

385L0490

Nº L 295/30

Diario Oficial de las Comunidades Europeas

7. 11. 85

CUARTA DIRECTIVA DE LA COMISIÓN

de 11 de octubre de 1985

relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de métodos de análisis necesarios para el control de la composición de los productos cosméticos

(85/490/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS;

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 76/768/CEE del Consejo, de 27 de julio de 1976, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de productos cosméticos ⁽¹⁾, cuya última modificación la constituye la Directiva 85/391/CEE ⁽²⁾ y, en particular, el apartado 1 de su artículo 8,

Considerando que la Directiva 76/768/CEE prevé controles oficiales de los productos cosméticos para comprobar el cumplimiento de las condiciones previstas por las disposiciones comunitarias relativas a la composición de los productos cosméticos;

Considerando que es conveniente establecer lo antes posible todos los métodos de análisis necesarios y que, una vez realizadas tres etapas para alcanzar dicho fin mediante la fijación de determinados métodos en las Directivas 80/1335/CEE ⁽³⁾, 82/434/CEE ⁽⁴⁾, y 83/514/CEE ⁽⁵⁾ de la Comisión, la cuarta etapa debe consistir en la fijación de los métodos de identificación y determinación cuantitativa del clorobutanol de glicerol, de determinación cuantitativa del 1-(4-aminobenzoato) de glicerol, de identificación y determinación cuantitativa de la quinina, de identificación y determinación cuantitativa de los bisulfitos inorgánicos, de identificación y determinación cuantitativa de los cloratos de metales alcalinos, de identificación y determinación cuantitativa del yodato sódico;

Considerando que las medidas previstas en la presente Directiva se atienen al dictamen del Comité para la adaptación al progreso técnico de la Directiva 76/768/CEE,

Artículo 1

Los Estados miembros adoptarán todas las medidas necesarias para que, en los controles oficiales de productos cosméticos:

- la identificación y determinación cuantitativa del 1-(4-aminobenzoato) de glicerol,
- la determinación cuantitativa del clorobutanol,
- la identificación y determinación cuantitativa de la quinina,
- la identificación y determinación cuantitativa de los sulfitos y bisulfitos inorgánicos,
- la identificación y determinación cuantitativa de los cloratos de metales alcalinos, y
- la identificación y determinación cuantitativa del yodato de sodio

se realicen según los métodos descritos en el Anexo.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas necesarias para cumplir la presente Directiva, a más tardar el 31 de diciembre de 1986, e informarán de ello inmediatamente a la Comisión.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 11 de octubre de 1985.

Por la Comisión

Stanley CLINTON DAVIS

Miembro de la Comisión

⁽¹⁾ DO nº L 262 de 27. 9. 1976, p. 169.

⁽²⁾ DO nº L 224 de 22. 8. 1985, p. 40.

⁽³⁾ DO nº L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.

⁽⁴⁾ DO nº L 185 de 30. 6. 1982, p. 1.

⁽⁵⁾ DO nº L 291 de 24. 10. 1983, p. 9.

ANEXO

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL 1-(4-AMINO BENZOATO) DE GLICEROL

A. IDENTIFICACIÓN

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método sirve para poner de manifiesto la presencia del 1-(4-aminobenzoato) de glicerol o 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo. También permite identificar el 4-aminobenzoato de etilo (benzocaina DCI), eventualmente presente como impureza.

2. PRINCIPIO

La identificación se realiza por cromatografía en capa fina de gel de sílice con indicador fluorescente y revelado de la función amina primaria libre por formación en la placa de un colorante diazoico.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Mezcla disolvente: ciclohexano/isopropanol/diclorometano estabilizado: 48/64/9 (v/v/v).

3.2. Disolvente de desarrollo: éter de petróleo (40-60)/benceno/acetona/solución de hidróxido amónico (mínimo 25 % de NH_3): 35/35/35/1 (v/v/v/v).

3.3. Revelador: solución a): nitrito sódico: 1 g en 100 ml de ClH 1 M, preparado justo antes de usar;
solución b): 2-naftol: 0,2 g en 100 ml de KOH 1 M

3.4. Soluciones patrón:

— 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: 0,050 g en 100 ml de la mezcla disolvente (3.1).

— 4-aminobenzoato de etilo: 0,050 g en 100 ml de la mezcla disolvente (3.1).

3.5. Placas de gel de sílice 60 F254, de 0,25 mm de espesor y 200 × 200 mm de tamaño.

4. EQUIPO

4.1. Equipo normal para cromatografía en capa fina.

4.2. Baño de ultrasonidos.

4.3. Filtro Millipore FH 0,5 m o equivalente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de la muestra

Pesar 1,5 g de muestra en un matraz aforado de 10 ml con tapón esmerilado. Completar hasta 10 ml con la mezcla disolvente (3.1). Tapar y dejar durante 1 hora a temperatura ambiente en el baño de ultrasonidos (4.2). Filtrar por el filtro Millipore (4.3). Utilizar el filtrado para la cromatografía.

5.2. Cromatografía en capa fina

Depositar sobre la placa (3.5) 10 l del filtrado (5.1) y 10 l de cada solución patrón (3.4). Desarrollar el cromatograma hasta una altura de 15 cm en una cubeta previamente saturada con el disolvente (3.2). Dejar secar a temperatura ambiente.

5.3. Revelado

5.3.1. Observar la placa con luz ultravioleta de 254 nm.

5.3.2. Sobre la placa perfectamente seca, pulverizar la solución (3.3 a). Dejar secar a temperatura ambiente durante 1 minuto y pulverizar inmediatamente la solución (3.3 b).

Secar la placa en estufa de 60° C. Las manchas aparecen de color naranja con los siguientes R_f : 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: 0,07; 4-aminobenzoato de etilo: 0,55.

B. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método sirve para la determinación cuantitativa del 1-(4-aminobenzoato) de glicerol (4-aminobenzoato de -monoglicerilo). También permite la determinación cuantitativa del 4-aminobenzoato de etilo. Es adecuado para la determinación como máximo de 5 % (m/m) de 4-aminobenzoato de -monoglicerilo y de 1 % (m/m) de 4-aminobenzoato de etilo.

2. DEFINICIÓN

El contenido en 4-aminobenzoato de -monoglicerilo y en 4-aminobenzoato de etilo, determinado por este método, se expresa como porcentaje en masa (% m/m) del producto.

3. PRINCIPIO

El producto problema se pone en suspensión en metanol, y tras el tratamiento adecuado de la muestra, se realiza la determinación por cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica y, en particular, adecuados para HPLC.

4.1. Metanol.

4.2. Dihidrógeno-ortofosfato de potasio KH_2PO_4 .4.3. Diacetato de cinc $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.4.4. Ácido acético $d_4^{20} = 1,05$.4.5. Hexacianoferrato de tetrapotasio: $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

4.6. 4-hidroxibenzoato de etilo.

4.7. 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo.

4.8. 4-aminobenzoato de etilo (benzocaína).

4.9. Solución tampón (0,02 M): disolver 2,72 g de dihidrógeno-ortofosfato de potasio (4.2) en 1 l de agua.

4.10. Eluyente: solución tampón (4.9)/metanol (4.1): 61/39 (v/v). La composición de esta fase móvil puede modificarse de forma que el factor de resolución R sea igual o superior a 1,5:

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

donde:

R_1 y R_2 = tiempos de retención, expresados en minutos, de dos picos,

W_1 y W_2 = anchura, expresada en mm, de los mismos picos a media altura,

d' = velocidad del papel mm/minuto.

4.11. Solución madre de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: pesar con precisión unos 40 mg de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo en un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 40 ml de metanol (4.1). Completar hasta la marca de enrase con la solución tampón (4.9) y mezclar.

4.12. Solución madre de 4-aminobenzoato de etilo: pesar con precisión unos 40 mg de 4-aminobenzoato de etilo en un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 40 ml de metanol (4.1). Completar hasta la marca de enrase con la solución tampón (4.9) y mezclar.

4.13. Solución del patrón interno: pesar con precisión unos 50 mg de 4-hidroxibenzoato de etilo (4.6) en un matraz aforado de 100 ml. Disolver en 40 ml de metanol (4.1). Completar hasta la marca de enrase con la solución tampón (4.9) y mezclar.

4.14. Soluciones patrón: preparar cuatro soluciones patrón por disolución en 100 ml de eluyente (4.10), según el cuadro siguiente:

Solución	4-aminobenzoato de α -monoglicerilo		4-aminobenzoato de etilo		4-hidroxibenzoato de etilo	
	ml (4.11)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.12)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.13)	$\mu\text{g/ml}$ (*)
I	2	8	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(*) Estos valores se dan a título indicativo y corresponden a una pesada exacta de las soluciones 4.11, 4.12 y 4.13.

N.B. Estas soluciones pueden prepararse de forma diferente.

- 4.15. Solución de Carrez I: disolver 26,5 g de hexacianoferrato de tetrapotasio (4.5) en agua y completar hasta 250 ml.
 - 4.16. Solución de Carrez II: disolver 54,9 g de diacetato de cinc (4.3) y 7,5 ml de ácido acético (4.4) en agua y completar hasta 250 ml.
 - 4.17. Lichrosorb Merck RP-18, o equivalente, con tamaño medio de partícula de 5 µm.
5. EQUIPO
- 5.1. Material normal de laboratorio.
 - 5.2. Cromatógrafo de HPLC con detector ultravioleta de longitud de onda variable y cámara termostática a 45 °C.
 - 5.3. Columna de acero inoxidable: 250 mm de longitud, 4,6 mm de diámetro interior. La columna está rellena de Lichrosorb RP-18 (4.17).
 - 5.4. Baño de ultrasonidos.
6. PROCEDIMIENTO
- 6.1. **Preparación de la muestra**
 - 6.1.1. Pesar con precisión alrededor de 1 g de muestra en un vaso de 100 ml y añadir 10 ml de metanol (4.1).
 - 6.1.2. Poner el vaso durante 20 minutos en un baño de ultrasonidos (5.4). Pasar cuantitativamente la suspensión así obtenida a un matraz aforado de 100 ml con 75 ml de eluyente (4.10) como máximo. Añadir sucesivamente 1 ml de solución de Carrez I (4.15) y 1 ml de solución de Carrez II (4.16), mezclando después de cada operación. Completar hasta la marca de enrase con el eluyente (4.10), mezclar de nuevo y filtrar por filtro de pliegues.
 - 6.1.3. Utilizando una pipeta, pasar, a un matraz aforado de 50 ml, 3,0 ml del filtrado obtenido en 6.1.2 y 5,0 ml de la solución del patrón interno (4.13). Completar hasta la marca de enrase con el eluyente (4.10) y mezclar. Utilizar la solución así obtenida para proceder al análisis cromatográfico descrito en el punto 6.2.
 - 6.2. **Cromatografía**
 - 6.2.1. Ajustar el flujo de la fase móvil (4.10) a 1,2 ml/min y la temperatura de la columna a 45 °C.
 - 6.2.2. Ajustar el detector (5.2) a 274 nm.
 - 6.2.3. Utilizando una microjeringa, inyectar al menos dos veces 20 µl de solución (6.1.3) en el cromatógrafo y medir las áreas de los picos.
 - 6.3. **Curva de calibración**
 - 6.3.1. Inyectar 20 µl de cada una de las soluciones patrón (4.14) y medir las áreas de los picos.
 - 6.3.2. Para cada concentración, calcular la relación entre el área del pico del 4-aminobenzoato de α-monoglicerilo y el área del pico del patrón interno. Trazar la curva de calibración representando esta relación en ordenadas y la relación de masas correspondientes en abscisas.
 - 6.3.3. Proceder de la misma forma con el 4-aminobenzoato de etilo.
7. CÁLCULO
- 7.1. De la curva de calibración obtenida en 6.3 leer las relaciones de masas (RP₁, RP₂) correspondientes a las relaciones entre las áreas de los picos calculados en el punto 6.2.3, donde:
RP₁ = masa del 4-aminobenzoato de α-monoglicerilo/masa del 4-hidroxibenzoato de etilo,
RP₂ = masa del 4-aminobenzoato de etilo/masa del 4-hidroxibenzoato de etilo.

