
Norma Venezolana COVENIN



2667-89

Acondicionadores para el cabello. Métodos de ensayo.

CDU 668.585

ISBN 980-06-0527-4



FONDONORMA

CUALQUIER TRADUCCION O REPRODUCCION PARCIAL O TOTAL DE LA PRESENTE NORMA DEBERA SER
AUTORIZADA POR EL MINISTERIO DE FOMENTO.

TRAMITE

COMISION

CTXXVI: FARMACIA, COSMETICOS Y AFINES

COORDINADORA: FTICO: MARLENE FELIPE

PARTICIPANTES

ENTIDAD

REPRESENTANTES

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL

BERTHA S. DE LUPI

INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE

ZULAY MONTBRUN
MARA DE LEVI
WILMA BRUNI

GILLETTE DE VENEZUELA

WOLSTANO MARIN

DROCOSCA, C.A.

LISBETH VALERIO

AVON COSMETICOS DE VENEZUELA

JULIO CESAR PARRA

REVLON

CARMEN DIAZ DE F.

SHULTON DE VENEZUELA

ANDRES MONTILLA

CORINTA, S.A.

FERNANDO HUERTA

MENNEN VENEZOLANA, C.A.

GLORIA DAUTANT

HENKEL VENEZOLANA

DIANA MARQUEZ

INDUSTRIAS FARCOSMETICAS ASOCIADAS

IVETTE C. ARDILLA

ELCA COSMETICOS, C.A

YUMEY CHAMATE
CARMEN AGUIAR

LABORATORIOS FISA

LAURA DE MITRE

FECOSCA

YAJAIRA BURGOS

LABORATORIOS LETI, S.A.V.

MERY RAMIREZ

COLGATE - PALMOLIVE, C.A.

EDY MAGALY OSORIO

MARSAN, S.A.

ZORAIDA VALERA DE CABRERA

BEECHAM VENEZUELA, S.A.

CYNTHIA HERNANDEZ
GHEISSA GRIPA

LABORATORIOS BRISTOL - MYERS DE VENEZUELA

LABORATORIOS LEVER - POND'S

COSELCA/VENPROBEL

KHASANA

LABORATORIOS PONCE - BENZO

JOHNSON & JOHNSON DE VENEZUELA, C.A.

LOURDES SANTOS

MARIEVA DEL PINO

MARIA DEL CARMEN MONTSERRAT

ALEXIS ANTONIO RIVERS

MARIA ALBERTINA DIAZ

CARLOS ROMERO
GIUSSEPINA PUGLIESE

DISCUSION PUBLICA

FECHA DE ENVIO: 10-06-89

DURACION: 45 DIAS

FECHA DE APROBACION POR LA COMISION: 13-09-89

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 06-12-89

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

Esta norma es completa.

2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta Norma Venezolana establece los métodos de ensayo utilizados en la identificación y/o cuantificación de los ingredientes activos, acondicionadores, preservativos y colorantes utilizados en las diferentes formulaciones.

3 METODOS DE ENSAYO

3.1 DETERMINACION DEL CONTENIDO DE CUATERNARIOS TOTALES POR VOLUMETRIA CON LAURIL SULFATO, EXPRESADOS COMO CETAB

3.1.1 Materiales y Equipos

3.1.1.1 Balanza analítica

3.1.1.2 Bureta de 50 ml

3.1.1.3 Matraz Erlenmeyer

3.1.1.4 Material usual de laboratorio

3.1.2 Reactivos

3.1.2.1 Acido sulfúrico (H_2SO_4) al 10%

3.1.2.2 Cloroformo

3.1.2.3 Amarillo de metilo (indicador)

3.1.2.4 Solución 0,004 M de Lauril sulfato de sodio.

3.1.3 Procedimiento

3.1.3.1 Se pesa una cantidad de muestra (compuesto de amonio cuaternario) equivalente a 10 mg en CETAB en un cilindro graduado de 100 ml con tapa.

