

383L0514

24. 10. 83

Diario Oficial de las Comunidades Europeas

Nº L 291/9

TERCERA DIRECTIVA DE LA COMISIÓN**de 27 de septiembre de 1983****sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros relativas a los métodos de análisis necesarios para el control de la composición de los productos cosméticos**

(83/514/CEE)

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, sobre la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de productos cosméticos⁽¹⁾, modificada en el último lugar por la Directiva 83/341/CEE⁽²⁾ y, en particular, el apartado 1 del artículo 8,

Considerando que la Directiva 76/768/CEE prevé unos controles oficiales de los productos cosméticos tendentes a comprobar que se cumplen las condiciones previstas por las disposiciones comunitarias relativas a la composición de los productos cosméticos;

Considerando que conviene establecer, a la mayor brevedad, todos los métodos de análisis necesarios y que habiéndose realizado dos etapas para alcanzar este objetivo mediante la fijación de determinados métodos en las Directivas 80/1335/CEE⁽³⁾ y 83/434/CEE⁽⁴⁾ de la Comisión, la fijación de los métodos de determinación del diclorometano y del 1,1,1-tricloroetano, de identificación y de determinación de la 8-hidroxiquinoleína y de su sulfato, de determinación del amoniaco, de identificación y de determinación del nitrometano, de identificación y de determinación del ácido tioglicólico en los productos para el rizado o desrizado de los cabellos y los depilatorios, de identificación y de determinación del hexaclorofeno, de determinación de la tosilcloramida sódica, de determinación de los compuestos fluorados en las pastas dentífricas, de identificación y de determinación de los compuestos organomercuriales, de determinación de los sulfuros alcalinos y alcalinotérreos que constituyen una tercera etapa,

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,

HA ADOPTADO LA PRESENTE DIRECTIVA:

Artículo 1

Los Estados miembros adoptarán todas las medidas apro-

piadas para que, durante los controles oficiales de los productos cosméticos:

- la determinación del diclorometano y del 1,1,1-tricloroetano,
- la identificación y la determinación de la 8-hidroxiquinoleína y de su sulfato
- la determinación del amoniaco,
- la identificación y la determinación del nitrometano,
- la identificación y la determinación del ácido tioglicólico en los productos para el rizado o desrizado de los cabellos y los depilatorios,
- la identificación y la determinación del hexaclorofeno,
- la determinación de la tosilcloramida sódica,
- la determinación de los compuestos fluorados en las pastas dentífricas,
- la identificación de los compuestos organomercuriales,
- la determinación de los sulfuros alcalinos y alcalinotérreos,

se efectúen según los métodos descritos en el Anexo.

Artículo 2

Los Estados miembros aplicarán las disposiciones legales, reglamentarias o administrativas necesarias para cumplir las disposiciones de la presente Directiva a más tardar el 31 de diciembre de 1984 e informarán de ello inmediatamente a la Comisión

Artículo 3

Los destinatarios de la presente Directiva serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 27 de septiembre de 1983.

*Por la Comisión**Miembro de la Comisión*

Frans ANDRIESEN

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

(2) DO nº L 188 de 13. 7. 1983, p. 15.

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

(4) DO nº L 185 de 30. 6. 1982, p. 1.

ANEXO

DETERMINACIÓN DEL DICLOROMETANO Y DEL 1,1,1-TRICLOROETANO

1. **OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

El presente método describe la determinación del diclorometano (cloruro de metileno) y del 1,1,1-tricloroetano (metilcloroformo).

Se aplica a todos los productos cosméticos que puedan contener estos compuestos.
2. **DEFINICIÓN**

El contenido de diclorometano y de 1,1,1-tricloroetano de la muestra determinado por este método se expresa en porcentaje de masa.
3. **PRINCIPIO**

La determinación se efectúa por cromatografía en fase gaseosa utilizando el triclorometano (cloroformo) como patrón interno.
4. **REACTIVOS**

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

 - 4.1. Triclorometano (CHCl_3).
 - 4.2. Tetracloruro de carbono (CCl_4).
 - 4.3. Diclorometano (CH_2Cl_2).
 - 4.4. 1,1,1-tricloroetano (CH_3CCl_3).
 - 4.5. Acetona.
 - 4.6. Nitrógeno.
5. **APARATOS**
 - 5.1. Material habitual de laboratorio y de cromatografía en fase gaseosa.
 - 5.2. Cromatógrafo provisto de detector catarométrico.
 - 5.3. Frasco de trasvase de 50-100 ml; véase toma de muestras, 5.3(1).
 - 5.4. Jeringa para gases a presión (véase método de toma de muestras, 5.4.2.2)(1).
6. **MÉTODO**
 - 6.1. Muestra no presurizada: pesar exactamente la muestra en un matraz cónico tapado. Introducir una cantidad exactamente pesada de CHCl_3 (4.1) equivalente a la cantidad supuesta de CH_2Cl_2 y CH_3CCl_3 que contiene la muestra. Homogeneizar.

(1) DO n° L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.

- 6.2. Muestra presurizada: utilizar el método de toma de muestras descrito en el capítulo «toma de muestras». Tener en cuenta sin embargo las precisiones siguientes.
- 6.2.1. Introducir en el frasco de trasvase una cantidad de patrón interno (4.1) equivalente a la cantidad supuesta de CH_2Cl_2 y/o CH_3CCl_3 contenida en la muestra. Homogeneizar. Enjuagar el volumen muerto de la válvula del frasco de trasvase con 0,5 ml de CCl_4 (4.2), que deja de evaporar. Determinar la masa del patrón interno por pesada diferencial del frasco de trasvase.
- 6.2.2. La boquilla de teflón de la jeringa, una vez llena ésta con la muestra, se enjuagará con nitrógeno (4.6), de manera que no quede en la boquilla ningún residuo de la muestra antes de proceder a la inyección en el cromatógrafo.
- 6.2.3. Después de cada toma, la boquilla de la válvula o la pieza de trasvase eventualmente utilizada deberá enjuagarse varias veces con acetona (4.5) (utilizando una jeringuilla hipodérmica), secándola después a fondo con nitrógeno (4.6).
- 6.2.4. para cada análisis, efectuar las mediciones en dos frascos de trasvase diferentes, realizando 5 mediciones por frasco.

7. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

7.1. *Precolumna*

Tubo inoxidable.

Longitud: 30 cm

Diámetro: 3 ó 6 mm.

Llenado: chromosorb con las mismas características que el de la columna.

7.2. *Columna*

La fase estacionaria está constituida por el Hallcomid M 18 depositado sobre chromosorb. Debe dar un grado de resolución (R) igual a 1,5 como mínimo:

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

donde:

r_1 y r_2 = tiempo de retención (expresado en min);

w_1 y w_2 = anchura de los picos a media altura (en mm);

d' = velocidad de avance del papel (en mm/min).

- 7.3. A modo de ejemplo, las condiciones operativas siguientes dan los resultados pretendidos:

<i>Columna</i>	<i>I</i>	<i>II</i>
Material:	tubo inoxidable	tubo inoxidable
Longitud:	350 cm	400 cm
Diámetro:	3 mm	6 mm
Llenado:		
chromosorb:	WAW	WAW-DMCS-HP
granulometría:	100-120 mallas	60-80 mallas
fase estacionaria:	Hallcomid M 18 10%	Hallcomid M 18 20%
Temperaturas:		
columna:	65 °C	75 °C
inyector:	150 °C	125 °C
detector:	150 °C	200 °C
Gas vector:		
helio, caudal:	45 ml/min	60 ml/min
presión de entrada	2,5 bar	2,0 bar
Inyección:	15 μ l	15 μ l

8. ESTABLECIMIENTO DE LOS COEFICIENTES DE PROPORCIONALIDAD

Constituir en un matraz cónico la mezcla siguiente exactamente pesada:

CH_2Cl_2 (4.3): 30 % m/m diclorometano.

CH_3CCl_3 (4.4): 35 % m/m tricloroetano.

CHCl_3 (4.1): 35 % m/m triclorometano.

Sirve para establecer los coeficientes de proporcionalidad.

9. CÁLCULOS

9.1. *Cálculo de un coeficiente de proporcionalidad de una sustancia (p) con relación a una sustancia (a) elegida como patrón interno*

Sea la sustancia «p»

k_p = su coeficiente de proporcionalidad,

m_p = su masa en la mezcla,

A_p = el área de su pico

Sea la sustancia «a»:

k_a = su coeficiente de proporcionalidad elegido igual a 1,

m_a = su masa en la mezcla,

A_a = el área de su pico

$$k_p : \frac{m_p \times A_p}{m_a \times A_p}$$

A modo de ejemplo, se han obtenido los coeficientes de proporcionalidad siguientes (para

CHCl_3 : $k = 1$):

CH_2Cl_2 : $k_1 = 0,78 \pm 0,003$

CH_3CCl_3 : $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2. *Cálculo de los porcentajes de CH_2Cl_2 y CH_3CCl_3 presentes en la muestra a analizar*

Sea:

k_1 = el coeficiente de proporcionalidad de CH_2Cl_2 ,

k_2 = el coeficiente de proporcionalidad de CH_3CCl_3 ,

m_a = la masa de CHCl_3 ,

m_e = la masa de la muestra a analizar,

A_a = el área del pico de CHCl_3 ,

A_1 = el área del pico de CH_2CCl_2 ,

A_2 = el área del pico de CH_3CCl_3 .

Se tendrá:

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

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

10. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido en compuestos clorados del 25 % (m/m) la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 2,5 por 100.

(1) Según la norma ISO 5725.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA 8-HIDROXIQUINOLEÍNA Y DE SU SULFATO**1. OBJETO Y CAMPO DE AMPLIACIÓN**

El presente método describe la identificación y la determinación de la 8-hidroxiquinoleína y de su sulfato.

2. DEFINICIÓN

El contenido de 8-hidroxiquinoleína de la muestra, determinado por este método, se expresa en porcentaje de masa de 8-hidroxiquinoleína.

3. PRINCIPIO**3.1. Identificación**

Se efectúa por cromatografía en capa fina.

3.2. Determinación

Se efectúa por fotolorimetría a 410 nm de un complejo de cobre obtenido por reacción con el lecor Fehling.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1. 8-Hidroxiquinoleína.

