II

(Actos cuya publicación no es una condición para su aplicabilidad)

COMISIÓN

QUINTA DIRECTIVA 93/73/CEE DE LA COMISIÓN

de 9 de septiembre de 1993

relativa a los métodos de análisis necesarios para el control de la composición de los productos cosméticos

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

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 93/35/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 con el fin de comprobar si se respetan las condiciones previstas en las disposiciones comunitarias relativas a la composición de los productos cosméticos;

Considerando que conviene establecer lo más rápidamente posible todos los métodos de análisis necesarios y que con este fin se han realizado ya cuatro etapas con la adopción de la Directiva 80/1335/CEE de la Comisión (3), modificada por la Directiva 87/143/CEE (4), por la Directiva 82/434/CEE (5), modificada por la Directiva 90/207/CEE (6), las Directivas 83/514/CEE (7) y 85/490/CEE (8); que la identificación y determinación del nitrato de plata, la identificación y determinación del disulfuro de selenio en los champús anticaspa, la determinación del bario y estroncio solubles presentes en forma de sales o lacas en los pigmentos, la identificación y la determinación del alcohol bencílico, la identificación del circonio, la determinación del circonio, del aluminio y del cloro en los antitranspirantes sin aerosol y la identificación y determinación de hexamidina, de dibromohexamidina, de dibromopropamidina y de clorhexidina constituyen una quinta etapa;

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

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros adoptarán todas las medidas pertinentes a fin de que, con ocasión de los controles oficiales de los productos cosméticos:

— la identificación y determinación del nitrato de plata,

— la identificación y determinación del disulfuro de selenio presente en los champús anticaspa,

— la determinación del bario y estroncio solubles presentes en forma de sales o lacas en los pigmentos,

— la identificación y la determinación del alcohol bencílico,

— la identificación del circonio y la determinación del circonio, del aluminio y del cloro en los antitranspirantes sin aerosol,

— la identificación y determinación de hexamidina, de dibromohexamidina, de dibromopropamidina y de clorhexidina,

se efectúen con arreglo a los métodos descritos en el Anexo.

(1) DO nº L 262 de 27. 9. 1976, p. 169.
(2) DO nº L 151 de 23. 6. 1993, p. 32.
(3) DO nº L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.
(4) DO nº L 57 de 27. 2. 1987, p. 56.
(5) DO nº L 185 de 30. 6. 1982, p. 1.
(6) DO nº L 108 de 28. 4. 1990, p. 92.
(7) DO nº L 291 de 24. 10. 1983, p. 9.
(8) DO nº L 295 de 7. 11. 1985, p. 30.

Artículo 2

1. Los Estados miembros adoptarán las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas necesarias para cumplir la presente Directiva a más tardar el 30 de septiembre de 1994. Informarán inmediatamente de ello a la Comisión.

Cuando los Estados miembros adopten dichas disposiciones, éstas harán referencia a la presente Directiva o irán acompañadas de dicha referencia en su publicación oficial. Los Estados miembros establecerán las modalidades de la mencionada referencia.

2. Los Estados miembros comunicarán a la Comisión el texto de las disposiciones de Derecho interno que adopten en el ámbito regulado por la presente Directiva.

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 9 de septiembre de 1993.

Por la Comisión

Christiane SCRIVENER

Miembro de la Comisión

ANEXO

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL NITRATO DE PLATA

A. Identificación

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe la identificación del nitrato de plata como plata en productos cosméticos acuosos.

2. *Principio*

La plata se identifica por la formación de un precipitado blanco característico con los iones de cloruro.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos deberán ser de calidad analítica.

3.1. Disolución de ácido clorhídrico (2 M).

3.2. Disolución de amoníaco : diluir una disolución de amoníaco concentrado (d_{20} = 0,88 g/ml) con una cantidad igual de agua, y mezclarlo.

3.3. Disolución de ácido nítrico (2 M).

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. Centrífuga.

5. *Procedimiento*

5.1. Añadir unas gotas de disolución de ácido clorhídrico diluido (3.1) a 1 g, aproximadamente, de muestra en un tubo de centrífuga hasta que se efectúe la precipitación en su totalidad ; mezclar y centrifugar.

5.2. Retirar el líquido sobrenadante, lavar el precipitado con 5 gotas de agua fría. Desechar el líquido de lavado.

5.3. Añadir una cantidad de agua igual al volumen del precipitado en el tubo de centrífuga. Calentar hasta la ebullición y agitar.

5.4. Centrifugar en caliente ; retirar el líquido sobrenadante.

5.5. Añadir al precipitado unas gotas de la disolución de amoníaco diluido (3.2) ; mezclar y centrifugar.

5.6. En una placa de vidrio añadir a una gota del líquido sobrenadante unas cuantas gotas de la disolución de ácido nítrico 2 M (3.3).

5.7. La formación de un precipitado blanco indica la presencia de plata.

B. Determinación

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método es adecuado para la determinación del nitrato de plata expresado en plata en productos cosméticos destinados a teñir pestañas o cejas.

2. *Principio*

Se determina la plata presente en el producto por espectrometría de absorción atómica.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos deberán ser de calidad analítica.

3.1. Disolución de ácido nítrico 0,02 M.

3.2. Disoluciones patrón de plata.

3.2.1. Disolución patrón madre, de 1 000 µg/ml en una disolución de ácido nítrico 0,5 M (« SpectrosoL » o equivalente).

3.2.2. Disolución patrón de plata de 100 µg/ml : pipetear 10 ml de la disolución patrón madre de plata (3.2.1) en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con disolución de ácido nítrico 0,02 M (3.1) y mezclar. Esta disolución patrón deberá estar recientemente preparada y conservarse en un frasco de vidrio oscuro.

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de lámpara de cátodo hueco de plata.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

Pesar con precisión aproximadamente 0,1 g (m gramos) de una muestra homogénea del producto. Trasvasarla cuantitativamente a un matraz aforado de 1 l, enrasar con disolución de ácido nítrico 0,02 M (3.1) y mezclar.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : aire-acetileno

Longitud de onda : 338,3 nm

Corrección de fondo : sí

Condición del combustible : pobre ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 ml de la disolución patrón de plata (3.2.2) en matraces aforados de 100 ml. Enrasar con disolución de ácido nítrico 0,02 M (3.1) y mezclar.

Las disoluciones así obtenidas contienen respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 µg de plata por mililitro.

5.3.2. Medir la absorbancia de la disolución de ácido nítrico 0,02 M (3.1) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de plata para la curva patrón.