3.1.3.2 Se agregan 30 ml de agua destilada, se mezclan y se calienta si es necesario.

3.1.3.3 Se adicionan 25 ml de H_2SO_4 al 10%, se mezcla y luego se agregan 50 ml de cloroformo.

3.1.3.4 Se titula con una solución 0,004 M de lauril sulfato de sodio en presencia de amarillo de metilo (2 a 3 gotas) como indicador hasta la aparición del primer color naranja en la capa cloroformica.

3.1.4 Expresión de los resultados

El resultado se expresa en % de CETAB utilizando la siguiente expresión.

1 ml Lauril sulfato de Sodio 0,004 M 1,44 mg de CETAB

$$\% \text{ de CETAB} = \frac{V \times N \times 360 \times f.c \times 100}{M} \quad (1)$$

donde:

360 = PM del CETAB (Bromuro de Cetil Trimetil Amonio)

V = Volumen de Lauril sulfato de Sodio 0,004 M consumidos en la titulación.

N = Normalidad de la solución.

f.c. = Factor de corrección del lauril sulfato de sodio.

M = Peso de la muestra en miligramos

3.1.5 Informe

El informe del ensayo deberá indicar como mínimo la siguiente información:

3.1.5.1 Fecha en la cual se realizó el ensayo.

3.1.5.2 Identificación completa de la muestra.

3.1.5.3 Resultados del análisis realizado.

3.1.5.4 Ensayo realizado según la presente norma.

3.1.5.5 Nombre del analista.

3.1.5.6 Observaciones.

3.2 DETERMINACION DE DERIVADOS DE AMONIO CUATERNARIO POR ESPECTROFOTOMETRIA VISIBLE

3.2.1 Materiales y equipos

3.2.1.1 Espectrofotómetro.

3.2.1.2 Balanza analítica.

3.2.1.3 Material usual de laboratorio.

3.2.2 Preparación de las soluciones

3.2.2.1 Preparación de la muestra

Pesar una cantidad de muestra equivalente a 4 mg de cetab. Trasvasar a un balón de 100 ml con la ayuda de 30 ml de agua, mezclar para disolver la muestra (en algunos casos puede ser necesario someter a un calentamiento suave). Llevar a volumen con agua destilada.

3.2.2.2 Preparación del patrón

Pesar 400 mg de patrón de cetab, trasvasar a un balón de 100 ml con la ayuda de 30 ml de agua destilada, mezclar. Llevar a volumen con agua destilada. Rotular solución A.

En un balón de 100 ml tomar 1 ml de la solución A y llevar a volumen con agua destilada. Rotular solución B.

3.2.3 Procedimiento

3.2.3.1 Se toman dos embudos de separación de 250 ml, en uno se colocan 10 ml de la dilución de la muestra y en el otro 10 ml de la solución B del patrón.

3.2.3.2 Se añaden a cada uno 1 ml de HCl 0,1 N y 1 ml de anaranjado de metilo al 0,005 % en agua.

3.2.3.3 Se extraen cada uno con 3 porciones de 30 ml de cloroformo, recibiendo los eluados en un balón de 100 ml y se enrasa con cloroformo.

3.2.3.4 Se leen espectrofotométricamente ($\lambda = 500 - 360$) la muestra y el patrón usando cloroformo como blanco.

3.2.4 Expresión de los resultados

El % de CETAB se expresa según la siguiente ecuación:

$$\text{mg \% cetab} = \frac{\text{AbM} \times \text{Cp. 100}}{\text{Abp. M}} \quad (2)$$

AbM = Absorbancia de la muestra

Abp = Absorbancia del patrón

Cp = Concentración del patrón en mg/ml.

M = Peso muestra

3.2.5 Informe

Ver punto 3.1.5.

3.3 DETERMINACION DE PRESERVATIVOS

3.3.1 Determinación de Bronidox

3.3.1.1. Materiales y Equipos

3.3.1.1.1 Cromatógrafo líquido de alta resolución con detector ultra-violeta.

3.3.1.1.2 Filtro de membrana millipore (2 μ m)

3.3.1.1.3 Balanza analítica

3.3.1.1.4 Inyectadora hamilton de 5 ml.

3.3.1.1.5 Balón aforado de 100 ml y de 10 ml

3.3.1.2 Reactivos

3.3.1.2.1 Etanol

3.3.1.2.2 Agua destilada

3.3.1.2.3 Agente de elución (9 ml de agua destilada + 1 ml de Etanol)

3.3.1.2.4 Solución patrón de Bronidox: Se pesan 10 mg de Bronidox y se le agrega agente de elución cantidad suficiente para 100 ml.