4.2. Benceno (debido a la toxicidad del producto, se adoptarán las oportunas precauciones).

4.3. Cloroformo.

4.4. Solución de hidróxido de sodio al 50 % m/m.

4.5. Sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

4.6. Tartrato doble de potasio y de sodio.

4.7. Acido clorhídrico 1N.

4.8. Acido sulfúrico 1N.

4.9. Solución de hidróxido de potasio 1N.

4.10. Etanol.

4.11. Butanol 1.

4.12. Acido acético glacial.

- 4.13. Acido clorhídrico 0,1N.
- 4.14. Celite 545 o equivalente.
- 4.15. **Soluciones testigo**
- 4.15.1. Poner 100 mg de 8-hidroxiquinoleína (4.1) en un matraz aforado de 100 ml y disolver con una pequeña cantidad de ácido sulfúrico 1N (4.8). Completar hasta la señal con en ácido sulfúrico 1N (4.8).
- 4.15.2. Poner 100 mg de 8-hidroxiquinoleína (4.1) en un matraz aforado de 100 ml. Disolver en etanol (4.10). Completar hasta la señal con el mismo disolvente y mezclar.

4.16. **Licor de Fehling**

Solución A

En un matraz aforado de 100 ml, pesar 7 g de sulfato de cobre (4.5). Disolver en una pequeña cantidad de agua, completar con agua hasta la señal y mezclar.

Solución B

En un matraz aforado de 100 ml, pesar 35 g de tartrato doble de potasio y de sodio (4.6) y disolverlos en 50 ml de agua. Añadir 20 ml de hidróxido de sodio al 50 % (4.4). Completar con agua hasta la señal y mezclar.

Inmediatamente antes del empleo, en un matraz aforado de 100 ml echar mediante una pipeta 10 ml de solución A y 10 ml de solución B. Completar hasta la señal con agua y mezclar.

4.17. **Disolventes de desarrollo**

Disolvente I: 1-butanol, ácido acético, agua (80-20-20) (v/v/v).

Disolvente II: cloroformo, ácido acético (95-5)(v/v).

- 4.18. Solución al 1 % de 2,6-dicloro-4-(cloroimino)ciclohexa-2, 5-dienona en etanol (4.10).

- 4.19. Solución de carbonato de sodio al 1 % (m/v).

- 4.20. Solución al 30 % (v/v) de etanol (4.10) en agua.

- 4.21. Solución de dihidrogenoetilendiaminatetracetato disódico al 5 % (m/v).

4.22. **Solución tampón de pH 7**

Pesar 27 g de KH_2PO_4 y 70 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un matraz aforado de 1 l. Disolver. Completar hasta la señal y mezclar.

4.23. **Capas finas de sílice listas para su uso**

Grosor: 0,25 mm (Kieselgel 60 Merck o equivalente). Antes de su uso, cada placa se vaporiza con 10 ml del reactivo 4.21 y se seca a 80°C.

5. APARATOS

- 5.1. Matraces esmerilados de fondo redondo de 100 ml.

- 5.2. Matraces aforados.

- 5.3. Pipetas graduadas de 10 y 5 ml.

- 5.4. Pipetas aforadas de 20, 15, 10 y 5 ml.
- 5.5. ampolla de decautación 100, 50 y 25 ml.
- 5.6. Filtros plegados de 9 cm de diámetro.
- 5.7. Evaporador rotatorio.
- 5.8. Refrigerante de reflujo esmerilado.
- 5.9. Espectrofotómetro.
- 5.10. Cubetas de 1 cm de trayecto óptico.
- 5.11. Agitador calefactor.
- 5.12. Columna de vidrio para cromatografía de 160 mm de altura y 8 mm de diámetro, cuya parte inferior presenta un estrechamiento obturado por un tapón de lana de vidrio y cuya parte superior está diseñada de manera que se pueda eluir bajo presión.

6. MÉTODO

6.1. *Identificación*

6.1.1. *Muestras líquidas*

- 6.1.1.1. Una vez llevado a 7 el pH de una fracción de la muestra que se ha de analizar, depositar 5 y 10 μ l de la misma en cada uno de los puntos de la línea de partida de una placa recubierta de una capa fina de gel de sílice tratada previamente como se indica en el punto 4.23.
- 6.1.1.2. En otros dos puntos de la línea de partida depositar 10 y 30 μ l de la solución testigo (4.15.2), y se revela luego la placa en uno de los dos disolventes (4.17).
- 6.1.1.3. Cuando el frente del disolvente ha avanzado 15 cm, secar la placa a 110 °C durante 15 minutos. Bajo luz UV (366 nm), las manchas de 8-hidroxiquinoleína se caracterizan por una fluorescencia amarilla.
- 6.1.1.4. La placa se vaporiza a continuación con una solución acuosa de carbonato de sodio al 1% (4.19) y, una vez secada, con una solución al 1% de 2,6-dicloro-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienona (4.18). La 8-hidroxiquinoleína aparece en forma de mancha azul.

6.1.2. *Muestras sólidas y cremas*

- 6.1.2.1. Poner 1g de la muestra en suspensión en 5 ml de la solución tampón de pH 7 (4.22). Trasvasar con 10 ml de cloroformo a una ampolla de decantación y agitar. Una vez recogida la capa cloroformica, extraer otras dos veces la suspensión acuosa con 10 ml de cloroformo (4.3). Reunir y filtrar los extractos cloroformicos en un matraz de fondo redondo de 100 ml (5.1) Concentrar hasta sequedad casi total en el evaporador rotatorio. Recoger el residuo en 2 ml de cloroformo y depositar 10 y 30 μ l de la solución obtenida sobre una placa de gel de sílice (4.23), procediendo como se indica en el punto 6.1.1.1.
- 6.1.2.2. Una vez depositados los 10 y 30 μ l de la solución testigo (4.15.2), proceder como se indica en los puntos 6.1.1.2, 6.1.1.3 y 6.1.1.4.

6.2. *Determinación*

6.2.1. *Muestras líquidas*

- 6.2.1.1. En un matraz esmerilado de fondo redondo de 100 ml, pesar 5 g de la muestra. Añadir 1 ml de ácido sulfúrico 1 N (4.8) y concentrar la mezcla hasta sequedad casi total bajo presión reducida a 50 °C.

- 6.2.1.2. Disolver este residuo en 20 ml de agua caliente. Trasvasar a un matraz aforado de 100 ml y enjuagar tres veces seguidas con 20 ml de agua. Completar con agua hasta 100 ml y mezclar.
- 6.2.1.3. Con una pipeta echar 5 ml de esta solución en una ampolla de decantación de 50 ml (5.5). Después de añadir 10 ml de licor de Fehlig (4.16), extraer tres veces el complejo de cobre formado con 8 ml de cloroformo (4.3).
- 6.2.1.4. Reunir las fases clorofórmicas filtradas en un matraz aforado de 25 ml (5.2). Completar con cloroformo (4.3) hasta la señal y agitar. Medir la densidad óptica de la solución amarilla a 410 nm con relación al cloroformo.
- 6.2.2. *Muestras sólidas y cremas*
- 6.2.2.1. En un matraz de fondo redondo de 100 ml (5.1), pesar 0,500 g de la muestra. Añadir 30 ml de benceno (4.2) y 20 ml de ácido clorhídrico 1 N (4.7). Hervir a reflujo durante 30 minutos con agitación.
- 6.2.2.2. Trasvasar el contenido del matraz a una ampolla de decantación de 100 ml (5.5) y enjuagar con 5 ml de ácido clorhídrico 1 N (4.7). Pasar la fase acuosa a un matraz de fondo redondo (5.1). Lavar la fase bencénica con 5 ml de ácido clorhídrico 1 N (4.7) y recoger en el matraz las aguas de lavado. Proseguir como se indica en el punto 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. En el caso de emulsiones no apropiadas para la continuación del análisis. Mezclar 0,500 g de la muestra con 2 g de celite 545 (4.14) de modo que se obtenga un polvo fluido. Colocar la mezcla por pequeñas fracciones en la columna de vidrio para cromatografía (5.12). Después de cada adición, comprimir el contenido de la columna. Una vez introducida en la columna la totalidad de la mezcla muestra-celite, eluir con ácido clorhídrico 0,1 N (4.13) de modo que se obtengan 10 ml de eluato en unos 10 minutos. En caso necesario, puede efectuarse esta elución ejerciendo una ligera sobrepresión con nitrógeno.
- Durante la elución, conviene cerciorarse de que existe siempre ácido clorhídrico por encima de la mezcla muestra-celite. Los 10 primeros ml de eluato se tratan luego como se indica en el punto 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. Las fases acuosas (6.2.2.2) o los eluatos (6.2.2.3) se reúnen y concentran hasta sequedad casi total en el evaporador rotatorio bajo presión reducida.
- 6.2.2.5. Disolver el residuo en 6 ml de la solución de hidróxido de sodio 1 N (4.9). Añadir 20 ml de licor de Fehlig (4.16) y trasvasar a una ampolla de decantación de 50 ml (5.5). Enjuagar el matraz con 8 ml de cloroformo (4.3) y trasvasar a la ampolla de decantación. Después de agitar, la fase clorofórmica se filtra y se recoge en un matraz aforado de 50 ml (5.2).
- 6.2.2.6. La fase acuosa se extrae de nuevo tres veces con 8 ml de cloroformo (4.3). Las fases clorofórmicas se filtran y se recogen en el matraz aforado de 50 ml. Completar con cloroformo hasta la señal y agitar. Medir la densidad óptica de la solución amarilla a 410 nm con relación al cloroformo.

7. CURVA PATRÓN

- 7.1. En una serie de matraces de fondo redondo de 100 ml (5.1), cada uno de los cuales contiene 3 ml de una solución acuosa de etanol al 30% (4.20), echar con una pipeta 5, 10, 15 y 20 ml de la solución testigo (4.15.1) y proceder como se indica en 6.2.1.

8. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

8.1. *Muestras líquidas*

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

donde:

a = número de mg de 8-hidroxiquinoleína observados en la curva patrón (1),

m (mg) = masa de la muestra (6.2.1.1).

8.2. **Muestras sólidas y cremas**

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

donde:

a = número de mg de 8-hidroxiquinoleína observados en la curva patrón (1),

m (mg) = masa de la muestra (6.2.2.1).

9. REPETIBILIDAD(1)

Para un contenido de hidroxí-8-quinoleína del 0,3%, la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 0,02%.

DETERMINACIÓN DEL AMONIACO

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método describe la determinación del amoniaco libre en el conjunto de los diferentes productos cosméticos.

2. DEFINICIÓN

El contenido de amoniaco de la muestra determinado por este método se expresa en porcentaje de masa de NH₃.

3. PRINCIPIO

Se añade una solución de cloruro de bario al producto cosmético en un medio de metanol-agua. El precipitado eventualmente formado se filtra o se centrifuga. Esta manera de proceder evita que, en el curso de la destilación por vapor, se arrastren determinadas sales de amonio, como el carbonato, el bicarbonato, sales de ácido graso etc., con excepción del acetato de amonio.