Medir la absorbancia de cada patrón de calibración de plata (5.3.1) y trazar una curva patrón que relacione los valores de absorbancia con las concentraciones de plata.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la disolución muestra (5.1). De la curva patrón deducir la concentración de plata correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la disolución muestra.

6. *Cálculo*

Calcular el contenido de nitrato de plata, en porcentaje de masa (% m/m), empleando la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de nitrato de plata} = \frac{1{,}5748 \times c}{10 \times m}$$

siendo :

m = masa, en gramos de la muestra analizada (5.1)

c = concentración de plata en la disolución muestra (5.1), en microgramos por mililitro, obtenida a partir de la curva patrón.

7. *Repetibilidad*(1)

Para un contenido de nitrato de plata del 4 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no debe sobrepasar el 0,05 % (m/m).

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL DISULFURO DE SELENIO PRESENTE EN LOS CHAMPÚS ANTICASPA

A. Identificación

1. *Objeto y campo de aplicación*

En el presente método se describe la identificación del disulfuro de selenio, como selenio, en los champús anticaspa.

2. *Principio*

El selenio se reconoce por el color característico, entre amarillo y naranja, producido por la reacción con urea y yoduro potásico.

(1) ISO 5725.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser de calidad analítica.

3.1. Acido nítrico concentrado (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Urea.

3.3. Disolución de yoduro potásico (10 % m/v) : disolver 10 g de yoduro potásico en 100 ml de agua.

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. Tubo de digestión de 100 ml de capacidad.

4.3. Bloque de digestión por calor.

4.4. Papel de filtro (Whatman nº 42 o equivalente) o un filtro de membrana de 0,45 µm.

5. *Procedimiento*

5.1. En un tubo de digestión (4.2), añadir 2,5 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) a 1 g de champú aproximadamente y dejar digerir media hora a 150 °C en un bloque de digestión por calor (4.3).

5.2. Diluir la muestra digerida con agua hasta 25 ml y filtrarla con un papel de filtro o con un filtro de membrana de 0,45 µm (4.4).

5.3. Añadir 5 ml de agua y 2,5 g de urea (3.2) a 2,5 ml del filtrado y hervir. Dejar enfriar y añadir 1 ml de disolución de yoduro potásico (3.3).

5.4. Un color entre amarillo y naranja, que se obscurece rápidamente en reposo, indica la presencia de selenio.

B. Determinación

1. *Objeto y campo de aplicación*

El presente método sirve para determinar la presencia de disulfuro de selenio, como selenio, en los champús anticaspa que contengan hasta 4,5 % (m/m) de disulfuro de selenio.

2. *Principio*

La muestra se digiere con ácido nítrico y el selenio resultante de la digestión se determina por espectrometría de absorción atómica.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser de calidad analítica.

3.1. Ácido nítrico concentrado (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Disolución de ácido nítrico al 5 % (v/v) : añadir 50 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) a 500 ml de agua en un vaso de precipitados, agitándolo sin cesar. Trasvasar esta disolución a un matraz aforado de 1 litro y enrasarla con agua.

3.3. Disolución patrón madre de selenio de 1 000 µg/ml en disolución de ácido nítrico 0,5 M (« SpectrosoL » o equivalente).

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. Tubo de digestión con una capacidad de 100 ml.

4.3. Bloque de digestión por calor.

4.4. Papel de filtro (Whatman nº 42 o equivalente) o un filtro de membrana de 0,45 µm.

4.5. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de lámpara de cátodo hueco de selenio.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra.

5.1.1. Pesar con precisión una muestra homogénea de champú de 0,2 g (m gramos), aproximadamente, en un tubo de digestión (4.2).

5.1.2. Añadir 5 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) y dejar digerir a 150 °C durante una hora en un bloque de digestión por calor (4.3).

5.1.3. Dejar enfriar la disolución y diluir hasta 100 ml con agua. Filtrarla con un papel de filtro o con un filtro de membrana de 0,45 µm (4.4), y guardar la disolución filtrada para la determinación.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : aire-acetileno

Longitud de onda : 196,0 nm

Corrección de fondo : sí

Condición del combustible : pobre ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 ml de disolución patrón madre de selenio (3.3) en matraces aforados de 100 ml. Enrasar cada uno de ellos con disolución de ácido nítrico al 5 % (v/v) (3.2) y mezclar. Estas disoluciones contienen 10, 20, 30, 40 y 50 µg de selenio por mililitro, respectivamente.

5.3.2. Medir la absorbancia de la disolución de ácido nítrico al 5 % (3.2) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de selenio para la curva patrón. Medir la absorbancia de cada patrón de calibración de selenio (5.3.1). Trazar una curva patrón que relacione los valores de absorbancia con las concentraciones de selenio.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la disolución muestra (5.1.3). De la curva patrón deducir la concentración de selenio correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la disolución muestra.

6. *Cálculo*

Calcular el contenido de disulfuro de selenio en porcentaje de masa (% m/m), utilizando la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de disulfuro de selenio} = \frac{1{,}812 \times c}{100 \times m}$$

siendo :

m = masa en gramos de la muestra analizada (5.1.1)

c = concentración de selenio en la disolución (5.1.3) en microgramos por mililitro obtenida de la curva patrón.

7. *Repetibilidad* (1)

Para un contenido de disulfuro de selenio de 1 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no debe exceder del 0,05 % (m/m).

DETERMINACIÓN DEL BARIO Y ESTRONCIO SOLUBLES PRESENTES EN FORMA DE SALES O LACAS EN LOS PIGMENTOS

A. Determinación del bario soluble

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe el procedimiento para extraer y determinar el bario soluble presente en forma de sales o lacas en los pigmentos.

2. *Principio*

La extracción a partir del pigmento se efectúa con una disolución de ácido clorhídrico 0,07 M en las condiciones definidas, y la cantidad de bario en el extracto se determina por espectrometría de absorción atómica.

(1) ISO 5725.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Etanol absoluto.

3.2. Disolución de ácido clorhídrico, 0,07 M.

3.3. Disolución de ácido clorhídrico, 0,5 M.

3.4. Disolución de cloruro potásico al 8 % (m/v) : disolver 16 g de cloruro potásico en 200 ml de disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2).

3.5. Disoluciones patrón de bario

3.5.1. Disolución patrón madre de bario : 1 000 µg/ml en disolución de ácido nítrico 0,5 M (« SpectrosoL » o equivalente).

3.5.2. Disolución patrón de bario de 200 µg/ml : pipetear 20,0 ml de la disolución patrón madre de bario (3.5.1) en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar.

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. pH-metro con una precisión de ± 0,02 unidades.

