aldehydu *p*-dwumetyloaminobenzoesowego. Po ponownym intensywnym wstrząsaniu mieszaninę pozostawić w ciągu 18 min na łaźni wodnej w temperaturze $+60^\circ\text{C}$. Po oziębieniu zmierzyć ekstynkcję próbek przy długości fali 555 ± 3 nm. Jednocześnie wykonać ślepią próbę. Zawartość hydroksyproliny w próbce odczytać z krzywej wzorcowej sporządzonej w analogicznych warunkach.

5.2.2.7. Obliczanie wyniku oznaczania. Zawartość hydroksyproliny (X) w μg na 1 ml kolagenu obliczyć wg wzoru

$$X = \frac{a \cdot b}{3} \cdot 1000 \quad (1)$$

w którym:

- a — odczyt z krzywej wzorcowej dla oznaczonej wartości ekstynkcji, μg ,
- b — objętość rozcieńczonego hydrolizatu — 200 (odmiany 1) lub 500 (odmiany 2 i 3), ml,
- 3 — objętość roztworu kolagenu wzięta do hydrolizy, ml.

Za wynik końcowy oznaczania przyjąć średnią arytmetyczną wyników trzech równoległych oznaczeń.

5.2.3. Oznaczanie pH wykonać bezpośrednio w roztworze kolagenu pehametrem w temperaturze 20°C .

5.2.4. Oznaczanie suchej pozostałości. Do naczynka wagowego odważyć około 1 g roztworu kolagenu i suszyć do stałej masy w temperaturze $+105^\circ\text{C}$.

Wynik w procentach obliczyć wg wzoru

$$Z = \frac{100 \cdot 2}{b} \quad (2)$$

w którym:

- a — pozostałość po suszeniu, g,
- b — odważka, g.

5.2.5. Oznaczanie zawartości popiołu. W tyglu porcelanowym uprzednio wyprażonym do stałej masy odważyć próbkę o masie około 2 g z dokładnością do 0,0001 g. Próbkę prażyć w temperaturze 600°C do stałej masy.

Zawartość popiołu (X) obliczyć w procentach wg wzoru

$$X = \frac{a}{b} \cdot 100 \quad (3)$$

w którym:

- a — masa próbki po prażeniu, g,
- b — masa próbki przed prażeniem, g.

5.2.6. Badania mikrobiologiczne wykonać zgodnie z opracowaniem „Metody Badania Mikrobiologicznego Środków Kosmetycznych“.

5.3. Ocena wyników badań. Partię kolagenu rozpuszczalnego należy uznać za zgodną z wymaganiami normy, jeżeli wyniki wszystkich badań są zgodne z wymaganiami wg rozdz. 3.

5.4. Zaświadczenie o wynikach badań. Do każdej partii kolagenu należy dołączyć zaświadczenie o wynikach badań wykonane przez producenta w zakresie wymagań wg 3.1 i 3.2 oraz kopię atestu badań wg 3.3 wykonanych przez Stację Sanitarno-Epidemiologiczną.

K O N I E C

INFORMACJE DODATKOWE

1. Instytucja opracowująca normę — Instytut Przemysłu Skórzanego, Łódź.

2. Normy i dokumenty związane

PN-67/C-04500 Produkty chemiczne. Wytyczne pobierania i przygotowywania próbek

Metody Badania Mikrobiologicznego Środków Kosmetycznych. Warszawa: Państwowy Zakład Higieny. Wydawnictwa Medyczne. Dział: Badania Żywności i Przedmiotów Użytku 1977

3. Autorzy projektu normy — mgr K. Paryska i dr U. Grzegorzewska.

4. Dotychczas obowiązujące normy — ZN-81/MPI.-10-145 Kolagen rozpuszczalny.