El amoniaco se arrastra por vapor a partir del filtrado o del líquido que sobremana y se determina por titulación de regreso con indicador o por titulación potenciométrica directa.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1. Metanol.

4.2. Solución de cloruro de bario dihidratado al 25% (m/v).

4.3. Solución de ácido ortobórico al 4% (m/v).

4.4. Solución titulada de ácido sulfúrico 0,5 N.

4.5. Antiespumante líquido.

4.6. Solución titulada de hidróxido de sodio 0,5 N.

4.7. Indicador: mezclar 5 ml de una solución de azul de metileno al 0,1% en etanol y 2 ml de una solución de azul de metileno al 0,1% en agua.

(1) Según la norma ISO 5725.

5. APARATOS

- 5.1. Material habitual de laboratorio.
- 5.2. Centrífuga con tubos cerrados.
- 5.3. Aparato de arrastre por vapor.
- 5.4. Potenciógrafo.
- 5.5. Electrodo de vidrio y electrodo de referencia al dicloruro de dimercurio (calomelanos).

6. MÉTODO

- 6.1. En un matraz aforado de 100 ml, pesar con una precisión de 1mg una masa de muestra (m) que corresponda como máximo a 150 mg de NH₃.
- 6.2. Añadir:
 agua: 10 ml;
 metanol: 10 ml (4.1);
 solución de cloruro de bario (4.2): 10 ml.
 Completar con metanol (4.1) hasta la señal.
- 6.3. Homogeneizar y dejar una noche en el refrigerador (5°C).
- 6.4. La solución, fría todavía, se filtra o se centrifuga en tubos cerrados, durante 10 minutos, hasta obtener un líquido sobrenadante limpio.
- 6.5. Con una pipeta, introducir en el aparato de arrastre (5.3) 40 ml de la solución clara y luego, eventualmente, 0,5 ml de antiespumante líquido (4.5).
- 6.6. Destilar y recoger 200 ml de destilado en un vaso de 250 ml que contenga 10,0 ml de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4) y 0,1 ml del indicador (4.7).
- 6.7. Determinar de regreso el exceso de ácido sulfúrico con la solución de hidróxido de sodio (4.6).
- 6.8. En el caso de una determinación potenciométrica, recoger 200 ml de destilado en un vaso de 250 ml que contenga 25 ml de la solución de ácido ortobórico (4.3), y titular con el ácido sulfúrico 0,5 N (4.4).

7. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

7.1. *Titulación de regreso con indicador*

Sea:

V₁ (ml) = volumen de la solución de hidróxido de sodio 0,5 N (4.6) utilizado,

T₁ = título de la solución de hidróxido de sodio 0,5 N (4.6),

T₂ = título de la solución de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4),

m(mg) = masa de la muestra (6.1).

$$\text{NH}_3 \text{ \% (m/m)} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 4250}{m}$$

7.2. Titulación potenciométrica directa

donde:

V_2 (ml) = volumen de la solución de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4) utilizado,

T_2 = título de la solución de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4);

m (mg) = masa de la muestra (6.1).

$$\text{NH}_3 \text{ \% (m/m)} = \frac{V_2 \times T_2 \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{V_2 \times T_2 \times 4250}{m}$$

8. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de NH_3 del orden del 6%, la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 0,6%.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL NITROMETANO**1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

El presente método se aplica a la identificación y a la determinación del nitrometano en los productos cosméticos acondicionados en forma de aerosol, para una concentración inferior o igual al 0,3 %.

2. DEFINICIÓN

El contenido de nitrometano de la muestra determinado por este método se expresa en porcentaje de masa de nitrometano en la totalidad del contenido del aerosol.

3. PRINCIPIO

El nitrometano se identifica por reacción coloreada. Su determinación se realiza por cromatografía en fase gaseosa previa adición de un patrón interno.

4. IDENTIFICACIÓN**4.1. Reactivos**

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1.1. Solución de hidróxido de sodio 0,5 N.**4.1.2. Reactivo de Folin**

Disolver en agua 0,1 g de la sal sódica del ácido 1,2-naftoquinona 4- sulfónico y completar hasta 100 ml.

4.2. Método

Añadir 10 ml de 4.1.1 y 1 ml de 4.1.2 a 1 ml de muestra. Una coloración violeta indica la presencia de nitrometano.

5. DETERMINACIÓN**5.1. Reactivos**

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

(1) Según la norma ISO 5725.

- 5.1.1. Cloroformo (patrón interno 1).
- 5.1.2. 2,4-dimetilheptano (patrón interno 2).
- 5.1.3. Etanol al 95 %
- 5.1.4. Nitrometano.
- 5.1.5. *Solución de referencia al cloroformo*
En un matraz aforado de 25 ml . . . previamente tarado . . . introducir unos 650 mg de cloroformo (5.1.1). Pesar de nuevo el matraz y su contenido cuidadosamente. Completar hasta 25 ml con etanol al 95 % (5.1.3). Pesar y calcular el porcentaje en masa de cloroformo en esta solución.
- 5.1.6. *Solución de referencia al dimetilheptano*
Proceder como en el caso de la solución de referencia al cloroformo, sólo que introduciendo 270 mg de 2,4-dimetilheptano (5.1.2) en un matraz aforado de 25 ml.
- 5.2. **Aparatos**
- 5.2.1. Cromatógrafo para fase gaseosa con detector de ionización de llama.
- 5.2.2. Aparatos para toma de muestras de los aerosoles (frasco de trasvase, microjeringa, racor, etc.), tal como se describe en el capítulo II del Anexo de la Directiva 80/1335/CEE de la Comisión de 22 de diciembre de 1980⁽¹⁾.
- 5.2.3. Material habitual de laboratorio.
- 5.3. **Método**
- 5.3.1. *Preparación de la muestra*
En un frasco de trasvase de 100 ml, previamente tarado y purgado de aire (de acuerdo con el método descrito en el apartado 5.4 del capítulo II del Anexo de la Directiva 80/1335/CEE de la Comisión de 22 de diciembre de 1980) o en el que se ha hecho el vacío, introducir unos 5 ml de uno cualquiera de los patrones de internos 5.1.5 ó 5.1.6.
Utilizar una jeringa de vidrio de 10 ó 20 ml, sin aguja, adaptada a la pieza de trasvase según la técnica descrita en el apartado 5 del capítulo II de la mencionada Directiva.
Siguiendo la misma técnica, introducir en el frasco unos 50 g del contenido de la muestra de aerosol. Pesar de nuevo para determinar la cantidad de muestra introducida. Mezclar cuidadosamente. Inyectar aproximadamente 10 µl utilizando la microjeringa (5.2.2). Realizar 5 inyecciones.
- 5.3.2. *Preparación de la referencia*
En un matraz aforado de 50 ml, pesar con precisión unos 500 mg de nitrometano (5.1.4) con 500 mg de cloroformo (5.1.1) ó 210 mg de 2,4-dimetilheptano (5.1.2). Completar hasta el volumen con etanol al 95 % (5.1.3). Mezclar cuidadosamente. Introducir 5 ml de esta solución en un matraz aforado de 20 ml. Completar hasta el volumen con etanol al 95 % (5.1.3). Inyectar unos 10 µl utilizando la microjeringa (5.2.2). Realizar 5 inyecciones.
- 5.3.3. *Condiciones de la cromatografía en fase gaseosa*
- 5.3.3.1. **C o l u m n a**
Se trata de una columna en dos partes, la primera contiene dideciltalato sobre Gas Chrome Q como fase estacionaria, la segunda, contiene Ucon 50 HB 280 X sobre Gas Chrome Q como fase estacionaria.
La columna doble así preparada debe dar una resolución R igual o superior a 1,5, partiendo de la base que;

$$R = 2 \frac{d'r_2 - d'r_1}{W_1 \times W_2}$$

⁽¹⁾ DO n° L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.

donde

- r_1 y r_2 = tiempo de retención en min,
 W_1 y W_2 = anchura de los picos a media altura en mm,
 d' = velocidad de desarrollo en mm/min.

A modo de ejemplo las dos partes siguientes dan la resolución pretendida.

Parte A:

- materias: acero inoxidable,
 longitud: 1,5 m,
 diámetro: 3 mm,
 carga: 20% de didecilftalato sobre Gas Chrome Q 100-120 mallas.

Parte B:

- materias: acero inoxidable,
 longitud: 1,5 m,
 diámetro: 3 mm,
 carga: 20% de Ucon 50 HB 280 X sobre Gas Chrome Q 100-120 mallas.

5.3.3.2. Detector

Ionización de llama. El electrómetro del detector debe ajustarse a una sensibilidad de 8×10^{-10} A

5.3.3.3. Temperaturas

- Inyector: 150°C.
 Detector: 150°C.
 Columna: entre 50°C y 80°C, según el tipo de columna y los aparatos utilizados.

5.3.3.4. Gas

- Gas vector: nitrógeno.
 Presión: 2,1 bar.
 Caudal: 40 ml/min.
 detector: gas recomendado por el fabricante.

6. CÁLCULOS

6.1. **Factor de respuesta del nitrometano, calculado con respecto al patrón interno utilizado**

- Si n representa el nitrometano:
 k_n = el factor de respuesta,
 m'_n = su masa en g en la mezcla,
 S'_n = la superficie de su pico,
 y si c representa el patrón interno, cloroformo o 2,4-dimetilheptano:
 m'_c = su masa en g en la mezcla,
 S'_c = la superficie de su pico
 La fórmula será entonces la siguiente:

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

k_n depende de los aparatos utilizados.

6.2. **Concentración de nitrometano en la muestra**

- Si n representa el nitrometano:
 k_n = el factor de respuesta,
 S_n = la superficie de su pico,

y si c representa el patrón interno, cloroformo o 2,4-dimetilheptano:

m_c = la masa en g en la mezcla,

S_c = la superficie de su pico,

M = la masa en g de la muestra de aerosol transferida.

El porcentaje m/m de nitrometano en la muestra será entonces igual a:

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

7. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de nitrometano del orden del 0,3 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar de 0,03 %

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO TIOGLICÓLICO EN LOS PRODUCTOS PARA EL RIZADO O DESRIZADO DEL CABELLO Y EN LOS DEPILATORIOS

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

El presente método describe la identificación y determinación del ácido tioglicólico en los productos utilizados para el rizado o desrizado del cabello y en los depilatorios, en presencia de otros reductores eventuales.

2. DEFINICIÓN

El contenido en ácido tioglicólico de la muestra, determinado mediante este método, se expresa en porcentaje de masa de ácido tioglicólico.

3. PRINCIPIO

El ácido tioglicólico se identifica, bien por una reacción de coloración, o bien por cromatografía en capa fina. Su determinación se realiza por yodometría o por cromatografía en fase gaseosa.