- 7.2. A partir de las relaciones de masa así obtenidas, calcular el contenido en 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo y en 4-aminobenzoato de etilo, como porcentaje en masa (% m/m), utilizando las fórmulas siguientes:

$$\text{g \% (m/m) 4-aminobenzoato de } \alpha\text{-monoglicerilo} = \text{RP1} \times \frac{q}{6 p}$$

$$\text{g \% (m/m) de 4-aminobenzoato de etilo} = \text{RP2} \times \frac{q}{6 p}$$

donde:

q = cantidad en mg de 4-hidroxibenzoato de etilo (patrón interno) pesada en el punto 4.13,

p = cantidad en g de muestra pesada en el punto 6.1.1.

8. REPRODUCIBILIDAD (*)

- 8.1. Para un contenido en 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo del 5 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,25 %.
- 8.2. Para un contenido en 4-aminobenzoato de etilo del 1 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,10 %.

9. OBSERVACIONES

- 9.1. Antes de proceder al análisis propiamente dicho, conviene determinar si la muestra no contiene ningún compuesto capaz de coincidir con el pico del patrón interno (4-aminobenzoato de etilo) en el cromatograma.
- 9.2. Para comprobar la ausencia de posibles interferencias, repetir la determinación cambiando en ± 10 % la proporción de metanol en la fase móvil.

DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL CLOROBUTANOL

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método es adecuado para la determinación cuantitativa del clorobutanol hasta la concentración máxima del 0,5 % (m/m) en todos los productos cosméticos, excepto en aerosoles.

2. DEFINICIÓN

El contenido en clorobutanol determinado por este método se expresa como porcentaje en masa (% m/m) del producto.

3. PRINCIPIO

Tras el tratamiento adecuado del producto problema, la determinación se realiza por cromatografía de gases utilizando 2,2,2-tricloroetanol como patrón interno.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

- 4.1. Clorobutanol (1,1,1-tricloro-2-metilpropano-2-ol).
- 4.2. 2,2,2-tricloroetanol.
- 4.3. Etanol absoluto.
- 4.4. Solución patrón de clorobutanol: 0,025 g en 100 ml de etanol (4.3), (m/r).
- 4.5. Solución del patrón interno de 2,2,2-tricloroetanol: 0,004 g en 100 ml de etanol (4.3), (m/r).

5. EQUIPO

- 5.1. Material normal de laboratorio.
- 5.2. Cromatógrafo de gases con detector de captura de electrones ^{63}Ni .

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Preparación de la muestra

Pesar con precisión de 0,1 g a 0,3 g de muestra (p g) en un matraz aforado de 100 ml, disolver en etanol (4.3), añadir 1 ml de la solución del patrón interno (4.5) y completar hasta la marca de enrase con etanol (4.3).

(*) Según la norma ISO 5725.

6.2. Condiciones de la cromatografía de gases

6.2.1. Las condiciones deben ser tales que el factor de resolución R de la columna sea igual o superior a 1,5:

$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

donde:

R_1 y R_2 = tiempos de retención, expresados en minutos, de dos picos,

W_1 y W_2 = anchura, expresada en mm, de los mismos picos a media altura,

d' = velocidad del papel en mm/mn.

6.2.2. Como ejemplo, las siguientes condiciones proporcionan el resultado deseado:

Columna	I	II
Naturaleza	Vidrio	Acero inoxidable
Longitud	1,80 m	3 m
Diámetro	3 mm	3 mm
Fase estacionaria	10 % Carboxim 20 M TPA sobre Gaschrom Q 80-100 mesh	5 % OV 17 sobre Chromosorb WAW DMCS 80-100 mesh
Acondicionamiento	2 a 3 días a 190 °C	
Temperaturas:		
— inyectar	200 °C	150 °C
— columna	150 °C	100 °C
— detector	200 °C	150 °C
Gas de arrastre	Nitrógeno	Argón/metano (95/5 v/v)
Flujo	35 ml/mm	32 ml/mm

6.3. Curva de calibración

En 5 matraces aforados de 100 ml, añadir a 1 ml de la solución del patrón interno (4.5) respectivamente 0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60 ml de la solución (4.4) y completar hasta 100 ml con etanol (4.3). Inyectar 1 µl de cada una de estas soluciones en el cromatógrafo en las condiciones descritas en el punto 6.2.2 y trazar la curva de calibración representando en abscisas la relación de las masas clorobutanol 2,2,2-tricloroetanol y en ordenadas la relación de las superficies correspondientes.

6.4. Inyectar 1 µl de la solución obtenida en 6.1 y proceder en las condiciones descritas en el punto 6.2.2.

7. CÁLCULO

7.1. Calcular, a partir de la curva de calibración (6.3), la cantidad "a" expresada en µg de clorobutanos de la solución (6.1).

7.2. El contenido en clorobutanol de la muestra (% m/m) se calcula según la fórmula:

$$\% \text{ de clorobutanol (m/m)} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^6} = \frac{a}{p \times 10^4}$$

8. REPRODUCIBILIDAD (*)

Para un contenido en clorobutanol del 0,5 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas con la misma muestra no debe pasar del 0,01 %.

Nota

Si el resultado es igual o superior a la concentración máxima autorizada, es conveniente comprobar la ausencia de interferencias.