4.3. Agitador de matraces que reproduzca la agitación manual (preferiblemente con vástago oscilante).

4.4. Filtro de membrana con un tamaño de poro de 0,45 µm.

4.5. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de una lámpara de cátodo hueco de bario.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

5.1.1. Pesar con precisión unos 0,5 g (m gramos) de pigmento y verterlos en un matraz cónico. Para obtener un volumen suficiente que asegure una agitación eficaz, no utilizar un matraz de menos de 150 ml de capacidad.

5.1.2. Pipetear 1,0 ml de etanol (3.1) y girar el matraz para que el pigmento se humedezca completamente. Añadir con una bureta la cantidad exacta de disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) hasta obtener una proporción volumen de ácido/masa de pigmento de exactamente 50 mililitros por gramo. Hacer que el volumen total de extracto, incluido el etanol, sea V ml. Hacer remolinos en el contenido del matraz durante 5 segundos para que se mezcle bien.

5.1.3. Medir con un pH-metro (4.2) el pH de la suspensión resultante y si es superior a 1,5 añadir más gotas de la disolución de ácido clorhídrico 0,5 M (3.3) hasta que baje entre 1,4 y 1,5.

5.1.4. Tapar y agitar inmediatamente el matraz durante 60 minutos utilizando un agitador de matraces (4.3). El agitador funcionará a una velocidad lo suficientemente alta para formar espuma. Filtrar con un filtro de membrana de 0,45 µm (4.4) y recoger el filtrado. Centrifugar con posterioridad. Pipetear 5,0 ml del filtrado en un matraz aforado de 50 ml, enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar. Esta disolución se utiliza también para la determinación del estroncio (parte B).

5.1.5. Pipetear en un matraz aforado de 100 ml 5,0 ml de disolución de cloruro potásico (3.4) y una parte alícuota (W_{Ba} ml) del filtrado diluido (5.1.4) para conseguir una concentración de entre 3 y 10 µg de bario por mililitro (una parte alícuota de 10 ml debería ser un punto de partida satisfactorio). Enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar.

5.1.6. Determinar la concentración de bario en la disolución (5.1.5) el mismo día mediante espectrometría de absorción atómica.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : óxido nitroso/acetileno

Longitud de onda : 553,5 nm

Corrección de fondo : no

Condición del combustible : pobre ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 ml de la disolución patrón de bario (3.5.2) en matraces aforados de 100 ml. Pipetear en cada matraz 5,0 ml de disolución de cloruro potásico (3.4). Enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar. Estas disoluciones contienen 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 y 10,0 µg de bario por mililitro respectivamente.

De forma similar, preparar una disolución blanco omitiendo la disolución patrón de bario.

5.3.2. Medir la absorbancia de la disolución blanco (5.3.1) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de bario para la curva patrón. Medir la absorbancia de cada patrón de calibración de bario (5.3.1). Trazar una curva patrón, que relacione los valores de absorbancia con las concentraciones de bario.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la disolución muestra (5.1.5). De la curva patrón obtener la concentración de bario correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la disolución muestra.

6. *Cálculo*

El contenido en bario soluble (% m/m) del pigmento se calcula mediante la fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de bario soluble} = \frac{c \times V}{10 W_{Ba} \times m}$$

siendo :

m = masa de la muestra analizada expresada en g (5.1.1)

c = concentración de bario en la disolución muestra (5.1.5) en microgramos por mililitro obtenida de la curva patrón

V = volumen total de extracto expresado en mililitros (5.1.2)

W_{Ba} = volumen de extracto obtenido en 5.1.5, expresado en mililitros.

7. *Repetibilidad*

El mejor valor estimado de repetibilidad (ISO 5725) para este método es 0,3 % para un contenido de bario soluble de 2 % (m/m).

8. *Nota*

8.1. Bajo ciertas condiciones la absorbancia del bario puede aumentar por la presencia de calcio. Esto se puede contrarrestar añadiendo ion magnesio a una concentración de 5 g por litro (1).

8.2. El uso de la espectrometría de emisión en plasma de acoplamiento inductivo (ICP) se permite como una alternativa a la espectrometría de absorción atómica de llama.

B. Determinación del estroncio soluble

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe el procedimiento para extraer y determinar las cantidades de estroncio soluble presentes en forma de sales o lacas en los pigmentos.

2. *Principio*

La extracción a partir del pigmento se efectúa con una disolución de ácido clorhídrico 0,07 M en las condiciones definidas, y la cantidad de estroncio soluble presente en el extracto se determina por espectrometría de absorción atómica.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Etanol absoluto.

3.2. Disolución de ácido clorhídrico (0,07 M).

3.3. Disolución de cloruro potásico, 8 % (m/v) : disolver 16 g de cloruro potásico en 200 ml de disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2).

(1) *Magnesium as modifier for the determination of barium by flame atomic emission spectrometry*, Jerrow M. et al ; *Analytical Proceedings*, 1991, 28, 40.

3.4. Disoluciones patrón de estroncio.

3.4.1. Disolución patrón madre de estroncio : 1 000 µg/ml en disolución de ácido nítrico 0,5 M (« SpectrosoL » o equivalente).

3.4.2. Disolución patrón de estroncio de 100 µg/ml : pipetear 10,0 ml de la disolución patrón madre de estroncio (3.4.1) en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar.

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Material habitual de laboratorio.

4.2. Filtro de membrana con un tamaño de poro de 0,45 µm.

4.3. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de una lámpara de cátodo hueco de estroncio.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

Para determinar el contenido de estroncio soluble, se utiliza la disolución preparada en A 5.1.4.

5.1.1. Pipetear en un matraz aforado de 100 ml 5,0 ml de disolución de cloruro potásico (3.3) y una parte alícuota (W_{Sr} ml) del filtrado diluido (A 5.1.4) para conseguir una concentración de entre 2 y 5 µg de estroncio por mililitro (una parte alícuota de 25 ml debería ser un punto de partida satisfactorio). Enrasar con disolución de ácido clorhídrico 0,07 M (3.2) y mezclar.

5.1.2. Determinar la concentración de estroncio de la disolución (5.1.1) el mismo día mediante espectrometría de absorción atómica.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : óxido nitroso/acetileno

Longitud de onda : 460,7 nm

Corrección de fondo : no

Condición del combustible : pobre ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 ml de la disolución patrón de estroncio (3.4.2), en una serie de matraces aforados de 100 ml. Añadir con pipeta a cada uno de ellos 5,0 ml de disolución de cloruro potásico (3.3) ; enrasarlos con disolución 0,07 M de ácido clorhídrico (3.2) y mezclar. Estas disoluciones contienen 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 µg de estroncio por mililitro, respectivamente.