4. IDENTIFICACIÓN

4.1. *Identificación por vía química*

4.1.1. *Reactivos*

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1.1.1. *Papel al di(acetato) de plomo.*

4.1.1.2. *Solución de ácido clorhídrico 1:1.*

4.1.2. *Procedimiento*

4.1.2.1. *Identificación del ácido tioglicólico por reacción de coloración con el di(acetato) de plomo*

Depositar una gota de la muestra a analizar sobre papel de di(acetato) de plomo (4.1.1.1). Una coloración amarilla intensa indica la presencia probable de ácido tioglicólico.
Sensibilidad: 0,5 %

4.1.2.2. *Caracterización de los sulfuros por formación de H₂S previo paso por medio ácido.*

En un tubo de ensayo, introducir algunos mg de la muestra a analizar. Añadir 2 ml de agua destilada y 1 ml de HCl 1:1 (4.1.1.2). Se produce un desprendimiento de H₂S, reconocible por su olor y por la formación del precipitado negro de PbS sobre el papel de di(acetato) de plomo (4.1.1.1).
Sensibilidad: 50 ppm.

4.1.2.3. *Caracterización de los sulfitos por formación de SO₂ previo paso por medio ácido.*

Proceder como en el punto 4.1.2.2. Llevar a ebullición.

El SO₂ se reconoce por su olor y por sus propiedades reductoras frente al MnO₄, por ejemplo

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.

- 4.2. **Identificación por cromatografía en capa fina**
- 4.2.1. **Reactivos**
Todos los reactivos, salvo que se indique lo contrario, deben ser de calidad analítica.
- 4.2.1.1. Ácido tioglicólico controlado yodométricamente, pureza ≥ 98 % (ATG)
- 4.2.1.2. Ácido ditioglicólico, pureza ≥ 99 % (ADTG).
- 4.2.1.3. Ácido tioláctico, pureza ≥ 95 % (ATL).
- 4.2.1.4. Ácido 3-mercaptopropiónico, pureza ≥ 98 % (AMP).
- 4.2.1.5. 1-tioglicerol, pureza ≥ 98 % (TG).
- 4.2.1.6. Gel de sílice G.HR o placas listas para empleo correspondientes, de 0,25 mm de grosor activadas a 110°C durante 30 minutos.
- 4.2.1.7. Óxido de aluminio F 254 tipo E Merk (o equivalente) o placas listas para el empleo de 0,25 mm de grosor.
- 4.2.1.8. Ácido clorhídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$).
- 4.2.1.9. Acetato de etilo.
- 4.2.1.10. Cloroformo.
- 4.2.1.11. Diisopropiléter.
- 4.2.1.12. Tetracloruro de carbono.
- 4.2.1.13. Ácido acético glacial.
- 4.2.1.14. Solución acuosa de yoduro de potasio al 1 % (m/v).
- 4.2.1.15. Solución acuosa de cloruro de platino al 0,1 % (m/v).
- 4.2.1.16. Disolventes de desarrollo.
- 4.2.1.16.1. Acetato de etilo, cloroformo, diisopropiléter, ácido acético glacial (20:20:10:10:) (en vol.).
- 4.2.1.16.2. Cloroformo, ácido acético glacial (90:20) (en vol.).
- 4.2.1.17. **Reveladores.**
- 4.2.1.17.1. Mezclar directamente antes del empleo volúmenes iguales de la solución (4.2.1.14) y de la solución (4.2.1.15).
- 4.2.1.17.2. Solución de bromo al 5 % (m/v).
Disolver 5 g de bromo en 100 ml de CCl_4 (4.2.1.12).
- 4.2.1.17.3. Solución de fluoresceína al 0,1 % (m/v).
Disolver 100 mg de fluoresceína en 100 ml de etanol al 95 %.
- 4.2.1.17.4. Solución acuosa de heptamolibdato de hexaamonio al 10 % (m/v).
- 4.2.1.18. **Soluciones de referencia.**
- 4.2.1.18.1. Solución acuosa de ácido tioglicólico al 0,4 % (m/v).
- 4.2.1.18.2. Solución acuosa de ácido ditioglicólico al 0,4 % (m/v).
- 4.2.1.18.3. Solución acuosa de ácido tioláctico al 0,4 % (m/v).
- 4.2.1.18.4. Solución acuosa de ácido 3-mercaptopropiónico al 0,4 % (m/v).
- 4.2.1.18.5. Solución acuosa de 1-tioglicerol al 0,4 % (m/v).

- 4.2.2. **Aparatos**
Material habitual de laboratorio para cromatografía en capa fina.
- 4.2.3. **Método**
- 4.2.3.1. **Tratamiento de las muestras.**
Acidificar con algunas gotas de ácido clorhídrico (4.2.1.8), hasta obtener un pH = 1 y filtrar si es necesario. En algunos casos, puede ser aconsejable diluir la muestra. En tal caso, acidificar con el ácido clorhídrico antes de efectuar la dilución.
- 4.2.3.2. **Desarrollo**
Depositar sobre la placa 1 µl de la solución de muestra (4.2.3.1) y 1 µl de cada una de las 5 soluciones de referencia (4.2.1.18). Secar prudentemente con una corriente débil de nitrógeno y desarrollar con los disolventes (4.2.1.16.1) ó (4.2.1.16.2). Secar lo más rápidamente posible con nitrógeno con el fin de evitar la oxidación de los tioles.
- 4.2.3.3. **Revelado**
Pulverizar sobre la placa del reactivo (4.2.1.17.1) ó (4.2.1.17.3) ó (4.2.1.17.4). Cuando se ha ya pulverizado sobre la placa del reactivo (4.2.1.17.4) sólo se conseguirá un buen revelado cuando el tiempo de secado de la capa no exceda de 1/2 hora.
- 4.2.3.4. **Lectura**
Compara los valores de los Rf y el color de las soluciones de referencia con los de la solución de muestra. Los Rf medios sobre capa de sílice se dan a continuación a título indicativo y tienen tan sólo un valor comparativo. En efecto dependen:
— del estado de activación de la capa en el momento de realizar la cromatografía.
— de la temperatura de la cubeta de cromatografía.

Cuadro de los Rf obtenidos sobre capa de sílice

	Disolventes de desarrollo	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Ácido tioglicólico	0,25	0,80
Ácido tioláctico	0,40	0,95
Ácido ditioglicólico	0,00	0,35
Ácido 3-mercaptopropiónico	0,45	0,95
1-tioglicerol	0,45	0,35

5. **DETERMINACIÓN (*)**
Comienza siempre por una yodometría.
- 5.1. **Yodometría**
- 5.1.1. **Principio**
La determinación se efectúa por oxidación del grupo SH por I₂ en medio ácido, según la ecuación:
- $$2 \text{HOOC-CH}_2\text{SH} + \text{I}_2 \rightarrow (\text{HOOC-CH}_2\text{-S})_2 + 2\text{I}^- + 2\text{H}^+$$
- 5.1.2. **Reactivos**
Solución titulada de yodo 0,1 N.

(*) **Observación:** La determinación del ácido tioglicólico debe hacerse en productos todavía no utilizados y recién destapados, a fin de evitar cualquier oxidación.

- 5.1.3. *Aparatos*
Material habitual de laboratorio
- 5.1.4. *Procedimiento*
En un matraz de Erlenmeyer tapado de 150 ml, que contenga 50 ml de agua destilada, pesar con precisión de 0,500 a 1 g de muestra.
Añadir 5 ml de HCl 1:1 (4.1.1.2) (pH de la solución cercano a 0) y titular con el yodo 0,1 N (5.1.2) hasta que aparezca una coloración amarilla. Puede utilizarse un indicador (almidón, cloroformo, etc.)
- 5.1.5. *Cálculo*
El contenido de ácido tioglicólico se calcula mediante la fórmula:
- $$\% \text{ (m/m)} = \frac{92 \times n \times 100}{1000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 \text{ n}}{m}$$
- donde:
m = masa en g de la toma de ensayo;
n = volumen de yodo 0,1 N utilizado.
- 5.1.6. *Observación*
Si el resultado, calculado en ácido tioglicólico, es inferior en un 0,1 % a las concentraciones máximas autorizadas, no es útil realizar otras determinaciones. Si el resultado es igual o superior a las concentraciones máximas autorizadas, y si la identificación ha revelado la presencia de varios reductores, es necesario entonces efectuar una determinación por cromatografía en fase gaseosa.
- 5.2. ***Cromatografía en fase gaseosa***
- 5.2.1. *Principio*
El ácido tioglicólico se separa del excipiente por precipitación en forma de di(acetato) de cadmio. Previa metilación con el diazometano, preparado bien. . . . , bien previamente en solución etérea, el derivado metilado del ácido tioglicólico se determina por cromatografía gas/líquido utilizando el caprilato de metilo como patrón interno.
- 5.2.2. *Reactivos*
Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.
- 5.2.2.1. Ácido tioglicólico puro (de título conocido).
- 5.2.2.2. Ácido clorhídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$).
- 5.2.2.3. Metanol.
- 5.2.2.4. Solución acuosa de di(acetato) de cadmio 2 H₂O al 10 %.
- 5.2.2.5. Solución de caprilato de metilo al 2% (m/v) en metanol.
- 5.2.2.6. Solución tampón acética de pH 5
acetato de sodio, 3 H₂O: 77g,
ácido acético glacial: 27,5 ml,
agua desmineralizada,
- 5.2.2.7. Solución recién preparada de ácido clorhídrico 3 N en metanol.
- 5.2.2.8. N-metil-N-nitroso-N'-nitroguadina.
- 5.2.2.9. Solución de hidróxido de sodio 5 N.
- 5.2.2.10. Solución titulada de yodo 0,1 N.