(*) Según la norma ISO 5725.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE LA QUININA

A. IDENTIFICACIÓN

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método sirve para poner de manifiesto la presencia de quinina en los champúes y lociones capilares.

2. PRINCIPIO

La identificación se realiza por cromatografía en capa fina de gel de sílice y revelado de la fluorescencia azul de la quinina en medio ácido a 360 nm.

Para confirmar, se puede suprimir esta fluorescencia por medio de vapores de bromo y hacer aparecer una fluorescencia amarillenta con vapores de amoníaco.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Placas de gel de sílice de 0,25 mm de espesor, sin indicador de fluorescencia, de 200 x 200 mm de tamaño.

3.2. Disolvente de desarrollo: tolueno/éter dietílico/diclorometano/dietilamina: 20/20/20/8 (v/v/v/v).

3.3. Metanol.

3.4. Ácido sulfúrico 96 % ($d_4^{20} = 1,84$).

3.5. Éter dietílico.

3.6. Reactivo revelador: añadir con precaución 5 ml de ácido sulfúrico (3.4) a 95 ml de éter dietílico (3.5) en un recipiente refrigerado.

3.7. Bromo.

3.8. Amoníaco al 28 % ($d_4^{20} = 0,90$).

3.9. Quinina anhidra.

3.10. Solución patrón: pesar con precisión unos 100 mg de quinina anhidra (3.9) y disolverlos con metanol (3.3) en un matraz aforado de 100 ml, completando hasta la marca de enrase.

4. EQUIPO

4.1. Equipo normal para cromatografía en capa fina.

4.2. Baño de ultrasonidos.

4.3. Filtros Millipore FH 0,5 μ m, o equivalentes, con equipo de filtración adecuado.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de la muestra

Pesar con precisión una cantidad de muestra que pueda contener unos 100 mg de quinina en un matraz aforado de 100 ml, disolver y completar hasta la marca de enrase con metanol (3.3). Tapar y dejar durante 1 hora a temperatura ambiente en el baño de ultrasonidos (4.2). Filtrar por el filtro (4.3) y utilizar este filtrado para la cromatografía.

5.2. Cromatografía en capa fina

Depositar sobre la placa de gel de sílice (3.1) 1,0 μ l de la solución patrón (3.10) y 1,0 μ l de la solución problema (5.1). Desarrollar el cromatograma hasta una altura de 15 cm en una cubeta previamente saturada con los vapores del disolvente (3.2).

5.3. Revelado

5.3.1. Secar la placa a temperatura ambiente.

5.3.2. Pulverizar el reactivo (3.6).

5.3.3. Dejar secar la placa durante 1 hora a temperatura ambiente.

5.3.4. Observar la placa con luz ultravioleta a 360 nm. La quinina aparece en forma de mancha fluorescente de color azul intenso.

Como ejemplo, la tabla siguiente reproduce los Rf de los principales alcaloides de la quina, desarrollados con el disolvente (3.2).

Alcaloides	Rf
Quinina	0,20
Quinidina	0,29
Cinconina	0,33
Cinconidina	0,27
Hidroquinidina	0,17

- 5.3.5. Para confirmar la identificación de la quinina, se expone la placa durante alrededor de 1 hora a los vapores de bromo (3.7); la fluorescencia desaparece. Al exponer a continuación la misma placa a los vapores de amoníaco (3.8), las manchas reaparecen con una coloración parda y, si se vuelve a examinar la placa con luz ultravioleta a 360 nm, se observa fluorescencia amarillenta.
Limite de detección: 0,1 µg de quinina.

B. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

1. **OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN**
Este método sirve para la determinación cuantitativa de la quinina en los champúes y lociones capilares. Es adecuado para la determinación de las concentraciones máximas permitidas de 0,5 % (m/m) en los champúes y de 0,2 % (m/m) en las lociones.
2. **DEFINICIÓN**
El contenido en quinina determinado por este método se expresa como porcentaje en masa (% m/m) del producto.
3. **PRINCIPIO**
Tras el tratamiento adecuado del producto problema se realiza la determinación cuantitativa por cromatografía líquida de alta presión (CLHP).
4. **REACTIVOS**
Todos los reactivos deben ser de calidad analítica y, en particular, adecuados para HPLC.
 - 4.1. Acetonitrilo.
 - 4.2. Dihidrógeno-ortofosfato de potasio (KH₂PO₄).
 - 4.3. Ácido ortofosfórico al 85 % (d₄²⁰ = 1,7).
 - 4.4. Bromuro de tetrametilamonio.
 - 4.5. Quinina anhidra.
 - 4.6. Metanol.
 - 4.7. Solución de ácido ortofosfórico 0,1 M: disolver 11,53 g de ácido ortofosfórico (4.3) en agua en matraz aforado de 1 000 ml y completar hasta la marca de enrase.
 - 4.8. Solución de dihidrógeno-ortofosfato de potasio 0,1 M: disolver 13,6 g de dihidrógeno-ortofosfato de potasio (4.2) en agua en matraz aforado de 1 000 ml y completar hasta la marca de enrase.
 - 4.9. Solución de bromuro de tetrametilamonio 0,1 M: disolver 15,40 g de bromuro de tetrametilamonio (4.4) en agua en matraz aforado de 1 000 ml y completar hasta la marca de enrase.
 - 4.9. Solución de bromuro de tetrametilamonio 0,1 M: disolver 15,40 g de bromuro de tetrametilamonio (4.4) en agua en matraz aforado de 1 000 ml y completar hasta la marca de enrase.
 - 4.10. Eluyente: ácido ortofosfórico 0,1 M (4.7) / dihidrógeno-ortofosfato de sodio 0,1 M (4.8) / bromuro de tetrametilamonio 0,1 M (4.9)/agua/acetonitrilo (4.1): 10/50/100/340/90 (v/v/v/v/v).
La composición de la fase móvil puede modificarse de forma que el factor de resolución R sea igual o superior a 1,5:

$$R = \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$

donde:

- R₁ y R₂ = tiempos de retención, expresados en minutos, de dos picos,
W₁ y W₂ = anchura, expresada en mm, de los mismos picos a media altura,
d' = velocidad del papel en mm/min.