De forma similar, preparar una disolución blanco, omitiendo la disolución patrón de estroncio.

5.3.2. Medir la absorbancia de la disolución blanco (5.3.1) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de estroncio para la curva patrón. Medir la absorbancia de cada patrón de calibrado (5.3.1). Trazar una curva patrón que relacione los valores de absorbancia con las concentraciones de estroncio.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la disolución de la muestra (5.1.1). De la curva patrón deducir la concentración de estroncio correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la disolución de la muestra.

6. *Cálculo*

El contenido en estroncio soluble (% m/m) del pigmento se calcula mediante la fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de estroncio soluble} = \frac{c \times V}{10 W_{Sr} \times m}$$

siendo :

m = masa de la muestra analizada expresada en gramos (A 5.1.1)

c = concentración de estroncio en la disolución muestra (5.1.1), en microgramos por mililitro, obtenida de la curva patrón

V = volumen del extracto en mililitros (A. 5.1.2)

W_{Sr} = volumen de extracto, en mililitros, obtenido en 5.1.1

7. *Repetibilidad*

El mejor valor estimado de la repetibilidad (ISO 5725) para este método es 0,09 % para un contenido de estroncio soluble del 0,6 % (m/m).

8. *Nota*

El uso de la espectrometría de emisión óptica en plasma de acoplamiento inductivo (ICP) se permite como una alternativa a la espectrometría de absorción atómica de llama.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE ALCOHOL BENCÍLICO EN PRODUCTOS COSMÉTICOS

A. Identificación

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe la identificación de alcohol bencílico en productos cosméticos.

2. *Principio*

El alcohol bencílico se identifica mediante cromatografía en capa fina sobre placas de gel de sílice.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Alcohol bencílico.

3.2. Cloroformo.

3.3. Etanol absoluto.

3.4. n-pentano.

3.5. Fase móvil : éter dietílico.

3.6. Disolución patrón de alcohol bencílico : pesar 0,1 g de alcohol bencílico (3.1) en un matraz aforado de 100 ml, enrasar con etanol (3.3) y mezclar.

3.7. Placas de cromatografía en capa fina, de vidrio de 100 mm × 200 mm o de 200 mm × 200 mm, recubiertas con una capa de 0,25 mm de gel de sílice 60 F_{254}.

3.8. Disolución de revelado ácido 12-fosfomolíbdico 10 % (m/v) en etanol (3.3).

4. *Material y equipo instrumental*

4.1. Equipo usual para cromatografía en capa fina.

4.2. Cubeta de cromatografía, cámara de compartimento doble, con las siguientes dimensiones aproximadas : 80 mm × 230 mm × 240 mm.

4.3. Papel de cromatografía : Whatman o similar.

4.4. Lámpara de luz ultravioleta de longitud de onda de 254 nm.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

Pesar 1,0 g del producto a analizar en un matraz aforado de 10 ml. Añadir 3 ml de cloroformo (3.2) y agitar enérgicamente hasta que se disperse el producto. Enrasar con etanol (3.3) y agitar enérgicamente hasta obtener una disolución límpida o prácticamente límpida.

5.2. Cromatografía en capa fina

5.2.1. Saturar la cubeta de cromatografía (4.2) con n-pentano (3.4) de la forma siguiente : revestir con papel de cromatografía (4.3) la pared de la cámara adyacente al compartimento posterior, asegurándose de que el borde inferior del papel se encuentra en el compartimento. Añadir 25 ml de n-pentano (3.4) al compartimento posterior, vertiendo este disolvente sobre el revestimiento de papel de cromatografía. Colocar la tapa inmediatamente y dejar saturarse la cubeta durante 15 minutos.

5.2.2. Depositar 10 µl de disolución de muestra (5.1) y 10 µl de disolución patrón de alcohol bencílico (3.6) en puntos adecuados a lo largo de la línea de partida de la placa (3.7). Dejarlos secar.

5.2.3. Pipetear 10 ml de éter dietílico (3.5) en el compartimento delantero de la cubeta e inmediatamente después colocar la placa (5.2.2) dentro de dicho compartimento. Colocar inmediatamente la tapa de la cubeta y desarrollar la placa hasta 150 mm. Sacar la placa de la cubeta de cromatografía y dejarla secar a temperatura ambiente.

5.2.4. Observar la placa (5.2.3) bajo la luz ultravioleta y marcar la posición de las manchas violetas. Pulverizar la placa con la disolución de revelado (3.8) y a continuación calentarla a 120 °C durante unos 15 minutos. El alcohol bencílico aparecerá como una mancha azul oscuro.

5.2.5. Calcular el valor de Rf de la disolución patrón de alcohol bencílico. La aparición de una mancha azul oscuro con el mismo valor de Rf que el obtenido para la disolución de muestra, indica la presencia de alcohol bencílico.

Límite de detección : 0,1 µg de alcohol bencílico.

B. Determinación

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe la determinación de alcohol bencílico en productos cosméticos.

2. *Definición*

El contenido en alcohol bencílico determinado por este método se expresa en porcentaje de masa (% m/m).

3. *Principio*

Se extrae la muestra con metanol y se determina la cantidad de alcohol bencílico en el extracto mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR).

4. *Reactivos*

Todos los reactivos deberán ser de pureza analítica y adaptados para CLAR cuando sea preciso.

4.1. Metanol.

4.2. 4-Etoxifenol.

4.3. Alcohol bencílico.

4.4. Fase móvil : metanol (4.1) /agua (45 : 55 ; v/v).

4.5. Disolución patrón madre de alcohol bencílico : pesar con exactitud alrededor de 0,1 g de alcohol bencílico (4.3) en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con metanol (4.1) y mezclar.

4.6. Disolución madre de patrón interno : pesar con exactitud alrededor de 0,1 g de 4-etoxifenol (4.2) en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con metanol (4.1) y mezclar.

4.7. Disoluciones patrón : pipetear en una serie de matraces aforados de 25 ml los volúmenes correspondientes de disolución patrón madre de alcohol bencílico (4.5) y de disolución madre de patrón interno (4.6), de acuerdo con la tabla siguiente. Enrasar con metanol (4.1) y mezclar.

Disolución patrón	Concentración de alcohol bencílico		Concentración de 4-etoxifenol	
	(4.5) en ml añadida	µg/ml (*)	(4.6) en ml añadida	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

(*) Estos valores se dan a título indicativo y corresponden a las concentraciones de disoluciones patrón preparadas con disolución de alcohol bencílico (4.5) y de 4-etoxifenol (4.6) que contiene exactamente 0,1 % (m/v) de alcohol bencílico y 0,1 % (m/v) de 4-etoxifenol, respectivamente.