- 5.2.2.11. Éter dietílico
- 5.2.2.12. Solución de diazometano preparada a partir de la N-metil-N-nitroso p. tolueno sulfonamida según Fieser ("Reagents for Organic Synthesis", Ed. Wiley, 1967).
La solución obtenida contiene aproximadamente 1,5 g de diazometano en 100 ml de Éter dietílico (5.2.2.11).
El diazometano es un gas tóxico y muy inestable, por lo que todas las manipulaciones deben realizarse bajo una potente campana extractora; hay que evitar asimismo la utilización de aparatos con juntas esmeriladas.
- 5.2.3. *Aparatos*
- 5.2.3.1. Material habitual de laboratorio.
- 5.2.3.2. Aparato para la preparación extemporánea del diazometano (An. Chem. 1973, 45, 2302).
- 5.2.3.3. Aparato para la preparación extemporánea previa del diazometano según Fieser.
- 5.2.4. *Preparación de la muestra*
En un tubo de centrifugación de 50 ml, pesar con precisión una masa de muestra tal que la cantidad supuesta de ácido tioglicólico sea del orden de 50 a 70 mg.
Acidificar con algunas gotas de HCl concentrado (5.2.2.2) hasta obtener un pH cercano a 3. Añadir 5 ml de agua desmineralizada y 10 ml de solución tampón acética (5.2.2.6).
Comprobar mediante un papel indicador que el pH es cercano a 5.
Añadir acto seguido 5 ml de solución de di(acetato) de cadmio (5.2.2.4).
Esperar 10 minutos y centrifugar durante por lo menos 15 minutos a 4 000 g. Separar el líquido que sobrenada. Puede ocurrir que éste contenga un insoluble graso (caso de una crema), que no puede confundirse con el mercáptido de cadmio acumulado en forma compacta en el fondo del tubo.
Cerciorarse de la ausencia de precipitación al añadir al sobrenadante algunas gotas de solución de di(acetato) de cadmio (5.2.2.4).
En el caso de que las identificaciones anteriores hayan demostrado la ausencia de cualquier otro agente reductor distinto de los tioles, comprobar por yodometría que la presencia de los tioles en el líquido que sobrenada no sobrepasa en un 6 a un 8 % a la cantidad inicial.
En el tubo de centrifugación que contiene el precipitado, introducir 10 ml de metanol (5.2.2.3), dispersar finamente el precipitado con la ayuda de una varilla y centrifugar de nuevo durante por lo menos 15 minutos a 4 000 g.
Decantar el líquido que sobrenada y cerciorarse por yodometría de la ausencia de tioles.
Proceder a un segundo lavado en las mismas condiciones.
En el tubo de centrifugación, añadir:
— 2 ml de solución de caprilato de metilo (5.2.2.5),
— 5 ml de solución de ácido clorhídrico en metanol (5.2.2.7).
Disolver completamente el mercáptido (puede ocurrir que subsista un ligero insoluble debido al excipiente).
Se obtiene de esta manera la solución S.
En una parte alícuota de la solución S, comprobar yodométricamente el contenido de tioles que debe ser como mínimo igual al 90 % del obtenido en el punto 5.1.
- 5.2.5. *Metilación*
La metilación se efectúa, o bien extemporáneamente de acuerdo con el procedimiento descrito en el punto 5.2.5.1, o bien con la ayuda de una solución de diazometano preparada previamente como se indica en el punto 5.2.5.2.
- 5.2.5.1. *Metilación extemporánea*
En el aparato (5.2.3.2) que contiene 1 ml de dietilóxido (5.2.2.11), introducir 50 µl de la solución S. Metilar conforme al método descrito en el punto 5.2.3.2 con 300 mg de N-metil-N-nitroso-N'-nitroguanidina (5.2.2.8).
Al cabo de 15 minutos, comprobar que la solución contiene un exceso de diazometano (solución amarilla) y trasvasar a un frasco de 2 ml herméticamente cerrado. Dejar el frasco una noche en un refrigerador.
Efectuar simultáneamente dos metilaciones.

- 5.2.5.2. **Metilación con la solución previamente preparada de diazometano (5.2.2.12).**
En un frasco provisto de tapón de 5 ml, introducir 1 ml de diazometano (5.2.2.12) y luego 50 µl de la solución S. Dejar en un refrigerador durante una noche.
- 5.2.6. **Preparación del patrón**
Preparar una solución patrón de ácido tioglicólico de título conocido que contenga unos 60 mg de ácido tioglicólico en un volumen de 2 ml. Se obtiene la solución E.
Proceder a la precipitación, a las determinaciones y a la metilación como se ha indicado en los puntos 5.2.4 y 5.2.5.
- 5.2.7. **Condiciones de la cromatografía en fase gaseosa**
- 5.2.7.1. **Columna**
Material: acero inoxidable.
Longitud: 2 m.
Diámetro: 3 mm.
- 5.2.7.2. **Llenado**
Ftalato de dodecilo 20 %/Chrom.WAW 80-100 mallas
- 5.2.7.3. **Detector**
Ionización de llama.
Conviene que el electrómetro esté ajustado a una sensibilidad de $8 \cdot 10^{-10} \text{A}$.
- 5.2.7.4. **Gas**
Gas vector: nitrógeno.
Presión: 2,2 bar.
Caudal: 35 ml/min.
Gas auxiliar: hidrógeno.
Presión: 1,8 bar.
Caudal: 15 ml/min.
Detector: gas recomendado por el fabricante.
- 5.2.7.5. **Temperaturas**
Inyector: 200°C.
detector: 200°C.
Columna: 90°C.
- 5.2.7.6. **Registrador**
Velocidad de avance: 5 mm/min.
- 5.2.7.7. **Cantidad inyectada: 3 µl.**
Efectuar 5 ensayos con cada muestra metilada.
- 5.2.7.8. **Las condiciones de la cromatografía se dan sólo a título indicativo. Permiten obtener una resolución $R \geq 1,5$, partiendo de la base de que**

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

donde:

r_1 y r_2 = tiempo de retención en min,

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

d' = velocidad de avance en mm/min.

Se aconseja terminar la cromatografía con una programación de temperatura de 90°C a 150°C, a 10°C/min con objeto de eliminar las sustancias que pudieran interferir en las siguientes mediciones.

5.2.8. Cálculos

5.2.8.1. Coeficiente de proporcionalidad del ácido tioglicólico.

Se calcula con relación al octanoato de metilo a partir de la mezcla patrón.

Sea:

t = el ácido tioglicólico,

k_t = su coeficiente de proporcionalidad,

$m't$ = su masa (en mg) en la mezcla,

$S't$ = la superficie de su pico,

c = el caprilato de metilo,

$m'c$ = su masa (en mg) en la mezcla,

$S'c$ = la superficie de su pico.

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

Este coeficiente depende de los aparatos utilizados.

5.2.8.2. Concentración del ácido tioglicólico en la muestra.

Sea:

t = el ácido tioglicólico.

k_t = su coeficiente de proporcionalidad,

S_t = la superficie de su pico

c = el caprilato de metilo,

m_c = su masa (en mg) en la mezcla,

S_c = la superficie de su pico,

M = la masa (en mg) de la toma de ensayo inicial.

El porcentaje (m/m) de ácido tioglicólico en la muestra es igual a:

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

6. Repetibilidad⁽¹⁾

Para un contenido de ácido tioglicólico del 8 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar de 0,8 %.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL HEXACLOROFENO**A. IDENTIFICACIÓN**

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método es de aplicación a todos los productos cosméticos.

2. PRINCIPIO

El hexaclorofeno que contiene la muestra se extrae mediante el acetato de etilo y se identifica por cromatografía en capa fina.

3. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Solución de ácido sulfúrico 8 N.

3.2. Celite AW.

3.3. Acetato de etilo.

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.

- 3.4. Disolvente de desarrollo:
benceno que contiene 1 % v/v de ácido acético glacial.
- 3.5. Revelador nº 1:
Solución de rodamina B: disolver 100 mg de rodamina B en una mezcla de 150 ml de dietilóxido, 70 ml de etanol absoluto y 16 ml de agua.
- 3.6. Revelador nº 2:
Solución de 2,6-dibromo-4-(cloroimino) ciclohexa-2,5-dienona:
disolver 400 mg de 2,6-dibromo-4-(cloroimino) ciclohexa-2,5-dienona en 100 ml de metanol (debe prepararse cada día),
Solución de carbonato de sodio: disolver 10 g de carbonato de sodio en 100 ml de agua desmineralizada.
- 3.7. Solución patrón: solución del 0,05 % m/v de hexaclorofeno en acetato de etilo (3.3).

4. APARATOS

- 4.1. Placas CCF de sílice F 254 20 × 20 cm.
- 4.2. Material habitual de laboratorio para cromatografía en capa fina.
- 4.3. Baño mantenido a 26°C por termostato.

5. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- 5.1. Mezclar cuidadosamente 1 g de muestra homogeneizada con 1 g de celite AW (3.2) y 1 ml de solución de ácido sulfúrico (3.1).
- 5.2. Secar a 100°C durante 2 horas.
- 5.3. Enfriar y reducir el residuo secado a polvo fino.
- 5.4. Extraer dos veces con 10 ml de acetato de etilo cada vez (3.3).
Centrifugar después de cada extracción y reunir las fases de acetato de etilo.
- 5.5. Evaporar a 60°C.
- 5.6. Disolver el residuo en 2 ml de acetato de etilo (3.3).

6. MÉTODO

- 6.1. Poner 2 µl de solución de muestra (5.6) y 2 µl de solución de referencia (3.7) sobre una placa CCF (4.1).
- 6.2. Saturar el recipiente mantenido por termostato a 26°C con el disolvente de desarrollo (3.4).
- 6.3. Colocar la placa CCF en el recipiente y desarrollar hasta 15 cm.
- 6.4. Retirar la placa y secar en estufa a 105°C.
- 6.5. *Revelado*
Las manchas de hexaclorofeno se revelan como se indica en 6.5.1 ó 6.5.2.

- 6.5.1. Pulverizar el revelador nº 1 (3.5) de manera uniforme sobre la placa. Al cabo de 30 minutos, examinar la placa con luz UV a 254 nm.
- 6.5.2. Pulverizar el revelador nº 2 (3.6) utilizando sucesivamente la solución de 2,6-dibromo-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienona y luego la solución de carbonato de sodio. Examinar la placa a la luz del día después de 10 minutos de secado a la temperatura ambiente.

7. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- 7.1. Revelador nº 1 (3.5):
El hexaclorofeno se revela en forma de manchas azuladas sobre fondo amarillo anaranjado fluorescente y presenta un Rf del orden de 0,5.
- 7.2. Revelador nº 2 (3.6):
El hexaclorofeno se revela en forma de manchas de color azul celeste a azul turquesa sobre fondo blanco y presenta un Rf del orden de 0,5.

B. DETERMINACIÓN

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método es aplicable a todos los productos cosméticos.

2. DEFINICIÓN

El contenido en hexaclorofeno de la muestra, determinado mediante este método se expresa en porcentaje de masa de hexaclorofeno.

3. PRINCIPIO

Previa transformación en derivado metilado, el hexaclorofeno se determina por cromatografía en fase gaseosa con detector de captura de electrones. El método implica la utilización de un patrón interno.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

- 4.1. Acetato de etilo.
- 4.2. N-metil-N-nitroso-p-toluenosulfonamida (diazald).
- 4.3. Éter dietílico.
- 4.4. Metanol.
- 4.5. 2-(2-etoxietoxi) etanol (carbitol).
- 4.6. Ácido fórmico.
- 4.7. Hidróxido de potasio, solución acuosa al 50 % m/m, de preparación diaria.