- 4.11. Sílice tratada con octadecilsilano, de granulometría 10 µm.
- 4.12. Soluciones patrón: en una serie de matraces aforados de 100 ml, pesar respectivamente con precisión 5,0, 10,0, y 20 mg de quinina anhidra (4.5). Ajustar con metanol (4.6) y agitar hasta disolución de la quinina. Filtrar cada solución por filtro (5.5) de 0,5 µm.
5. **EQUIPO**
 - 5.1. Material normal de laboratorio.
 - 5.2. Baño de ultrasonidos.
 - 5.3. Cromatógrafo de HPLC con detector ultravioleta de longitud de onda variable.
 - 5.4. Columna de acero inoxidable de 25 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interior, rellena con sílice (4.11).
 - 5.5. Filtros Millipore FH 0/5 µm, o equivalentes, con equipo de filtración adecuado.

6. PROCEDIMIENTO

6.1. Preparación de la muestra

Pesar con precisión en un matraz aforado de 100 ml una cantidad de muestra que corresponda a unos 10 mg de quinina anhidra. Añadir 20 ml de metanol (4.6) y poner el matraz durante 20 minutos en el baño de ultrasonidos (5.2). Completar hasta la marca de enrase con metanol (4.6.). Mezclar la solución y filtrar una parte alícuota por el filtro (5.5).

6.2. Condiciones de la cromatografía

- Flujo de la fase móvil (4.10): 1,0 ml/min.
- Longitud de onda del detector: 332 nm.
- Volumen inyectado: 10,0 µl de solución filtrada (6.1).
- Medida del área del pico.

6.3. Curva de calibración

Introducir al menos tres veces 10,0 µl de cada una de las soluciones patrón (4.12). Medir el área del pico y calcular su valor medio para cada concentración.

Trazar la curva de calibración y comprobar que es una línea recta.

7. CÁLCULO

7.1. A partir de la curva de calibración (6.3), calcular la cantidad de quinina anhidra, expresada en µg, contenida en el volumen inyectado.

7.2. La concentración de quinina anhidra en la muestra, como porcentaje en masa, se obtiene por la fórmula siguiente:

$$\% \text{ (m/m) de quinina anhidra} = \frac{B}{A}$$

donde:

B = cantidad en µg de quinina anhidra contenida en los µl de la solución filtrada (6.1),

A = masa de la muestra (6.1) expresada en g.

8. REPRODUCIBILIDAD (*)

Para un contenido en quinina anhidra del orden del 0,5% (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,02 %.

Para un contenido en quinina anhidra del orden del 0,2 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,01 %.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE SULFITOS Y BISULFITOS INORGÁNICOS

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El método describe la identificación y determinación cuantitativa de los sulfitos y bisulfitos inorgánicos en productos cosméticos. Sólo puede aplicarse a productos que tengan una fase acuosa o alcohólica y para concentraciones de hasta el 0,2 % de dióxido de azufre.

A. IDENTIFICACIÓN

1. PRINCIPIO

La muestra se calienta con ácido clorhídrico, y el dióxido de azufre liberado se identifica por su olor o con ayuda de un papel indicador.

2. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

2.1. Ácido clorhídrico (4M).

2.2. Papel indicador de yodato de potasio con almidón, u otro papel indicador apropiado.

3. EQUIPO

3.1. Material normal de laboratorio.

3.2. Matraz de 25 ml con condensador corto de reflujo.

4. PROCEDIMIENTO

4.1. Poner en el matraz (3.2) unos 2,5 g de muestra y 10 ml de ácido clorhídrico (2.1).

4.2. Mezclar y llevar a ebullición.

4.3. Detectar el dióxido de azufre por el olor o por medio del papel indicador (2.2).

(*) Según la norma ISO 5725.

B. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

1. DEFINICIÓN

El contenido de la muestra en sulfito o bisulfito, determinado según este método, se expresa como porcentaje en masa de dióxido de azufre.

2. PRINCIPIO

Tras acidificar la muestra, el dióxido de azufre liberado se destila y se recoge en una solución de peróxido de hidrógeno. El ácido sulfúrico formado se valora con una solución patrón de hidróxido sódico.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Peróxido de hidrógeno al 0,2 % (m/v). Este reactivo debe prepararse cada día.

3.2. Acido ortofosfórico ($d \frac{25}{4} = 1,75$).

3.3. Metanol.

3.4. Solución patrón de hidróxido sódico 0,01 M.

3.5. Nitrógeno.

3.6. Indicador: mezcla 1:1 (v/v) de rojo de metilo al 0,03 % (m/v) en etanol y de azul de metileno al 0,05 % (m/v) en etanol. Filtrar la solución.

4. EQUIPO

4.1. Material normal de laboratorio.

4.2. Destilador (ver esquema).

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Pesar con precisión unos 2,5 g de muestra en el matraz de destilación A (ver esquema).

5.2. Añadir 60 ml de agua y 50 ml etanol (3.3) y mezclar.

5.3. Poner 10 ml de peróxido de hidrógeno (3.1), 60 ml de agua y algunas gotas de indicador (3.6) en el recipiente D destinado a recoger el destilado (ver esquema). Añadir algunas gotas de hidróxido sódico (3.4) hasta que el indicador vire al verde.