3.3.1.3 Procedimiento

3.3.1.3.1 Se homogeniza la muestra agitándola fuertemente antes de proceder a pesarla

3.3.1.3.2 Se pesa con precisión 3 gramos de la muestra, con la ayuda de la inyectadora de 5 ml en un balón aforado de 10 ml de capacidad

3.3.1.3.3 Se agregan 5 ml del agente de elución, cantidad suficiente para el aforo y se agita.

3.3.1.3.4 Se filtra la solución si es necesario

3.3.1.4 Expresión de los resultados

Luego de inyectar en el cromatógrafo tanto patrón como muestra por triplicado, se calcula la cantidad de bronidox presente en el acondicionador según la siguiente expresión:

$$C = \frac{h_m}{h_p} \times C_p \times f_d \quad (3)$$

donde:

h_m = altura área del bronidox en la solución de muestra inyectada

h_p = altura área del bronidox en la solución patrón inyectada.

C_p = concentración del patrón en la última dilución en partes por millón

$f.d$ = Factor de dilución.

3.3.1.5 Informe

• Ver punto 3.1.5

3.3.2 Determinación del para - cloro meta - xilenol

3.3.2.1 Materiales y Equipos

3.3.2.1.1 Espectrofotómetro

3.3.2.1.2 Balanza analítica

3.3.2.1.3 Embudos de separación

3.3.2.1.4 Placas de sílica gel de 0,25 mm de espesor

3.3.2.1.5 Tanque para cromatografía.

3.3.2.1.6 Material usual de laboratorio

3.3.2.2 Reactivos

3.3.2.2.1 Cloroformo

3.3.2.2.2 Sulfato de sodio anhidro

3.3.2.2.3 Etanol

3.3.2.2.4 Fase Móvil: 9 ml de cloroformo + 1 ml de metanol

3.3.2.2.5 Preparación del blanco: Se disuelve una porción de sílica gel en etanol.

3.3.2.2.6 Preparación de la solución patrón: Se pesan 25 mg del patrón en un balón de 25 ml y se completa a volumen con etanol.

3.3.2.3 Procedimiento

3.3.2.3.1 Se pesa 5 gramos de muestra y se agregan en un embudo de separación con la ayuda de 10 ml de agua destilada.

3.3.2.3.2 Se realiza una extracción con 30 ml de cloroformo recibiendo el extracto en un balón de 100 ml filtrado previamente por sulfato de sodio anhidro (este procedimiento se repite dos veces más)

3.3.2.3.3 Se enrasa con cloroformo y se agita

3.3.2.3.4 Se toma una alícuota de 4 ml y se evapora a sequedad en baño de maría.

3.3.2.3.5 Se retoma el residuo con etanol y se siembra en una placa de sílica gel.

3.3.2.3.6 Se siembra paralelamente una alícuota de 0,2 ml de la solución patrón preparada.

3.3.2.3.7 Se coloca la placa de sílica gel en un tanque para cromatografía de capa fina y se deja correr la placa hasta que la fase móvil llegue al frente del solvente.

3.3.2.3.8 Se saca la placa del tanque y se deja secar.

3.3.2.3.9 Se expone la placa a vapores de yodo para revelar las manchas correspondientes a la muestra y al patrón.

3.3.2.3.10 Se raspan patrón y muestra en dos tubos con tapa y se le agregan 10 ml de etanol al 35% exactamente

3.3.2.3.11 Se agitan ambos tubos y se centrifugan a alta velocidad durante 30 minutos.

3.3.2.3.12 Se leen ambas soluciones en el espectrofotómetro usando el blanco de sílica gel en etanol haciendo un barrido desde 360 nm a 220 nm

3.3.2.4 Expresión de los resultados:

El porcentaje del para - cloro - meta - xilenol se calcula usando la siguiente expresión y realizando las diluciones correspondientes.

$$C_m = \frac{A_{bm} \times C_p}{A_{bp}} \quad (4)$$

Donde:

C_m = Concentración de la muestra

A_{bm} = Absorbancia de la muestra

C_p = Concentración del patrón.