5. *Material y equipo instrumental*

5.1. Material habitual de laboratorio.

5.2. Equipo de cromatografía de alta resolución con detector ultravioleta de longitud de onda variable y un bucle de inyección de 10 µl.

5.3. Columna analítica : columna de acero de 250 mm × 4,6 mm rellena de Spherisorb ODS de 5 µm o equivalente.

5.4. Baño de agua.

5.5. Baño de ultrasonidos.

5.6. Centrífuga.

5.7. Tubos de centrífuga de 15 ml de capacidad.

6. *Procedimiento*

6.1. Preparación de la muestra

6.1.1. Pesar con exactitud alrededor de 0,1 g (m gramos) de la muestra en un tubo de centrífuga (5.7) y añadir 5 ml de metanol (4.1).

6.1.2. Calentar durante 10 minutos en un baño de agua (5.4) a una temperatura constante de 50 °C, colocar a continuación el tubo en un baño de ultrasonidos (5.5) hasta dispersión completa de la muestra.

6.1.3. Enfriar y centrifugar a 3 500 rpm durante 5 minutos.

6.1.4. Transferir el líquido sobrenadante a un matraz aforado de 25 ml.

6.1.5. Volver a extraer la muestra con otros 5 ml de metanol (4.1). Recoger los extractos en el matraz aforado de 25 ml.

6.1.6. Pipetear 2,0 ml de la disolución madre de patrón interno (4.6) en el matraz aforado de 25 ml (6.1.5.). Enrasar con metanol (4.1) y mezclar. Esta disolución se utilizará en la fase cromatográfica del análisis que se describe en 6.4.

6.2. Cromatografía

6.2.1. Ajustar el equipo de cromatografía líquida de alta resolución (5.2) de la forma habitual. Fijar el flujo de la fase móvil (4.4) en 2,0 ml por minuto.

6.2.2. Fijar la longitud de onda del detector UV (5.2) en 210 nm.

6.3. Calibración

6.3.1. Inyectar 10 µl de cada una de las disoluciones patrón (4.7) y medir las áreas de los picos de alcohol bencílico y de 4-etoxifenol.

6.3.2. Para cada disolución patrón de alcohol bencílico (4.7) calcular la relación entre las áreas de los picos del alcohol bencílico y del 4-etoxifenol. Construir una curva de calibrado situando estos valores en el eje de ordenadas y las concentraciones correspondientes de alcohol bencílico en µg por mililitro en el eje de abscisas.

6.4. Determinación

6.4.1. Inyectar 10 µl de la disolución de la muestra (6.1.6) y medir las áreas de los picos de alcohol bencílico y de 4-etoxifenol. Calcular la relación entre las áreas de los picos del alcohol bencílico y del 4-etoxifenol. Repetir este proceso con otras alícuotas de 10 µl de disolución de muestra hasta obtener resultados repetitivos.

6.4.2. De la curva de calibrado (6.3.2) obtener la concentración de alcohol bencílico correspondiente a la relación de áreas de los picos del alcohol bencílico y 4-etoxifenol.

7. *Cálculo*

Calcular el contenido de alcohol bencílico en la muestra en porcentaje de masa, mediante la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de alcohol bencílico} = \frac{c}{400 \times m}$$

donde :

m = masa en gramos de la muestra analizada (6.1.1)

c = concentración de alcohol bencílico en la disolución muestra (6.1.6), en microgramos por mililitro, determinada a partir de la curva de calibrado.

8. *Repetibilidad* (1)

Para una concentración del 1 % (m/m) de alcohol bencílico, la diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas paralelamente sobre la misma muestra no deberá exceder el 0,10 %.

(1) ISO 5725.

IDENTIFICACIÓN DEL CIRCONIO Y DETERMINACIÓN DEL CIRCONIO, DEL ALUMINIO Y DEL CLORO EN LOS ANTITRANSPIRANTES SIN AEROSOL

Este método comprende cinco fases :

A. Identificación del circonio

B. Determinación del circonio

C. Determinación del aluminio

D. Determinación del cloro

E. Cálculo de las proporciones de átomos de circonio respecto a los átomos de aluminio y de los átomos de aluminio más los átomos de circonio respecto a los átomos de cloro

A. **Identificación del circonio**

1. *Objetivo y ámbito de aplicación*

Este método describe la identificación del circonio en los productos cosméticos antitranspirantes sin aerosol. No se ha intentado describir métodos para identificar el compuesto de cloruro hidróxido de aluminio y circonio [$Al_xZR(OH)_yCl_z.nH_2O$].

2. *Principio*

El circonio se reconoce por el precipitado de color rojo-violeta característico que se produce con rojo de alizarina S en medio muy ácido.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser analíticamente puros.

3.1. Ácido clorhídrico concentrado (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Solución de rojo de alizarina S (CI.58005) : 2 % (m/v) de sulfato acuoso de alizarina sódica.

4. *Equipo*

4.1. Equipo normal de laboratorio.

5. *Procedimiento*

5.1. En un tubo de ensayo añadir 2 ml de agua por 1 g aproximadamente de muestra. Tapar y agitar.

5.2. Añadir 3 gotas de solución de rojo de alizarina S (3.2) y a continuación 2 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.1). Tapar y agitar.

5.3. Dejar reposar durante 2 minutos aproximadamente.

5.4. Una solución y un precipitado sobrenadante de color rojo violeta indica la presencia de circonio.

B. **Determinación del circonio**

1. *Objetivo y ámbito de aplicación*

El presente método sirve para determinar la presencia de circonio en los compuestos de cloruro hidróxido de aluminio y circonio hasta una concentración máxima de 7,5 % (m/m) de circonio en antitranspirantes sin aerosol.

2. *Principio*

El circonio se extrae del producto en medio ácido y se determina por espectrometría de absorción atómica.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser analíticamente puros.

3.1. Ácido clorhídrico, concentrado (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Solución de ácido clorhídrico, 10 % (v/v) : añadir 100 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.1) a 500 ml de agua en un vaso de precipitados, agitándolo sin cesar. Transvasar esta solución a un matraz aforado de 1 litro y enrasar con agua.

3.3. Solución madre de circonio, 1 000 µg/ml en 0,5 M de solución de ácido clorhídrico (« SpectrosoL » o equivalente).

3.4. Reactivo de cloruro de aluminio (hidratado) ($AlCl_3.6H_2O$) : disolver 22,6 g de hexahidrato de cloruro de aluminio en 250 ml de solución de ácido clorhídrico al 10 % (3.2).

3.5. Reactivo de cloruro de amonio : disolver 5 g de cloruro de amonio en 250 ml de solución de ácido clorhídrico al 10 % (v/v) (3.2).