5.4. Proceder de la misma forma con el frasco lavador E (ver esquema).

5.5. Montar el destilador y ajustar el flujo de nitrógeno (3.5) a unas 60 burbujas por minuto.

5.6. Introducir por el embudo 15 ml de ácido ortofosfórico (3.2) en el matraz de destilación A.

5.7. Llevar rápidamente a ebullición y dejar hervir suavemente durante 30 minutos.

5.8. Desconectar el recipiente D que contiene el destilado. Enjuagar el tubo y, a continuación, valorar con la solución de hidróxido sódico (3.4) hasta que el indicador (3.6) vire al verde.

6. CÁLCULO

Calcular el contenido en sulfito o bisulfito de la muestra como porcentaje en masa con ayuda de la fórmula siguiente:

$$\% \text{ (m/m) de dióxido de azufre} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

donde:

M = concentración molar de la solución de hidróxido sódico (3.4),

V = volumen en ml de hidróxido sódico (3.4) necesarios para la valoración (5.8),

m = masa en g de la muestra (5.1).

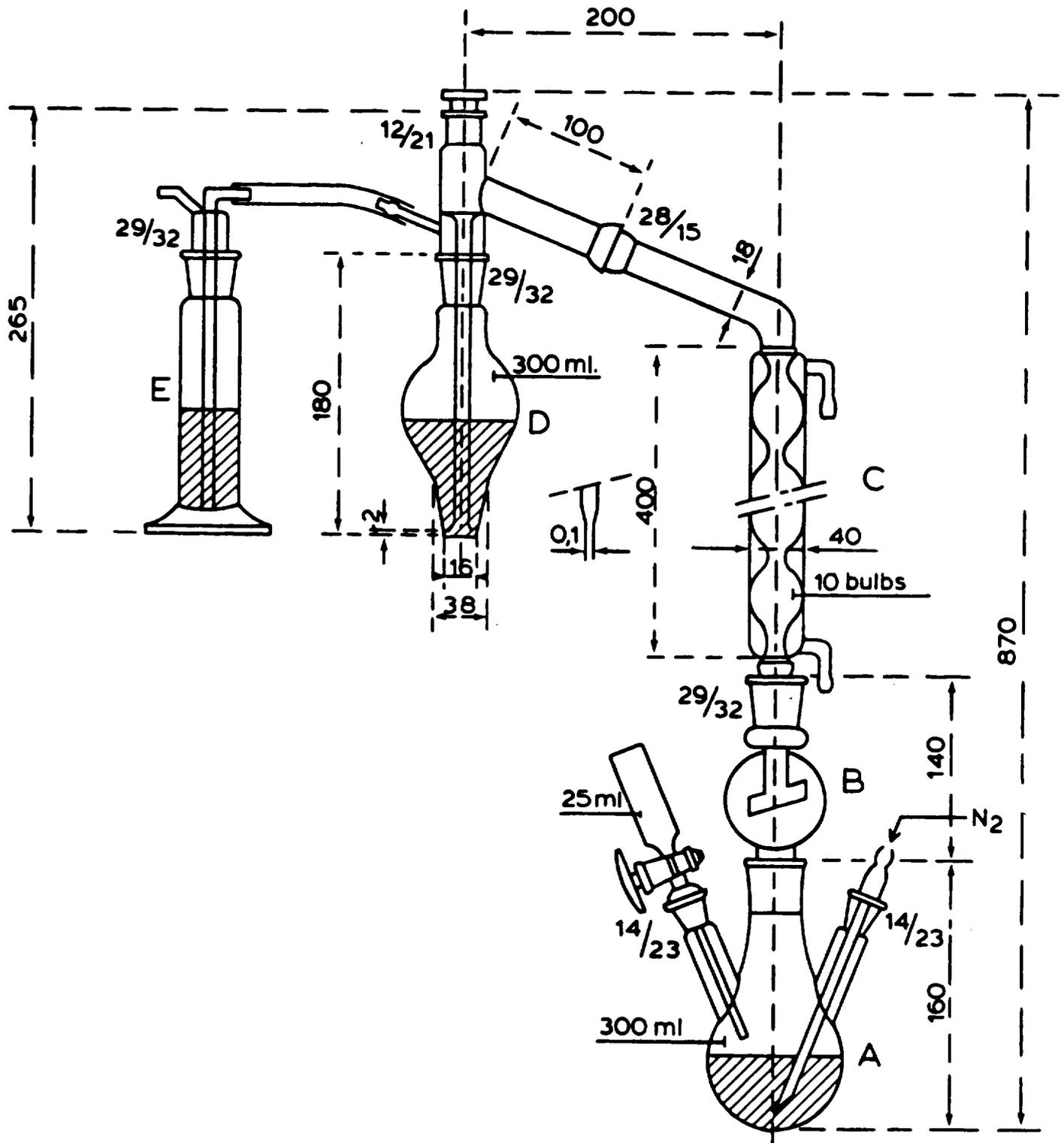
7. REPRODUCIBILIDAD (1)

Para un contenido en dióxido de azufre del 0,2 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,006 %.

(1) Según la norma ISO 2725.

Destilador de dióxido de azufre según Tanner

Todas las dimensiones se dan en mm



IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CLORATOS DE METALES ALCALINOS

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El método describe la identificación y determinación cuantitativa de los cloratos en los dentífricos y otros productos cosméticos.

A. IDENTIFICACIÓN

1. PRINCIPIO

Los cloratos se separan de los otros halatos por cromatografía en capa fina y se detectan por la formación de yodo producida por la oxidación del yoduro de potasio.

2. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

- 2.1. Soluciones patrón: soluciones acuosas de clorato, bromato y yodato de potasio al 0,2 % (m/v), recién preparados.
- 2.2. Disolvente de desarrollo: solución de amoníaco al 28 % (m/v)/acetona/butanol: 60/130/30 (v/v/v).
- 2.3. Solución acuosa de yoduro de potasio al 5 % (m/v).
- 2.4. Solución de almidón del 1 al 5 % (m/v).
- 2.5. Ácido clorhídrico M.
- 2.6. Placas de cromatografía en capa fina, ya preparadas, recubiertas con celulosa, de 0,25 mm de espesor.