A_{bp} = Absorbancia del patrón.

3.3.2.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.3 Determinación de Fenoxietanol

3.3.3.1 Materiales y Equipos

3.3.3.1.1 Espectrofotómetro ultravioleta con un par de celdas de cuarzo de 1 cm.

3.3.3.1.2 Jeringa de 1 ml

3.3.3.1.3 Matraz volumétrico de 250 ml

3.3.3.2 Reactivos

3.3.3.2.1 Etanol

3.3.3.3 Procedimiento

3.3.3.3.1 Se mide 1 ml de la muestra y se agregan en un matraz volumétrico de 250 ml.

3.3.3.3.2 Se lleva a volumen con etanol y se mezcla bien.

3.3.3.3.3 Se llevan ambas celdas con etanol y se insertan en el instrumento.

3.3.3.3.4 Se calibra el equipo a cero, usando las celdas con el etanol entre 310 nm y 260 nm

3.3.3.3.5 Se vacía, se lava y se llevan ambas celdas con la solución de la muestra y se insertan en el instrumento.

3.3.3.3.6 Se ajusta el cero a 310 nm y se realiza un barrido lentamente hasta 260 nm. Se grafica la absorbancia máxima obtenida en mg.

3.3.3.4 Expresión de los resultados

3.3.3.4.1 El fenoxietanol es positivo si la absorbancia obtenida es mayor que 0.2

3.3.3.4.2 El fenoxietanol es negativo si la absorbancia obtenida es menor que 0.2

3.3.3.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.4 Determinación de Formaldehído

3.3.4.1 Materiales y Equipos

3.3.4.1.1 Espectrofotómetro de fluorescencia con lámpara XENON y suministro de energía.

3.3.4.2 Reactivos

3.3.4.2.1 Acetil-acetona: se prepara midiendo 0.2 ml de acetil-cetona (recientemente destilada a una temperatura 134 - 137°C, de tal manera que esté libre de color o fluorescencia) y se agregan 0.3 ml de ácido acético glacial, se mezcla y luego se agregan 15.4 g de acetato de amonio y se completa con agua hasta el aforo de 100 ml.

3.3.4.2.2 Hidroximetil dimetilhidantoina

3.3.4.3 Preparación de soluciones patrón

3.3.4.3.1 Solución madre de formaldehído: (1 mg de formaldehído/ml). Se adicionan desde una bureta 0,1 ml de solución comercial de formaldehído al 36,8% en un matraz volumétrico de 100 ml y se diluye a volumen con metanol (1+9).

3.3.4.3.2 Solución Intermedia: (10 mg de formaldehído/ml): Se pipetea 1 ml de solución madre de formaldehído, se agrega en un matraz volumétrico de 100 ml y se lleva a volumen con metanol (1 + 9).

3.3.4.3.3 Soluciones de trabajo de 0.2, 0.4, 0.6 y 0.8 mg de formaldehído/ml: se pipetea 2ml, 4ml, 6ml y 8ml respectivamente de la solución intermedia en matraces volumétricos de 100 ml de aforo y se diluye cada contenido con metanol (1 + 9).

3.3.4.3.4 Soluciones patrón: Se preparan soluciones patrón de liberadores de formaldehído, conteniendo 0.5 y 2.0 mg de preservativo/ml en metanol (1 + 9).

3.3.4.4 Procedimiento

3.3.4.4.1 Preparación de la muestra:

3.3.4.4.1.1 Se pesa alrededor de 100 mg de acondicionador dentro de un matraz volumétrico de 10 ml de capacidad.

3.3.4.4.1.2 Se lleva a volumen con metanol (1 + 9)

3.3.4.4.2 identificación cualitativa

3.3.4.4.2.1 Se siembran en una placa para cromatografía de capa fina (20 x 20 cm) de 5 a 10 ml de la solución muestra así como de las diferentes soluciones patrón.