- 4.8. Hexano para espectroscopia.
 - 4.9. Bromoclorofeno (patrón nº1).
 - 4.10. 4,4',6,6'-tetracloro-2,2'-tiodifenol (patrón nº2).
 - 4.11. Eter 2,4,4'-tricloro-2-hidroxidifenilico (patrón nº3).
 - 4.12. Acetona.
 - 4.13. Acido sulfúrico 8 N.
 - 4.14. Celite AW.
 - 4.15. Solución de ácido fórmico en acetato de etilo al 10 % v/v.
 - 4.16. Hexaclorofeno.
5. APARATOS
- 5.1. Material habitual de laboratorio.
 - 5.2. Aparatos pequeños para la preparación de diazometano (Ref. Anal. Chem. 1973, 45, 2302-3).
 - 5.3. Cromatógrafo en fase gaseosa, equipado con un detector de captura de electrones. Fuente : 63 níquel.
6. MÉTODO
- 6.1. **Preparación de las soluciones patrón**

Se elige la solución patrón de manera que no interfiera con ninguna de las sustancias contenidas en el excipiente del producto a analizar. Por lo general, el mas indicado es el patrón nº1 (4.9).

 - 6.1.1. Pesar cuidadosamente unos 50 mg de los patrones nº1 (4.9), 2 (4.10) o 3 (4.11) y 50 mg de hexaclorofeno (4.16) en un matraz aforado de 100 ml. Completar hasta la señal con acetato de etilo (4.1) (solución A). Diluir en un matraz aforado de 100 ml, 10 ml de la solución A con acetato de etilo (4.1) (solución B) 10 ml de la solución A. . . . 100 ml con acetato de etilo (4.1) (solución B).
 - 6.1.2. Pesar cuidadosamente unos 50 mg de los patrones nº1 (4.9), 2 (4.10) ó 3 (4.11) en un matraz aforado de 100 ml. Completar hasta la señal con acetato de etilo (4.1) (solución C).
 - 6.2. **Preparación de la muestra⁽¹⁾**

Pesar con precisión 1 g de muestra homogeneizada y mezclar cuidadosamente con 1 ml de ácido sulfúrico (4.13), 15 ml de acetona (4.12) y 8 g de celite AW (4.14). Secar la mezcla al aire durante 30 minutos sobre baño de vapor, y secar luego durante 1 hora 30 minutos en un horno ventilado. Enfriar, reducir el residuo en polvo fino y transferir a una columna de vidrio. Eluir con el acetato de etilo y recoger 100 ml. Añadir 2 ml de solución patrón interna (solución C) (6.1.2).

⁽¹⁾ Debido a la gran variedad de productos en los que puede hallarse presente el hexaclorofeno, es importante comprobar primero la recuperación del hexaclorofeno en la muestra por este procedimiento antes de anotar los resultados. Si las recuperaciones son escasas, podrán introducirse modificaciones de acuerdo con las partes interesadas, por ejemplo, cambiar el disolvente (benceno en vez de acetato de etilo, etc.).

6.3. **Metilación de la muestra**

Enfriar todos los aparatos y reactivos entre 0°C y 4°C durante 2 horas. Poner 1,2 ml de la solución obtenida en (6.2) y 0,1 ml de metanol (4.4) en el compartimiento externo del aparato de diazometano. Poner unos 200 mg de diazald (4.2) en el depósito central, añadir 1 ml de carbitol (4.5) y 1 ml de éter dietílico (4.3) y disolver. Ensamblar los aparatos, sumergir el aparato hasta la mitad en un baño a 0°C e introducir en el depósito central, utilizando una jeringa, aproximadamente 1 ml de solución de hidróxido de potasio enfriado (4.7).

Se produce una coloración amarilla, que debe ser persistente. Si la coloración amarilla desaparece, repetir la metilación con otros 200 mg de diazald (4.2)⁽¹⁾.

Al cabo de 15 minutos, el aparato se retira del baño y se deja cerrado durante 12 horas a la temperatura ambiente. Abrir el aparato, retirar el exceso de diazometano añadiendo algunas gotas de solución de ácido fórmico en acetato de etilo (4.15) y trasvasar la solución orgánica a un matraz aforado de 25 ml. Completar hasta el volumen con hexano (4.8).

Inyectar 1,5 µl de esta solución en el cromatógrafo.

6.4. **Metilación de la solución patrón**

Enfriar todos los reactivos y aparatos hasta una temperatura comprendida entre 0°C y 4°C durante 2 horas. Introducir en el compartimiento externo del aparato del diazometano :

0,2 ml de solución B (6.1.1),

1 ml de acetato de de etilo (4.1),

0,1 ml de metanol (4.4).

Continuar la metilación como se describe en 6.3. Inyectar 1,5 µl de la solución obtenida en el cromatógrafo.

7. **CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS EN FASE GASEOSA**

La fase estacionaria debe dar un grado de resolución R igual a 1,5 como mínimo.

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

donde:

r_1 y r_2 = tiempo de retención expresado en min,

W_1 y W_2 = anchura de los picos a media altura,

d' = velocidad de avance del papel en mm/min.

Las condiciones operativas siguientes permiten obtener este resultado.

Columna: acero inoxidable.

Diámetro: 3 mm.

Longitud: 170 cm.

Llenado: 10 % OV 17 sobre chromosorb WAW 80 a 100 mallas.

Temperaturas: columna, detector, inyector : 280°C.

Gas vector: nitrógeno U, exento de oxígeno.

Presión: 2,3 bar.

Caudal: 30 ml/min.

(1) La persistencia de esta coloración amarilla indica un exceso de diazometano que es necesario para obtener una metilación completa de la muestra.

8. CALCULOS

8.1. **Coefficiente de proporcionalidad del hexaclorofeno**

Se calcula en función del patrón elegido y con respecto a la mezcla patrón.

Sea:

h = el hexaclorofeno,

k_h = su coeficiente de proporcionalidad,

m'_h = su masa en la mezcla patrón en g,

A'_h = la superficie de su pico,

s = el patrón elegido,

m'_s = su masa en la mezcla en g,

A'_s = la superficie de su pico.

De donde:

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

8.2. **Contenido de hexaclorofeno en la muestra**

Sea:

h = el hexaclorofeno,

k_h = su coeficiente de proporcionalidad,

A_h = la superficie de su pico,

s = el patrón elegido,

m_s = su masa en la mezcla en g,

A_s = la superficie de su pico,

M = la masa de la muestra tomada en g.

De donde el porcentaje en masa de hexaclorofeno en la muestra será igual a:

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

9. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de hexaclorofeno del 0,1 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 0,005 %.

DETERMINACIÓN DE LA TOSILCLORAMIDA SÓDICA (CLORAMINA T)

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método describe la determinación de la tosilcloramida sódica total (cloramida T) en los productos cosméticos por cromatografía en capa fina.

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.

2. DEFINICIÓN

El contenido en cloramina T de la muestra, establecido por este método, se expresa en porcentaje de masa.

3. PRINCIPIO

En medio clorhídrico y en caliente, la cloramina T se hidroliza totalmente en 4-toluenosulfonamida. La cantidad de 4-toluenosulfonamida formada se determina por fotodensitometría después de cromatografía en capa fina.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1. Tosilcloramida sódica (cloramina T).

4.2. Solución patrón de 4-toluenosulfonamida : disolver 50 mg de 4-tolueno-sulfonamida en 100 ml de etanol (4.5).

4.3. Acido clorhídrico al 37 % (m/m) ($d_4^{20} = 1,18$).

4.4. Éter dietílico.

4.5. Etanol al 96 % (v/v).

4.6. *Disolvente de desarrollo*

4.6.1. Butanol-1/etanol 96 % (4.5)/agua (40-4-9 v/v/v),
o

4.6.2. Cloroformo/acetona (6-4 v/v).

4.7. Placas CCF de silicagel 60 sin indicador fluorescente.

4.8. Permanganato de potasio.

4.9. Acido clorhídrico al 15 % (m/m).

4.10. Reactivo de pulverización : solución al 1 % (m/v) de o-toluidina en etanol (4.5).

5. MATERIAL

5.1. Material habitual de laboratorio.

5.2. Material habitual para cromatografía en capa fina.

5.3. Fotodensitómetro.

6. MÉTODO

6.1. *Hidrólisis*

Pesar con exactitud en un matraz de 50 ml, aproximadamente 1 g (m) de la muestra, añadir 5 ml de agua, 5 ml de ácido clorhídrico (4.3), hervir durante 1 hora a reflujo. Trasvasar inmediatamente la suspensión todavía caliente con agua a un matraz aforado de 50 ml. Enfriar y completar con agua hasta la señal. Centrifugar durante 5 minutos como mínimo a 3000 r.p.m. y filtrar el líquido que sobrenada.

6.2. *Extracción*

6.2.1. Tomar 30 ml del filtrado y extraer por tres veces con 15 ml de dietiléter (4.4). Secar en caso necesario las fases etéreas y recogerlas en un matraz aforado de 50 ml. Completar hasta la señal con dietiléter (4.4).

6.2.2. Tomar 25 ml del extracto etéreo y evaporar en seco bajo corriente de nitrógeno. Recoger el extracto con 1 ml de etanol (4.5).

6.3. *Cromatografía en capa fina*

6.3.1. Depositar puntualmente sobre una placa de silicagel 60 (4.7) 20 µl del residuo disuelto en etanol (6.2).

De la misma manera, depositar 8, 12, 16 y 20 µl de la solución patrón de 4-toluenosulfonamida (4.2).

6.3.2. Desarrollar luego hasta una altura aproximada de unos 15 cm, en el disolvente (4.6.1) ó (4.6.2).

6.3.3. Una vez evaporado totalmente el disolvente, dejar la placa durante 2 a 3 minutos en una atmósfera de vapor de cloro, que se obtiene vertiendo unos 100 ml de ácido clorhídrico (4.9) sobre unos 2 g de permanganato de potasio (4.8) en un recipiente cerrado. Eliminar el exceso de cloro calentando la placa a 100°C durante 5 minutos. Pulverizar el reactivo sobre la placa (4.10).

6.4. *Medición*

Al cabo de 1 hora aproximadamente, medir la intensidad de la coloración de las manchas violetas por fotodensitometría a 525 nm (5.3).

6.5. *Establecimiento de la curva patrón*

A partir de la altura de los picos obtenidos, trazar la recta patrón en función de las cantidades (4, 6, 8, 10 µg) de 4-toluenosulfonamida.