3. EQUIPO

Material normal de laboratorio para cromatografía en capa fina.

4. PROCEDIMIENTO

- 4.1. Obtener el extracto acuoso de alrededor de 1g de muestra, filtrar y diluir hasta unos 25 ml.
- 4.2. Depositar sobre la placa (2.6) 2 µl de la solución (4.1) y 2 µl de cada una de las tres soluciones patrón (2.1).
- 4.3. Poner la placa en una cubeta y desarrollar por cromatografía ascendente sobre tres cuartos, aproximadamente, de la longitud de la placa con ayuda del disolvente (2.2).
- 4.4. Sacar la placa de la cubeta y dejar evaporar el disolvente (unas 2 horas).
- 4.5. Pulverizar sobre la placa la solución de yoduro de potasio (2.3) y dejar secar durante unos 5 minutos.
- 4.6. Pulverizar sobre la placa la solución de almidón (2.4) y dejar secar durante unos 5 minutos.
- 4.7. Pulverizar sobre la placa ácido clorhídrico (2.5).

5. LECTURA

En presencia de clorato aparece una mancha azul (eventualmente parda) después de una media hora.

Los valores de R_f son los siguientes:

Halato	R _f
Yodato	0 — 0,2
Bromato	0,5 — 0,6
Clorato	0,7 — 0,8

Los bromatos y yodatos reaccionan inmediatamente. Hay que cuidar de no confundir las manchas de bromatos y de cloratos.

B. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

1. DEFINICIÓN

El contenido de la muestra en clorato determinado según este método se expresa como porcentaje en masa de clorato.

2. PRINCIPIO

El clorato se reduce con polvo de cinc en medio ácido. El cloruro formado se valora por potenciometría con nitrato de plata. Una determinación similar previa a la reducción permite revelar la presencia eventual de haluros.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Ácido acético al 80 % (m/m).

3.2. Cinc en polvo

3.3. Solución patrón de nitrato de plata 0,1 M.

4. EQUIPO

4.1. Material normal de laboratorio.

4.2. Potenciómetro equipado con electrodo indicador de plata.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de la muestra

Pesar con precisión una cantidad (m) de unos 2g en un tubo de centrífuga. Añadir unos 15 ml de ácido acético (3.1) y mezclar cuidadosamente. Esperar 30 minutos y centrifugar durante 15 minutos a 2 000 rev/min. Decantar el sobrenadante en un matraz aforado de 50 ml. Repetir dos veces la centrifugación añadiendo 15 ml de ácido acético (3.1) al sedimento. Reunir las soluciones en el mismo matraz aforado y completar hasta la marca de enrase con ácido acético (3.1).

5.2. Reducción del clorato

Tomar 20 ml de la solución (5.1) y añadir 0,6 g de cinc en polvo (3.2). Llevar a ebullición en un matraz con condensador de reflujo. Después de 30 minutos de ebullición, dejar enfriar y filtrar. Enjuagar el matraz con agua y lavar con ella el filtro. Mezclar el filtrado y el agua del enjuague.

5.3. Determinación del cloruro

Valorar la solución (5.2) con nitrato de plata (3.3) utilizando el potenciómetro (4.2) Valorar de la misma forma 20 ml de la solución (5.1) con nitrato de plata (3.3).

Si el producto contiene derivados de bromo o de yodo que puedan liberar bromuros o yoduros tras la reducción, la curva de valoración presentará varios puntos de inflexión. En este caso, el volumen de la solución patrón (3.3) que corresponde al cloruro viene dado por la diferencia entre los volúmenes correspondientes al último y al penúltimo punto de inflexión.

6. CÁLCULO

El contenido de la muestra en clorato se calcula por la fórmula:

$$\% \text{ (m/m) de clorato} = \frac{20,9 (V-V') M}{m}$$

donde:

V = volumen en ml de la solución de nitrato de plata (3.3) utilizada para valorar la solución (5.2),

V' = volumen en ml de la solución de nitrato de plata (3.3) utilizada para valorar la solución (5.1),

M = molaridad de la solución de nitrato de plata (3.3),

m = masa en g de la muestra (5.1).

7. REPRODUCIBILIDAD (*)

Para un contenido en clorato del 3 al 5 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,07 % (m/m).

(*) Según la norma ISO 5725.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DEL YODATO SÓDICO

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El método sirve para la identificación y la determinación cuantitativa del yodato sódico en productos cosméticos que se eliminan inmediatamente después de usarse.

A. IDENTIFICACIÓN

1. PRINCIPIO

El yodato sódico se separa de los otros halatos por cromatografía en capa fina y se identifica por la oxidación del yoduro a yodo.

2. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

- 2.1 Soluciones patrón: soluciones acuosas de clorato, bromato y yodato de potasio al 0,01 % (m/v), recién preparadas.
- 2.2 Disolvente de desarrollo: solución de amoníaco al 28 % (m/v)/acetona/butanol: 60/130/30 (v/v/v).
- 2.3 Solución acuosa de yoduro de potasio al 5 % (m/v).
- 2.4 Solución de almidón del 1 al 5 % (m/v).
- 2.5 Ácido clorhídrico M.

3. EQUIPO

- 3.1 Placas de cromatografía en capa fina, ya preparadas, recubiertas con celulosa, de 0,25 mm de espesor.
- 3.2 Material normal de laboratorio para cromatografía en capa fina.