3.3.4.4.2.2 Se coloca la placa dentro de un tanque para cromatografía que contenga benceno y acetona (8 + 2) y se deja correr.

3.3.4.4.2.3 Una vez alcanzado el frente de solvente, se saca del tanque cromatográfico y se seca al aire (bajo campana de extracción).

3.3.4.4.2.4 Se rocía la placa con el reactivo acetil-acetona.

3.3.4.4.2.5 Se coloca la placa en la estufa durante 10 minutos a una temperatura de 110°C para desarrollar el color amarillo.

3.3.4.4.2.6 Se compara el Rf de la muestra con el de los diferentes patrones para determinar que tipo de preservativo está presente.

3.3.4.4.3 Preparación de 3,5 diacetil - 1,4 dihidrobutidine.

3.3.4.4.3.1 Se pipetea alrededor de 2 ml de muestra ó solución patrón dentro de un pequeño matraz erlenmeyer de vidrio con tapón.

3.3.4.4.3.2 Se añade un volumen igual del reactivo acetil-acetona

3.3.4.4.3.3 Se colocan las soluciones reactantes en una estufa ó en un baño de maría durante 1 hora a una temperatura de 60°C.

3.3.4.4.3.4 Se sacan las soluciones de la estufa o del baño y se enfrian a temperatura ambiente.

3.3.4.4.3 Determinación de la fluorescencia

3.3.4.4.4.1 Se registra el espectro fluorescente de 420 a 700 nm.

3.3.4.4.4.2 Se selecciona una fijación de sensibilidad de muestra que mantenga la intensidad sobre la escala y cubra el rango de dicha escala para soluciones patrón.

3.3.4.4.4.3 Se determina la intensidad de la solución de concentración desconocida en la misma fijación de sensibilidad de la muestra.

3.3.4.5 Expresión de los resultados

3.3.4.5.1 Se grafica la intensidad de la fluorescencia de los patrones contra la concentración a 510 nm y se obtiene la concentración de formaldehído de la muestra a partir de la curva patrón.

3.3.4.5.2 Se determina el Bronopol directamente de un conjunto de patrones.

3.3.4.5.3 Se calculará el Germall 115 ó HMDMH (Hidroximetil dimetilhidantoina) según la siguiente ecuación.

$$\text{Gramos de Preservativo/ml} = \frac{Gf \times m}{30} \quad (5)$$

Donde:

Gf = Gramos de formaldehído/ml.

m = Peso en gramos del preservativo

3.3.4.6 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.5 Determinación de bronopol

3.3.5.1 Materiales y equipos

3.3.5.1.1 Balanza analítica

3.3.5.1.2 Cilindro graduado de 25 ml.

3.3.5.1.3 Pipetas volumétricas de 1 ml y 5 ml.

3.3.5.1.4 Viales para reactivos, capaz de mantener cerrado con un septum de goma y sellado con un cierre de metal.

3.3.5.1.5 Inyectadora de 10 μ l

3.3.5.1.6 Balones aforados de 25 ml y 10 ml.

3.3.5.1.7 Baño de maría

3.3.5.2 Condiciones instrumentales

3.3.5.2.1 Cromatógrafo de gases equipados con detector de ionización a la llama.

3.3.5.2.2 Columna

3.3.5.2.3 Temperaturas

Inyector 250°C

Detector 220°C

Horno 150°C isotérmico

3.3.5.2.4 Flujo de 25 ml/min del gas portador (Helio)

3.3.5.2.5 Velocidad del panel de 1,0 cm/min.

3.3.5.2.6 Flujo de gases de la llama:

Hidrógeno: 30 ml/min.

Aire: 240 ml/min.