7. OBSERVACIÓN

El método puede controlarse a partir de soluciones al 0,1 ó 0,2 % de cloramida T (4.1) tratadas en las mismas condiciones que la muestra (6)

8. CÁLCULO

El contenido de la muestra, expresado en porcentaje de masa, se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$\% \text{ (m/m) de cloramina T} = \frac{1,33 \times a}{60 \times m}$$

donde:

1,33 = factor de conversión de la 4-toluenosulfonamida en cloramina T,

a (μg) = cantidad de 4-toluenosulfonamida expresada en μg contenida en la muestra leída en la recta patrón

m (g) = masa de la toma de ensayo expresada en gramos.

9. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de cloramina T del orden del 0,2 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 0,03 %

DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS FLUORADOS EN LAS PASTAS DENTÍFRICAS

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método describe la determinación del flúor total contenido en las pastas dentífricas. Está indicado en el caso de concentraciones que no sobrepasen el 0,25 %.

2. DEFINICIÓN

El contenido en flúor de la muestra determinado mediante este método se expresa en porcentaje de masa.

3. PRINCIPIO

El flúor del compuesto fluorado se transforma en trietilfluorosilano (TEFS) por reacción directa con trietilclorosilano (TECS) en medio ácido, y simultáneamente, se extrae con xileno que contenga ciclohexano como patrón interno. La solución obtenida se analiza por cromatografía en fase gaseosa.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

4.1. Fluoruro de sodio secado a 120°C hasta obtener una masa constante.

4.2. Agua bidestilada o de calidad equivalente.

4.3. Acido clorhídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$).

4.4. Ciclohexano (CH).

4.5. Xileno que no haga aparecer picos en el cromatograma antes del pico disolvente, cuando se le someta a cromatografía en las mismas condiciones que las muestras (6.1). En caso necesario, purificar por destilación (5.8).

⁽¹⁾ Según la norma 5725.

- 4.6. Trietilclorosilano (TECS Merck o equivalente).
- 4.7. **Soluciones patrón de fluoruro**
- 4.7.1. Solución patrón de 0,250 mg/ml de fluoruro. Pesar exactamente 138,1 mg de fluoruro de sodio (4.1) y disolverlos en agua (4.2). Trasvasar cuantitativamente la solución a un matraz aforado de 250 ml (5.5). Completar con agua (4.2) hasta la señal y mezclar.
- 4.7.2. Solución patrón diluida de 0,050 mg/ml de fluoruro. Con una pipeta, pasar 20 ml de la solución (4.7.1) a un matraz aforado de 100 ml (5.5). Completar con agua (4.2) hasta la señal y mezclar.
- 4.8. **Solución de patrón interno**
Mezclar 1 ml de ciclohexano (4.4) con 5 ml de xileno (4.5).
- 4.9. **Solución de patrón interno de trietilclorosilano**
Con un pipeta (5.7), pasar 0,6 ml de TECS (4.6) y 0,12 ml de la solución de patrón interno (4.8) a un matraz aforado de 10 ml. Completar con xileno (4.5) hasta la señal y mezclar. Esta solución debe prepararse cada día.
- 4.10. Acido perclórico al 70 % (m/v).
- 4.11. Acido perclórico al 20 % (m/v) en agua (4.2).

5. APARATOS

- 5.1. Material habitual de laboratorio.
- 5.2. Cromatógrafo para fase gaseosa equipado con un detector de ionización de llama.
- 5.3. Homogeneizador Vórtex o equivalente.
- 5.4. Agitador Buhler tipo SMB₁ o equivalente.
- 5.5. Matraces aforados de 100 a 250 ml de polipropileno.
- 5.6. Tubos de centrifugación de 20 ml de vidrio con tapones de rosca recubiertos de teflón Sovirel tipo 611 - 56 o equivalente. Limpiar los tubos y los tapones de la manera siguiente: lavar durante varias horas en ácido perclórico (4.11), enjuagar cinco veces con agua (4.2) y secar a 100°C.
- 5.7. Pipetas regulables capaces de proporcionar volúmenes de 50 a 200 μ l, con boquilla de plástico de uso único.
- 5.8. Aparato de destilación provisto de una columna Schneider de 3 bolas o de una columna de Vigreux equivalente.

6. MÉTODO

6.1. **Análisis de la muestra**

- 6.1.1. Coger un tubo de pasta dentífrica sin abrir y abrirlo. Pasar la totalidad de su contenido a un recipiente de plástico, mezclar cuidadosamente y conservar en condiciones que impidan el deterioro del producto.
- 6.1.2. Pesar con exactitud unos 150 mg (m) de muestra en un tubo de centrifugación (5.6), añadir 5 ml de agua (4.2) y homogeneizar (5.3)
- 6.1.3. Añadir 1 ml de xileno (4.5).
- 6.1.4. Añadir gota a gota 5 ml de ácido clorhídrico (4.3) y homogeneizar (5.3)
- 6.1.5. Con una pipeta, añadir 0,5 ml de solución de patrón interno de trietilclorosilano (4.9) en el tubo de centrifugación (5.6).
- 6.1.6. Cerrar el tubo de centrifugación mediante el tapón de rosca y mezclar cuidadosamente durante 45 minutos con el agitador (5.4) regulado a 150 sacudidas por minuto.
- 6.1.7. Centrifugar durante 10 minutos a una velocidad tal que se obtenga una separación neta de las fases. Destapar el tubo, recoger la fase orgánica e inyectar 3 μ l de la misma en la columna del cromatógrafo de fase gaseosa (5.2).
- Observación*
Se necesitan unos 20 minutos para que queden eluidos todos los componentes.
- 6.1.8. Repetir la inyección, calcular la relación media del área de los picos A_{TEFS}/A_{CH} y leer en la curva patrón (6.3) la cantidad de fluoruro correspondiente en mg (m_1).
- 6.1.9. Calcular el contenido de fluoruro total de la muestra en porcentaje de masa de fluoruro como se indica en el punto 7.

6.2. **Condiciones cromatográficas**

- 6.2.1. Columna.
Material: acero inoxidable.
Longitud: 180 cm.
Diámetro: 3 mm.
Llenado: Gaschrom Q 80 - 100 mallas.
Fase estacionaria: aceite de silicona DC 200 (o equivalente): 20 %
Mantener la columna durante toda una noche a 100°C, con un caudal para el gas vector de 25 ml/min de nitrógeno. Esta operación debe repetirse cada noche.
Cada 4 o 5 inyecciones, poner de nuevo la columna en condiciones calentándola durante media hora a 100°C.
Temperaturas:
columna: 70°C
inyector: 150°C
detector: 250°C
gas vector: nitrógeno, a 35 ml/min.

6.3. **Curva patrón**

- 6.3.1. Con una pipeta, introducir en una serie de 6 tubos de centrifugación (5.6) 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml de la solución patrón de fluoruro diluida (4.7.2). Completar el volumen de cada tubo hasta 5 ml con agua (4.2).

- 6.3.2. Proceder como se indica desde 6.1.3 hasta 6.1.6 ambos incluidos.
- 6.3.3. Inyectar 3 μ l de la fase orgánica en la columna del cromatógrafo de fase gaseosa (5.2).
- 6.3.4. Repetir la inyección y calcular la relación media del área de los picos A_{TEFS}/A_{CH} .
- 6.3.5. Establecer una curva patrón que ponga en relación la masa de fluoruro (mg) en las soluciones patrón (6.3.1) y la relación de las áreas de los picos A_{TEFS}/A_{CH} calculada en 6.3.4. Trazar la curva patrón.

7. CÁLCULO

La concentración de flúor total en la muestra, en porcentaje de masa se obtiene por la fórmula siguiente:

$$\% \text{ m/m F}^- = \frac{m_1}{m} \times 100$$

donde:

m = fracción de muestra en mg (6.1.2),

m_1 = cantidad de flúor leída en la curva patrón en mg (6.1.8).

8. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de flúor de orden del 0,15 % (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas en la misma muestra no debe sobrepasar el 0,012 %.

IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS ORGANOMERCURIALES

OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

El presente método permite la identificación en los productos cosméticos para los ojos de los derivados organomercuriales que se utilizan como agentes conservadores.

Es aplicable al tiomersal (DCI) 2-(etilmercuriotio) benzoato de sodio, así como al fenilmercurio y sus sales.

A. IDENTIFICACIÓN

1. PRINCIPIO

Los derivados organomercuriales son complejos que se presentan en forma de ditizonatos. Después de extraer los ditizonatos con tetracloruro de carbono, se procede a una cromatografía en capa fina de gel de sílice. Las manchas de ditizonatos aparecen con una coloración anaranjada.

2. REACTIVOS

Todos los reactivos deben de ser de calidad analítica.

2.1. Ácido sulfúrico al 25 % v/v.

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.

- 2.2. Solución de 1,5-difenil-3-tiocarbazona (ditizona): 0,8 mg de ditizona en 100 ml de tetracloruro de carbono (2.4).
- 2.3. Nitrógeno.
- 2.4. Tetracloruro de carbono.
- 2.5. Disolvente de desarrollo: hexano-acetona (90/10 v/v).
- 2.6. Soluciones patrón al 0,001 % en agua de:
 - 2-(etilmercurio) benzoato,
 - cloruro de etilmercurio o cloruro de metilmercurio,
 - nitrato o acetato de fenilmercurio,
 - dicloruro de mercurio o di(acetato) de mercurio
- 2.7. Placas de sílice G listas para su empleo (Merck 5721 o equivalentes).
- 2.8. Cloruro de sodio.

3. APARATOS

- 3.1. Material habitual de laboratorio.
- 3.2. Equipo habitual para cromatografía en capa fina.
- 3.3. Filtro separador de fases.

4. MÉTODO

4.1. *Extracción*

- 4.1.1. En un tubo de centrifugación, diluir por trituración un gramo de muestra en 20 ml de agua destilada. Dispersar al máximo calentando a 60°C en baño de María. Añadir 4 g de cloruro de sodio (2.8), agitar y dejar enfriar.
- 4.1.2. Centrifugar durante por lo menos 20 minutos a 4500 r.p.m. hasta separar la mayor parte de la fase sólida. Filtrar en una ampolla de decantación y añadir 0,25 ml de la solución de ácido sulfúrico (2.1).
- 4.1.3. Extraer varias veces con 2 ó 3 ml de la solución de ditizona (2.2), hasta que la última fase orgánica quede de color verde.
- 4.1.4. Filtrar cada fase orgánica por el filtro separador de fases (3.3).
- 4.1.5. Evaporador en seco bajo corriente de nitrógeno (2.3).
- 4.1.6. Recoger con 0,5 ml de tetracloruro de carbono (2.4). Depositar inmediatamente esta solución como se indica en el punto 4.2.1.

4.2. **Separación e identificación**

4.2.1. Depositar inmediatamente sobre la placa de sílice G (2.7) 50 μ l de la solución en el tetracloruro de carbono obtenida en el punto 4.1.6.