4. PROCEDIMIENTO

- 4.1 Obtener el extracto acuoso de alrededor de 1g de muestra, filtrar y diluir hasta unos 10 ml.
- 4.2 Depositar 2 µl de esta solución sobre la línea de base de la placa (3.1), así como 2 µl de cada una de las tres soluciones patrón (2.1).
- 4.3 Poner la placa en una cubeta y desarrollar por cromatografía ascendente sobre tres cuartos, aproximadamente, de la longitud de la placa con ayuda del disolvente (2.2).
- 4.4 Sacar la placa de la cubeta y dejar evaporar el disolvente a temperatura ambiente unas 2 horas.
- 4.5 Pulverizar sobre la placa la solución de yoduro de potasio (2.3) y dejar secar durante unos 5 minutos.
- 4.6 Pulverizar sobre la placa la solución de almidón (2.4) y dejar secar durante unos 5 minutos.
- 4.7 Pulverizar finalmente el ácido clorhídrico (2.5).

5. LECTURA

En presencia de yodato aparece inmediatamente una mancha azul (también puede ser parda o hacerse parda con el tiempo), con el valor de R_f aproximadamente entre 0 y 0,2.

Los bromatos reaccionan inmediatamente, con valores de R_f de 0,5 a 0,6, y los cloratos reaccionan después de unos 30 minutos, con valores de R_f de 0,7 a 0,8.

B. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA

1. DEFINICIÓN

El contenido de la muestra en yodato sódico determinado por este método se expresa como porcentaje en masa de yodato sódico.

2. PRINCIPIO

El yodato sódico se disuelve en agua y se determina por cromatografía líquida de alta presión (HPLC), utilizando una columna de fase inversa C18 y otra columna de intercambio amónico, dispuestas en serie.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica y, en particular, adecuados para HPLC.

- 3.1. Ácido clorhídrico, 4M.
- 3.2. Solución acuosa de sulfito sódico al 5 % (m/v).
- 3.3. Solución madre de yodato sódico: 50 mg de yodato sódico en 100 ml de agua.
- 3.4. Dihidrógeno-ortofosfato de potasio.
- 3.5. Ortofosfato disódico dihidratado.
- 3.6. Fase móvil para la HPLC: disolver 3,88g de dihidrógeno-ortofosfato de potasio (3.4) y 1,19g de ortofosfato disódico dihidratado (3.5) en 1l de agua.
El pH de la solución obtenida es 6,2.
- 3.7. Papel indicador universal, pH 1-11.

4. EQUIPO

Material normal de laboratorio

- 4.1. Filtro de papel de 110 mm de diámetro, Schleicher y Schüll nº 575 o equivalente.
- 4.2. Cromatógrafo de HPLC con detector ultravioleta de longitud de onda variable.
- 4.3. Dos columnas dispuestas en serie, cada una de 120 mm de longitud y 4,6 mm de diámetro interior; la primera columna rellena con Nucleosil (R) 5C18 o equivalente, y la segunda con Vydac, TM -301-SB o equivalente.

5. PROCEDIMIENTO

5.1. Preparación de la muestra

5.1.1. *Muestras fluidas (champúes)*

Pesar con precisión alrededor de 1,0 g de muestra en un matraz aforado de 10 ml con tapón esmerilado. Completar con agua hasta la marca de enrase y mezclar. En caso necesario filtrar la solución. Determinar la cantidad de yodato en la solución por HPLC siguiendo el punto 5.2.

5.1.2. *Muestras sólidas (jabón)*

Dividir finalmente una parte de la muestra y pesar con precisión alrededor de 1,0 g en una probeta graduada de 100 ml un tapón esmerilado. Completar con agua hasta 50 ml y agitar enérgicamente durante 1 minuto. Centrifugar y filtrar a través de un filtro de papel (4.1) o bien dejar reposar la mezcla durante una noche al menos, agitar enérgicamente la solución gelatinosa y filtrarla por un filtro de papel (4.1).

Determinar el yodato en el filtrado por HPLC siguiendo el punto 5.2.

5.2. Cromatografía

Flujo: 1 ml/min.

Longitud de onda del detector: 210 nm.

Volumen inyectado: 10 µl.

Medida: área del pico.

5.3. Calibración

Pipetear respectivamente 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 y 20,0 ml de la solución madre de yodato sódico (3.3) en matraces aforados de 50 ml, completar hasta la marca de enrase con agua y agitar. Las soluciones así obtenidas contienen respectivamente 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 y 0,20 mg de yodato sódico por ml. Inyectar 10 µl de cada solución patrón en el cromatógrafo (4.2). Determinar el área del pico del yodato y trazar la curva de calibración relacionando el área del pico del yodato con la concentración de yodato sódico.

6. CÁLCULO

Calcular el contenido en yodato sódico como porcentaje en masa según la fórmula:

$$\% \text{ (m/m) de yodato sódico} = \frac{Vc}{10 m}$$

donde:

- m = masa de la muestra (5.1), expresada en g,
V = volumen total, expresado en ml, de la solución de la muestra obtenida según el punto 5.1,
c = concentración de yodato sódico, expresada en mg/ml, obtenida a partir de la curva de calibración.

7. REPRODUCIBILIDAD (*)

Para un contenido en yodato sódico del 0,1 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas realizadas con la misma muestra no debe pasar del 0,002 %.

8. CONFIRMACIÓN

8.1. Principio

En una disolución acidificada de un producto cosmético, el yodato (IO_3^-) se reduce a yoduro (I^-) por la acción del sulfito y la solución obtenida se examina por HPLC. Si hay algún pico con un tiempo de retención que corresponde al tiempo de retención del yodato y desaparece después de tratar con sulfito, el pico original puede considerarse de yodato con la mayor probabilidad.

8.2. Procedimiento

Pipetear en un matraz Erlenmeyer 5 ml de la solución problema obtenida en el punto 5.1. Ajustar el pH de la solución a un valor inferior o igual a 3 utilizando ácido clorhídrico (3.1) y papel indicador universal (3.7). Añadir tres gotas de la solución de sulfito sódico (3.2) y agitar. Inyectar 10 μl de la solución en el cromatógrafo (4.2). Comparar el cromatograma con el obtenido de la forma descrita en el punto 5 para la misma muestra.

(*) Según la norma ISO 5725.