3.3.5.3 Reactivos:

3.3.5.3.1 Aceite cloruro

3.3.5.3.2 Bronopol de pureza conocida

3.3.5.3.3 Cloroformo p.a

3.3.5.3.4 N - Pentadecano

3.3.5.4 Procedimiento

Parte I

3.3.5.4.1 Preparación patrón "A" (N - Pentadecano): se pipetea con exactitud 2,0 ml de N - pentadecano en un balón aforado de 100 ml y se diluye a volumen con cloroformo se tapa y se agita suavemente.

3.3.5.4.2 Solución patrón "B" (Patrón de trabajo): Se pesa con exactitud 0,150 g de Bronopol (de pureza conocida) en un balón aforado de 25 ml. Se adicionan 15 ml de cloroformo, se calienta en un baño de vapor hasta que el bronopol se disuelva. Se enfria y se añade 5 ml del patrón "A" y se diluye a volumen con cloroformo. Se tapa y se agita nuevamente.

Parte II

3.3.5.4.2 Preparación de la muestra

3.3.5.4.2.1 Se pesa con exactitud 0,15 g de muestra en un balón aforado de 25 ml.

3.3.5.4.2.2 Se añaden 15 ml de cloroformo y se calienta en baño de maría hasta que la muestra este disuelta.

3.3.5.4.2.3 Se enfria y se añade 5 ml del patrón "A". Se diluye a volumen con cloroformo, se tapa y se agita nuevamente.

Parte III

3.3.5.4.3 Preparación del derivado Diacetato de bronopol.

3.3.5.4.3.1 Se mide 1,0 ml de patrón "B" en un vial con septum de goma y se rotula vial No. 1.

3.3.5.4.3.2 Se mide 1,0 ml de la solución de la muestra (preparada en la Parte II) en un vial con septum de goma y se rotula vial No. 2.

3.3.5.4.3.3 A cada vial se le adicionan 0,3 ml de Acetil Cloruro, se sella y se calienta en baño de maría por 3 horas.

NOTA: Un periodo de calentamiento menor, dará como resultado un pico adicional debido al derivado monoacetato.

3.3.5.4.3.4 Se inyectan 0,4 μ l del patrón acetilado del vial No. 1 en el cromatógrafo de gases equilibrado y se comienza la integración.

3.3.5.4.3.5 Se ajusta el tamaño de la muestra y la atenuación para asegurar que ambos picos esten dentro de la escala. La muestra eluirá de la siguiente forma: Bronopol, Diacetato y N-pentadecano.

3.3.5.4.3.6 Se repite la inyección por lo menos 2 veces o hasta que con inyecciones repetitivas se obtengan valores de áreas idénticas para cada pico.

3.3.5.4.3.7 Se repiten los puntos 3.3.5.4.3.4 y 3.3.5.4.3.5 usando ahora el material acetilado del vial No. 2.

3.3.5.5 Expresión de los resultados

El porcentaje de bronopol se calcula mediante la siguiente ecuación:

Determine el área para cada pico.

$$\% \text{ Bronopol} = \frac{R_p \times W_{spl}}{R_{spl} \times W_p} \times 100 \quad (6)$$

Donde:

R_p = Área del pico del diacetato de bronopol, dividido entre el área del pico del patrón interno (patrón A) por inyección del patrón.

R_{spl} = Área del pico del diacetato de Bronopol dividido entre el área del pico del patrón interno (patrón A) por inyección de la muestra.

W_p = Peso del bronopol puro en gramos del patrón "B"

W_{spl} = Peso de la muestra en gramos.

3.3.5.6 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.6 Determinación del Germal II

3.3.6.1 Materiales y equipos

3.3.6.1.1 Balanza analítica

3.3.6.1.2 Espectrofotómetro

3.3.6.1.3 Material usual de laboratorio

3.3.6.2 Reactivos

3.3.6.2.1 Acido clorhídrico (1:1)

3.3.6.2.2 Metanol

3.3.6.2.3 1,3 dihidronaftaleno

3.3.6.3 Preparación de las soluciones

3.3.6.3.1 Preparación de la solución patrón de Germal II

3.3.6.3.1.1 Se pesa aproximadamente 500 mg de Germal II dentro de un matraz volumétrico de 100 ml, se añaden alrededor de 50 ml de agua, se disuelve, se diluye a volumen y se mezcla bien.