Tratar simultáneamente 10 ml de solución patrón (2.6) como se ha indicado en el punto 4.1, y depositar sobre la misma placa 50 μ l de las soluciones obtenidas (4.1.6.)

4.2.2. Revelar la placa en el disolvente (2.5) hasta una altura de 15 cm. Los compuestos organomercuriales aparecen en forma de manchas coloreadas, cuya coloración permanece estable si la placa se cubre inmediatamente después de la evaporación del disolvente.

A título indicativo, se obtienen los Rf siguientes:

	Rf	Color
Tiomersal	0,33	Naranja
Cloruro de etilmercurio	0,29	Naranja
Cloruro de metilmercurio	0,29	Naranja
Fenilmercurio y sus sales	0,21	Naranja
Dicloruro de mercurio	0,10	Naranja
Di(acetato) de mercurio	0,10	Naranja
1,5-difenil-3-tiocarbazona	0,09	Rosa

B. DETERMINACIÓN1. **DEFINICIÓN**

El contenido en compuesto organomercurial de la muestra determinado mediante este método se expresa en porcentaje de masa de mercurio.

2. **PRINCIPIO**

El método consiste en una determinación del mercurio total, por lo que es necesario cerciorarse previamente de la ausencia de mercurio mineral e identificar el derivado organomercurial que contiene la muestra. Después de una mineralización húmeda, el mercurio liberado se determina por absorción atómica sin llama.

3. **REACTIVOS**

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

3.1. Ácido nítrico concentrado ($d_4^{20} = 1,41$).

3.2. Ácido sulfúrico concentrado ($d_4^{20} = 1,84$).

3.3. Agua bidestilada.

3.4. Permanganato de potasio: solución al 7 % m/v.

3.5. Cloruro de hidroxilamonio: solución al 1,5 % m/v.

3.6. Peroxodisulfato dipotásico: solución al 5 % m/v.

- 3.7. Dicloruro de estaño : solución al 10 % m/v.
- 3.8. Acido clorhídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,18$).
- 3.9. Lana de vidrio impregnada de dicloruro de paladio al 1 % m/m.

4. APARATOS

- 4.1. Material habitual de laboratorio.
- 4.2. Aparato para la determinación del mercurio por absorción atómica sin llama (técnica del vapor frío) y sus accesorios de vidrio. Longitud mínima de la célula de medida : 10 cm

5. MÉTODO

Adoptar todas las precauciones oportunas para la determinación de los indicios de mercurio.

5.1. *Mineralización*

- 5.1.1. Pesar con exactitud 150 mg (m) aproximadamente de muestra. Añadir 10 ml de ácido nítrico (3.1.) y dejar digerir durante 3 horas en baño de María a 55°C en un frasco herméticamente cerrado agitando regularmente. Realizar paralelamente un ensayo en blanco.
- 5.1.2. Después de enfriar, añadir 10 ml de ácido sulfúrico (3.2.) y poner de nuevo en baño de María a 55°C durante otros 30 minutos.
- 5.1.3. Poner el frasco en un baño de hielo fundente y añadir con precaución 20 ml de agua (3.3.).
- 5.1.4. Añadir fracciones de 2 ml de una solución de permanganato de potasio (3.4.), hasta que el medio quede coloreado. Poner de nuevo en baño de María a 55°C durante 15 minutos.
- 5.1.5. Añadir 4 ml de peroxodisulfato dipotásico (3.6.) y seguir calentando en baño de María a 55°C durante 30 minutos.
- 5.1.6. Enfriar y trasvasar el contenido del frasco a un matraz aforado de 100 ml. Enjuagar con 5 ml de cloruro de hidroxilamonio (3.5.) y después 4 veces con 10 ml de agua (3.3.). El medio debe quedar incoloro. Completar con agua (3.3.) hasta la señal.

5.2. *Determinación*

- 5.2.1. Tomar 10 ml de la solución de mineralización (5.1.6.) y depositarlos en el recipiente de vidrio que sirve para la determinación del mercurio por el método del vapor frío (4.2.). Diluir con 100 ml de agua (3.3.), después con 5 ml de ácido sulfúrico (3.2.) y 5 ml de dicloruro de estaño (3.7.). Mezclar después de cada adición. Esperar 30 segundos. Los iones Hg^{++} se transforman en mercurio metálico. Efectuar la medición (m). Sea n la cifra anotada.
- 5.2.2. Poner lana de vidrio impregnada de dicloruro de paladio (3.9.) entre el recipiente de reducción y la célula de medida del instrumento (4.2.). Repetir la operación descrita en el punto 5.2.1. Si n no es igual a 0, la mineralización ha sido incompleta y hay que repetir todo el análisis.

6. CÁLCULOS

El contenido de mercurio de la muestra expresado en porcentaje de masa se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ Hg} = \frac{n}{m}$$

donde:

n = cantidad de mercurio en μg leída en el aparato;

m = masa en mg de la toma de ensayo.

7. OBSERVACIONES

7.1. Para mejorar la mineralización, puede ser necesario a veces proceder previamente a una dilución de la toma de ensayo.

7.2. En el caso de que se sospeche una fijación del mercurio por adsorción en el sustrato, será necesario proceder a una determinación por adición patrón.

8. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para contenidos de mercurio del 0,007 %, la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar 0,00035.

DETERMINACIÓN DE LOS SULFUROS ALCALINOS Y ALCALINOTÉRREOS**1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

El presente método describe la determinación de los sulfuros en los productos cosméticos. La presencia de tioles o de otras sustancias reductoras (incluidos los sulfitos) no interfiere.

2. DEFINICIÓN

El contenido en sulfuros de la muestra determinado mediante este método se expresa en porcentaje de masa de azufre.

3. PRINCIPIO

Previa acidificación del medio, el sulfuro de hidrógeno arrastrado por una corriente de nitrógeno y luego fijado en forma de sulfuro de cadmio. Este, previo filtrado y enjuagado, se titula por yodometría.

4. REACTIVOS

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica.

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.

- 4.1. Ácido clorhídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$).
- 4.2. Solución titulada de tiosulfato de sodio 0,1 N.
- 4.3. Solución de yodo 0,1 N.
- 4.4. Sulfuro disódico.
- 4.5. Di (acetato) de cadmio.
- 4.6. Amoniaco concentrado ($d_4^{20} = 0,90$).
- 4.7. Solución amoniacal de di(acetato) de cadmio: disolver 10 g de di(acetato) de cadmio (4.5) en unos 50 ml de agua, añadir amoniaco (4.6) hasta que vuelva a disolverse el precipitado (unos 20 ml) y completar con agua hasta 100 ml.
- 4.8. Nitrógeno.
- 4.9. Solución de amoniaco M.

5. APARATOS

- 5.1. Material habitual de laboratorio.
- 5.2. Matraz de 100 ml con tres cuellos esmerilados normalizados.
- 5.3. Dos matraces cónicos de 150 ml con cuellos esmerilados y provistos de un dispositivo que consta de un tubo de inmersión y un tubo lateral para el desprendimiento del gas de arrastre.
- 5.4. Embudo de cuello largo.

6. MÉTODO

6.1. *Arrastre de sulfuros*

- 6.1.1. Elegir un envase que esté aún sin abrir. Pesar con exactitud en el matraz (5.2.) una cantidad de producto que corresponda como máximo a 30 mg de iones sulfuros. Introducir 60 ml de agua y dos gotas de antiespumante líquido.
- 6.1.2. En cada uno de los dos matraces cónicos (5.3.), introducir 50 ml de la solución (4.7).
- 6.1.3. Acoplar al matraz (5.2.) una ampolla, el tubo de inmersión y el tubo de desprendimiento de gas (5.3.). Mediante un tubo de CPV conectar el tubo de desprendimiento de gas a los dos matraces cónicos colocados en serie (5.3.).
Nota: Comprobar la estanquidad del montaje de la manera siguiente: en las condiciones del ensayo, sustituir el producto... determinar por 10 ml de una solución de sulfuro preparada a partir de (4.4) que contenga X mg de sulfuro (determinando por yodometría). Sea Y el número de mg de sulfuro hallado al término de las manipulaciones. La diferencia entre las dos cantidades X e Y no debe ser superior al 3 %.

- 6.1.4. Pasar nitrógeno (4.8) a razón de dos burbujas por segundo durante 15 minutos para expulsar el aire contenido en el matraz (5.2).
- 6.1.5. Calentar el matraz a $85\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- 6.1.6. Cortar la corriente de nitrógeno y verter gota a gota 40 ml de ácido clorhídrico (4.1).
- 6.1.7. Restablecer la corriente de nitrógeno (4.8) en cuanto haya salido la casi totalidad del ácido, dejando en la ampolla una junta líquida mínima para evitar los escapes de sulfuro de hidrógeno.
- 6.1.8. Dejar de calentar al cabo de 30 minutos y enfriar el matraz (5.2), pero manteniendo la corriente de nitrógeno (4.8) durante 1 hora 30 minutos como mínimo.
- 6.2. **Titulación**
- 6.2.1. Filtrar el sulfuro de cadmio por un filtro colocado en el embudo de cuello largo (5.4).
- 6.2.2. Enjuagar los matraces cónicos (5.3) primero con una solución amoniaca M (4.9) y verter ésta sobre el filtro; después enjuagar con agua y utilizar ésta para lavar el precipitado retenido en el filtro.
- 6.2.3. Terminar el lavado del precipitado con 100 ml de agua.
- 6.2.4. Poner el filtro de papel en el primer matraz cónico que haya contenido el precipitado. Añadir 25 ml (n_1) de la solución de yodo 0,1 N (4.3), unos 20 ml de ácido clorhídrico (4.1) y 50 ml de agua.
- 6.2.5. Determinar el exceso de yodo mediante la solución titulada de tiosulfato de sodio 0,1 N (4.2). Sea n_2 el número de ml utilizado.

7. CÁLCULO

El contenido de la muestra, expresado en azufre en porcentaje de masa, se calcula mediante la fórmula:

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

donde:

- n_1 = número de ml de la solución titulada de yodo utilizada (4.3),
 x_1 = normalidad de esta solución,
 n_2 = número de ml de la solución titulada de tiosulfato de sodio (4.2),
 x_2 = normalidad de esta solución,
 m = masa de la toma de ensayo (6.1.1) expresada en g.

8. REPETIBILIDAD⁽¹⁾

Para un contenido de sulfuros del orden del 2% (m/m), la diferencia entre los resultados de dos determinaciones paralelas efectuadas sobre la misma muestra no debe sobrepasar el 0,2%.

⁽¹⁾ Según la norma ISO 5725.