4. *Equipo*

4.1. Equipo normal de laboratorio.

4.2. Hornillo con agitador magnético.

4.3. Papel de filtro (Whatman nº 41 o equivalente).

4.4. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de lámpara de cátodo hueco de circonio.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

5.1.1. Pesar con precisión una muestra homogénea de aproximadamente 1 g (m gramos) del producto en un vaso de precipitados de 150 ml. Añadir 40 ml de agua y 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.1).

5.1.2. Colocar el vaso de precipitados sobre el hornillo con agitador magnético (4.2). Remover y llevar a ebullición. Para evitar el secado rápido, colocar un vidrio de reloj sobre el vaso de precipitados. Hervir durante 5 minutos, apartar el vaso del hornillo y enfriar a temperatura ambiente.

5.1.3. Utilizando el papel de filtro (4.3), filtrar el contenido del vaso de precipitados y transvasarlo a un matraz aforado de 100 ml. Enjuagar el vaso de precipitados con dos partes de agua de 10 ml, y añadir los productos de lavado al matraz, una vez filtrados. Enrasar con agua y mezclar. Esta solución se emplea también para la determinación del aluminio (parte C).

5.1.4. Pipetear a un matraz aforado de 50 ml (5.1.3) 20 ml de la solución de muestra, 5,0 ml de reactivo de cloruro de aluminio (3.4) y 5,0 ml de reactivo de cloruro de amonio (3.5). Enrasar con la solución de ácido clorhídrico al 10 % (v/v) (3.2) y mezclar.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : óxido nitroso/acetileno

Longitud de onda : 360,1 nm

Corrección de fondo : no

Condición del combustible : rico ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 5,0 ; 10.0 ; 15,0 ; 20,0 y 25,0 ml de solución patrón madre de circonio (3.3) en matraces aforados de 50 ml. Pipetar en cada matraz aforado 5,0 ml de reactivo de cloruro de aluminio (3.4) y 5,0 ml de reactivo de cloruro de amonio (3.5). Enrasar con solución de ácido clorhídrico al 10 % (v/v) (3.2) y mezclar. Estas soluciones contienen 100, 200, 300, 400 y 500 µg de circonio por mililitro, respectivamente.

De la misma manera, preparar un blanco omitiendo la solución patrón de circonio.

5.3.2. Medir la absorbancia del blanco (5.3.1) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de circonio para la curva de calibración. Medir la absorbancia de cada valor de calibración del circonio (5.3.1). Trazar una curva de calibración correspondiente a los valores de absorbancia de cada concentración de circonio.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la solución de muestra (5.1.4). A partir de la curva de calibración, anotar la concentración de circonio correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la solución de la muestra.

6. *Cálculo*

Calcular el contenido de circonio en la muestra, en porcentaje de masa, utilizando la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de circonio} = \frac{c}{40 \times m}$$

siendo :

m = la masa en gramos de la muestra analizada (5.1.1), y

c = la concentración de circonio en la solución de muestra (5.1.4) en microgramos por mililitro obtenida mediante la curva de calibración.

7. *Reproducibilidad* (1)

Para un contenido de circonio de 3 % (m/m), la diferencia entre los resultados de las dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no debería exceder del 0,10 % (m/m).

8. *Observaciones*

Se permite el uso de plasma-inductivo — espectrometría de emisión óptica como alternativa a la espectrometría de llama de absorción atómica.

C. Determinación del aluminio

1. *Objetivo y ámbito de aplicación*

El presente método sirve para determinar la presencia de aluminio en los compuestos de hidróxido de cloruro de circonio y aluminio en los antitranspirantes sin aerosol hasta 12 % (m/m) de aluminio.

2. *Principio*

El aluminio se extrae del producto en condiciones de acidez y se determina por espectrometría de absorción atómica.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser analíticamente puros.

3.1. Ácido clorhídrico concentrado (d_{20} = 1,18 g/ml).

3.2. Solución de ácido clorhídrico 1 % (v/v) : en un vaso de precipitados añadir 10 ml de ácido clorhídrico concentrado (3.1) a 500 ml de agua removiendo sin cesar. Trasvasar esta solución a un matraz aforado de 1 litro y enrasar con agua.

3.3. Solución madre patrón de aluminio, 1 000 µg/ml en 0,5 M de solución de ácido nítrico (« SpectrosoL » o equivalente).

3.4. Reactivo de cloruro de potasio : disolver 10,0 g de cloruro de potasio en 250 ml de solución de ácido clorhídrico (3.2) al 1 % (v/v).

4. *Equipo*

4.1. Equipo normal de laboratorio.

4.2. Espectrofotómetro de absorción atómica dotado de lámpara de cátodo hueco de aluminio.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

La solución preparada en B.5.1.3 se utiliza para determinar el contenido de aluminio.

5.1.1. Pipetear en un matraz de 100 ml 5,0 ml de la solución de muestra (B.5.1.3) y 10,0 ml del reactivo de cloruro de potasio (3.4). Enrasar con la solución al 1 % (v/v) de ácido clorhídrico (3.2) y mezclar.

5.2. Condiciones para la espectrometría de absorción atómica

Llama : óxido nitroso/acetileno

Longitud de onda : 309,3 nm

Corrección de fondo : no

Condición del combustible : rico ; para una absorción máxima son necesarias unas condiciones óptimas de altura del quemador y de condiciones del combustible.

5.3. Calibración

5.3.1. Pipetear respectivamente 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 y 5,0 ml de solución madre valorada de aluminio (3.3) en matraces aforados de 100 ml. Pipetear en cada matraz aforado 10,00 ml de reactivo de cloruro de potasio (3.4) y enrasar con solución de ácido clorhídrico al 1 % (v/v) (3.2) y mezclar. Estas soluciones contienen 10, 20, 30, 40 y 50 µg de aluminio por mililitro, respectivamente.

De la misma manera, preparar un blanco omitiendo la solución patrón de aluminio.

(1) ISO 5725.

5.3.2. Medir la absorbancia del blanco (5.3.1) y utilizar el valor obtenido como concentración cero de aluminio para la curva de calibración. Medir la absorbancia de cada valor de calibración del aluminio (5.3.1). Trazar una curva de calibración correspondiente a los valores de absorbancia de cada concentración de aluminio.

5.4. Determinación

Medir la absorbancia de la solución de muestra (5.1.1). A partir de la curva de calibración, anotar la concentración de aluminio correspondiente al valor de absorbancia obtenido para la solución de muestra.