3.3.6.3.1.2 Se miden 10 ml de esta solución y se adicionan dentro de un matraz volumétrico de 100 ml y se diluye a volumen, obteniendo una solución de concentración 0,5 mg/ml de Germal II.

3.3.6.4 Procedimiento

3.3.6.4.1 Procedimiento para la solución patrón

3.3.6.4.1.1 Se miden 0,2 ml, 0,4 ml, 0,8 ml y 1,0 ml de la solución patrón de Germal II (0,5 mg/ml) dentro de seis matraces volumétricos de 25 ml para preparar

las diferentes soluciones patrones que se leeran posteriormente.

3.3.6.4.1.2 Se añaden 2,5 ml de una solución al 1 % de 1,3 dihidronaftaleno, recientemente preparada y filtrada y se mezcla bien.

3.3.6.4.1.3 Se añaden 5,0 ml de ácido clorhídrico (1:1), solución acuosa y se mezcla bien.

3.3.6.4.1.4 Se calienta la solución en baño de maría a 70°C por 1 hora.

3.3.6.4.1.5 Después de transcurrida la hora, se remueve el matraz volumétrico se enfria en baño de hielo y se diluye a volumen con metanol.

3.3.6.4.1.6 Se mide la absorbancia de todas las soluciones a una longitud de onda $\lambda = 520$ nm en un espectrofotómetro (se usa metanol para llevar a cero de absorbancia el instrumento).

3.3.6.4.1.7 Se resta la absorbancia del blanco para obtener la absorbancia correcta de las soluciones.

3.3.6.4.2 Procedimiento para la solución desconocida

3.3.6.4.2.1 Se miden de un matraz volumétrico de 25 ml, 1,0 ml del extracto acuoso de la solución desconocida cuya concentración estimada no es más que la de 0,5 mg/ml de Germal II.

3.3.6.4.2.2 Se añaden 2,5 ml de una solución recientemente preparada y filtradas de 1,3 ml diluido en naftaleno y 5,0 ml de ácido clorhídrico 1:1 y se mezcla bien.

3.3.6.4.2.3 Se continúa el ensayo de la misma manera que en el caso de la solución patrón descrita anteriormente.

3.3.6.4.2.4 Se resta la absorbancia del blanco para obtener la absorbancia correcta de la solución desconocida.

3.3.6.5 Expresión de los resultados

Se selecciona la absorbancia correcta de la solución patrón y del extracto acuoso de la solución desconocida y se calcula su concentración según la siguiente ecuación:

$$\begin{array}{l} \text{Concentración de la solución} \\ \text{desconocida en mg/ml} \end{array} = \frac{\text{Abmc} \times \text{Cpc}}{\text{Abpc}} \quad (7)$$

Donde:

Abmc = Absorbancia corregida del extracto acuoso desconocido.

Abpc = Absorbancia corregida del patrón

Cpc = Concentración del patrón en mg/ml

3.3.6.6 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.7 Determinación cualitativa de parabenos (METIL/PROPIL) en productos cosméticos.

A) Por espectrofotometría visible.

3.3.7.1 Materiales y Equipos

3.3.7.1.1 Placas de fase reversa (0,2 mm) con indicador fluorescente para cromatografía en capa fina.

3.3.7.1.2 Tanque para desarrollo de cromatografía en capa fina.

3.3.7.1.3 Fuente de luz ultravioleta.

3.3.7.1.4 Secador eléctrico portátil.

3.3.7.1.5 Embudos de vidrio.

3.3.7.1.6 Jeringas de 2 microlitros

3.3.7.1.7 Vasos de precipitado de 250 ml y 50 ml.

3.3.7.1.8 Papel de filtro cortado para recubrimiento de tanque.

3.3.7.1.9 Papel de filtro libre de cenizas.

3.3.7.1.10 Matraz volumétrico de 25 ml.

3.3.7.1.11 Varillas de vidrio.

3.3.7.2 Procedimiento

3.3.7.2.1 Se pesan 0,5 g de muestra en un vaso de precipitado de 5 ml y se añaden 25 ml de etanol y se mezclan muy bien. Se filtran y se evapora la solución alcohólica en un baño de maría con ayuda de aire hasta reducir el volumen a + 5 ml.