6. *Cálculo*

Calcular el contenido de aluminio en la muestra, en porcentaje de masa, utilizando la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de aluminio} = \frac{c}{5 \times m}$$

siendo :

m = la masa en gramos de la muestra analizada (B.5.1.1), y

c = la concentración de aluminio en la solución de muestra (5.1.1) en microgramos por mililitro obtenida mediante la curva de calibración.

7. *Reproducibilidad* (1)

Para un contenido de aluminio de 3,5 % (m/m), la diferencia entre los resultados de las dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no debería exceder del 0,10 % (m/m).

8. *Observaciones*

Se permite el uso de plasma-inductivo — espectrometría de emisión óptica como alternativa a la espectrometría de llama de absorción atómica.

D. **Determinación del cloro**

1. *Objetivo y ámbito de determinación*

El presente método sirve para determinar el cloro presente como ion cloruro en complejos de cloruro hidróxido de aluminio y circonio en antitranspirantes sin aerosol.

2. *Principio*

El contenido de cloro en el producto se determina por valoración potenciométrica respecto a la solución patrón de nitrato de plata.

3. *Reactivos*

Todos los reactivos han de ser analíticamente puros.

3.1. Ácido nítrico concentrado (d_{20} = 1,42 g/ml).

3.2. Solución de ácido nítrico, 5 % (v/v) : en un vaso de precipitados añadir 25 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) a 250 ml de agua removiendo sin cesar. Transvasar esta solución a un matraz aforado de 500 ml y enrasar con agua.

3.3. Acetona.

3.4. Nitrato de plata, solución volumétrica de 0,1 M (AnalaR o equivalente).

4. *Equipo*

4.1. Equipo normal de laboratorio.

4.2. Hornillo con agitador magnético.

4.3. Electrodo de plata.

4.4. Electrodo de referencia de calomelanos.

4.5. Medidor de pH/milivoltios para valoración potenciométrica.

(1) ISO 5725.

5. *Procedimiento*

5.1. Preparación de la muestra

5.1.1. Pesar con precisión una muestra homogénea de aproximadamente 1 g (m gramos) del producto en un vaso de precipitados de 250 ml. Añadir 80 ml de agua y 20 ml de solución de ácido nítrico al 5 % (v/v) (3.2).

5.1.2. Colocar el vaso de precipitados sobre el hornillo con agitador magnético (4.2). Remover y llevar a ebullición. Para evitar el secado rápido, colocar un vidrio de reloj sobre el vaso de precipitados. Hervir durante 5 minutos, apartar el vaso del hornillo y enfriar a temperatura ambiente.

5.1.3. Añadir 10 ml de acetona (3.3), introducir los electrodos (4.3 y 4.4) bajo la superficie de la solución y comenzar a mover. Valorar potenciométricamente respecto a 0,1 M de solución de nitrato de plata (3,4) y trazar una curva diferencial para determinar el punto final (V ml).

6. *Cálculo*

Calcular el contenido de cloro en la muestra, en porcentaje de masa, utilizando la siguiente fórmula :

$$\% \text{ (m/m) de cloro} = \frac{0{,}3545 \times V}{m}$$

siendo :

m = la masa en gramos de la muestra analizada (5.1.1), y

V = el volumen de 0,1 M de nitrato de plata en mililitros, volumetrado en el punto final (5.1.3).

7. *Reproducibilidad* (1)

Para un contenido de cloro de 4 % (m/m), la diferencia entre los resultados de las dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no debería exceder del 0,10 % (m/m).

E. Cálculo de las proporciones de átomos de circonio respecto a los átomos de aluminio y de los átomos de aluminio más los átomos de circonio respecto a los átomos de cloro

1. *Cálculo de proporción de átomos de aluminio respecto a los átomos de circonio*

Calcular la proporción Al : Zr mediante la siguiente fórmula :

$$\text{proporción Al : Zr} = \frac{\text{Al \% (m/m)} \times 91{,}22}{\text{Zr \% (m/m)} \times 26{,}98}$$

2. *Cálculo de la proporción de átomos de aluminio más átomos de circonio respecto a los átomos de cloro*

Calcular la proporción de (Al + Zr) : Cl mediante la siguiente fórmula :

$$\text{proporción (Al + Zr) : Cl} = \frac{\frac{\text{Al \% (m/m)}}{26{,}98} + \frac{\text{Zr \% (m/m)}}{91{,}22}}{\frac{\text{Cl \% (m/m)}}{35{,}45}}$$

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE HEXAMIDINA, DE DIBROMOHEXAMIDINA, DE DIBROMOPROPAMIDINA Y DE CLOROHEXIDINA

1. *Objeto y campo de aplicación*

Este método describe la identificación y determinación de :

— hexamidina y sus sales, incluido el isetionato y el 4-hydroxibenzoato,

— dibromohexamidina y sus sales, incluido el isetionato,

— dibromopropamidina y sus sales, incluido el isetionato,

— diacetato, digluconato y diclorhidrato de clorhexidina, en los productos cosméticos.

2. *Definición*

El contenido en hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina y clorhexidina obtenido mediante este método se expresa en porcentaje de masa (% m/m) del producto.

3. *Principio*

La identificación y determinación se efectúan mediante cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) en fase reversa con formación de pares iónicos, seguida por una detección mediante espectrofotometría UV. La hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina y clorhexidina se identifican mediante su tiempo de retención en la columna cromatográfica.

(1) ISO 5725.

4. *Reactivos*

Todos los reactivos deberán ser de pureza analítica y adecuados para CLAR, cuando sea preciso.

4.1. Metanol.

4.2. 1-heptano sulfonato sódico monohidratado.

4.3. Ácido acético glacial (d_{20} = 1,05 g/ml).

4.4. Cloruro sódico.

4.5. Fases móviles.

4.5.1. Disolvente I : disolución 0,005 M de 1-heptano sulfonato sódico monohidratado (4.2) en metanol (4.1), ajustada a un pH aparente de 3,5 con ácido acético glacial (4.3).

4.5.2. Disolvente II : disolución acuosa 0,005 M de 1-heptano sulfonato sódico monohidratado ajustada a pH 3,5, mediante ácido acético glacial (4.3).

Observación : para mejorar la forma de los picos, en caso necesario, se pueden modificar y preparar las fases móviles de la forma siguiente :

— Disolvente I : disolver 5,84 g de cloruro sódico (4.4) y 1,1013 g de 1-heptano sulfonato sódico monohidratado (4.2) en 100 ml de agua. Añadir 900 ml de metanol (4.1) y llevar al pH aparente de 3,5 mediante ácido acético glacial (4.3).

— Disolvente II : disolver 5,84 g de cloruro sódico (4.4) y 1-heptano sulfonato sódico monohidratado (4.2) en 1 litro de agua y llevar a pH 3,5 mediante ácido acético glacial (4.3).

4.6. Diisetionato de hexamidina [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$].

4.7. Diisetionato de dibromohexamidina [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$].

4.8. Diisetionato de dibromopropamidina [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$].

4.9. Diacetato de clorhexidina [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$].

4.10. Disoluciones testigo : preparar disoluciones al 0,05 % (m/v) de cada uno de los cuatro conservantes (4.6 a 4.9) en el disolvente I (4.5.1).

4.11. 3,4,4'-triclorocarbanilida (triclocarban).

4.12. 4,4'-dicloro-3-(trifluorometil) carbanilida (halocarban).

5. *Material y equipo instrumental*

5.1. Material habitual de laboratorio.

5.2. Cromatógrafo de líquidos de alta resolución con detector UV de longitud de onda variable.

5.3. Columna analítica : de acero inoxidable, longitud 30 cm, diámetro interior a 4 mm, rellena de µ-Bondapak C_{18}, 10 µm o equivalente.

5.4. Baño a ultrasonidos.

6. *Identificación*

6.1. Preparación de la muestra

Pesar aproximadamente 0,5 g de muestra en un matraz aforado de 10 ml. Enrasar con el disolvente I (4.5.1). Colocar el matraz aforado durante 10 minutos en un baño de ultrasonidos (5.4). Filtrar o centrifugar la disolución. Recoger el filtrado o el sobrenadante para proceder a la determinación cromatográfica.

6.2. Cromatografía

6.2.1. Gradiente de fase móvil.

Tiempo (minutos)	Disolvente I (% v/v) (4.5.1)	Disolvente I (% v/v) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Ajustar el flujo de la fase móvil (6.2.1) a 1,5 ml/min y la temperatura de la columna a 35 °C.

6.2.3. Ajustar la longitud del detector a 264 nm.

6.2.4. Inyectar 10 µl de cada una de las disoluciones testigo (4.10) y registrar sus cromatogramas.

6.2.5. Inyectar 10 µl de disolución de muestra (6.1.) y registrar su cromatograma.

6.3. Comprobar la presencia de hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina o clorhexidina comparando los tiempos de retención del pico o de los picos registrados en 6.2.5 con los obtenidos de las disoluciones testigo en 6.2.4.

7. *Determinación*

7.1. Preparación de las disoluciones patrón

Utilizar uno de los conservantes (4.6 a 4.9) ausente de la muestra como patrón interno ; en su defecto, puede utilizarse el triclocarbán (4.11) o el halocarban (4.12).

7.1.1. Disolución patrón madre al 0,05 % (m/v) del conservante identificado en 6.3 en el disolvente I (4.5.1).

7.1.2. Disolución madre del conservante elegido como patrón interno al 0,05 % (m/v) en el disolvente I (4.5.1).

7.1.3. Para cada conservante identificado preparar cuatro disoluciones patrón transfiriendo a una serie de matraces aforados de 10 ml, alícuotas de disolución madre del conservante identificado (7.1.1) y cantidades apropiadas de la disolución madre del patrón interno (7.1.2) con arreglo al cuadro siguiente. Enrasar cada matraz con el disolvente I (4.5.1) y mezclar.

Disolución patrón	Disolución madre del patrón interno	Disolución patrón madre de conservante identificado	
	ml (7.1.2) añadidos	ml (7.1.1) añadidos	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

(*) Estos valores son indicativos y corresponden al contenido del conservante identificado en las disoluciones patrón preparadas utilizando una disolución patrón madre que contenga exactamente 0,05 % del conservante identificado.

7.2. Preparación de la muestra

7.2.1. Pesar con exactitud alrededor de 0,5 g (p gramos) de muestra en un matraz aforado de 10 ml, añadir 1,0 ml de la disolución de patrón interno (7.1.2) y 6 ml del disolvente I (4.5.1) y mezclar.

7.2.2. Colocar el matraz aforado durante 10 minutos en un baño de ultrasonidos (5.4). Enfriar. Enrasar con el disolvente I (4.5.1) y mezclar. Filtrar por filtro de papel plegado o centrifugar. Recoger el sobrenadante o el filtrado para proceder al análisis cromatográfico.

7.3. Cromatografía

7.3.1. Ajustar el gradiente de fase móvil, el flujo, la temperatura de la columna y la longitud de onda del equipo de CLAR (5.2) a las condiciones requeridas en la fase de identificación (6.2.1 a 6.2.3).

7.3.2. Inyectar 10 µl de la disolución de muestra (7.2.2) y medir las áreas de los picos. Repetir la operación con otras alícuotas de 10 µl de la disolución de muestra hasta la obtención de resultados repetitivos. Calcular la relación entre el área del pico producido por el compuesto a analizar y el área del pico producido por el patrón interno.

7.4. Calibración

7.4.1. Inyectar 10 µl de cada una de las disoluciones patrón (7.1.3) y medir las áreas de los picos.

7.4.2. Para cada disolución patrón (7.1.3), calcular la relación entre el área del pico de hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina o clorhexidina y el área del pico del patrón interno. Construir una curva de calibrado situando la relación de las áreas en ordenadas y en abcisas, las concentraciones correspondientes del conservante identificado en las disoluciones patrón, en microgramos por mililitro.

7.4.3. Deducir de la curva de calibrado (7.4.2) la concentración del conservante identificado correspondiente a la relación del área del pico calculada en 7.3.2.

8. *Cálculo*

Calcular el contenido en hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina o clorhexidina en porcentaje de masa (% m/m) mediante la fórmula siguiente:

$$\% \quad (m/m) = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{PM_1}{PM_2}$$

en esta fórmula:

p = masa en gramos de la muestra tomada para el análisis (7.2.1)

c = concentración del conservante en la solución de muestra, en microgramos por mililitro, obtenida de la curva de calibrado

PM_1 = peso molecular de la forma básica del conservante presente

PM_2 = peso molecular de la sal correspondiente (véase el punto 10).

9. *Repetibilidad* (1)

Para una concentración en hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina o clorhexidina de 0,1 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas paralelamente en la misma muestra no deberá exceder el 0,005 %.

10. *Cuadro de pesos moleculares*

Hexamidina	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Diisetionato de hexamidina	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Di-p-hidroxibenzoato de hexamidina	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromohexamidina	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Diisetionato de dibromohexamidina	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibromopropamidina	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Diisetionato de dibromopropamidina	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Clorhexidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Diacetato de clorhexidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Digluconato de clorhexidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Diclorhidrato de clorhexidina	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725.