3.3.7.2.2 Se siembran de 10 a 20 microlitros de la solución en placa de silicagel (20 x 20 cm).

3.3.7.2.3 Se preparan las soluciones alcohólicas de los patrones a concentraciones similares a las de la muestra y se siembran.

3.3.7.2.4 Se desarrolla la placa en la Fase Pentano - Acido Acético (88:12) y se observa la placa bajo la luz U.V comparando las manchas obtenidas en la muestra con la de los patrones.

3.3.7.3 Expresión de los resultados

Se reporta como positivo si en la siembra de la muestra se observan manchas que se

Se reportan como negativo en caso de no observarse ninguna mancha que se corresponda a los patrones de parabenos sembrados.

3.3.7.3.1 Se determina el tamaño de muestra para análisis de acuerdo a lo siguiente:

% Parabeno (s) en Producto	Peso de Muestra (g)
0,20	0,60
0,35	0,35
0,50	0,24
0,80	0,15

3.3.7.3.2 Se pesa la cantidad de muestra apropiada según lo indicado en el punto anterior en el tubo para centrifuga de 50 ml.

3.3.7.3.3 Se añaden 30 ml de agua destilada, se cierra herméticamente con su tapa de vidrio y se agita vigorosamente hasta obtener una completa dispersión de la muestra.

3.3.7.3.4 Se añaden 0.3 ml de ácido clorhídrico (HCl) y mezcla.

NOTA 1: Una de las funciones de acidificación del medio es la de facilitar el proceso de filtración.

3.3.7.3.5 Se prepara una rejilla de celita en el embudo de separación, utilizando un papel de filtro libre de cenizas, filtrando por vacío.

3.3.7.3.6 Se filtra la muestra y se recolecta el filtrado en un vaso de precipitado de 150 ml. El filtrado obtenido debe ser claro y sin turbiedad.

3.3.7.3.7 Se lava el tubo para centrifuga con 10 ml de agua destilada y se filtra siguiendo el mismo procedimiento utilizado para la muestra, recogiendo el filtrado en el mismo vaso de precipitado.

3.3.7.3.8 Se transfiere el contenido del vaso de precipitado a un matraz volumétrico de 200 ml, se lava el vaso de precipitado con tres porciones de 10 ml de agua destilada y se transfieren igualmente los lavados al matraz volumétrico de 200 ml. Se diluye a volumen con agua destilada y se mezcla. (ROTULE SOLUCION "N")

3.3.7.3.9 Se calibra el cero del espectrofotómetro a 257 nm con agua destilada en las dos celdas del mismo.

3.3.7.3.10 Se lee la absorbancia de la solución rotulada "N" de 360 nm a 200 nm usando escala 0 - 1 de absorbancia.

3.3.7.4 Expresión de los resultados.

El pico a 257 nm correspondiente a parabenos debe tener una absorbancia mayor de 0,3 cuando la muestra pesada está dentro de los límites especificados en la tabla del punto 3.3.7.3.1.

El resultado se reporta como positivo o negativo.

3.3.7.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.8 Determinación cualitativa de ácido sorbico en cosméticos

3.3.8.1 Materiales y Equipos

3.3.8.1.1 Placas de fase reversa (0,2 nm) con indicador fluorescente para cromatografía en capa fina.

3.3.8.1.2 Tanque para desarrollo de cromatografía en capa fina.

3.3.8.1.3 Fuente de luz ultravioleta

3.3.8.1.4 Secador eléctrico portátil.

3.3.8.1.5 Embudos de vidrio

3.3.8.1.6 Jeringas de 2 microlitros

3.3.8.1.7 Vasos de precipitado de 250 ml y 50 ml

3.3.8.1.8 Papel de filtro cortado para recubrimiento de tanque.

3.3.8.1.9 Papel de filtro libre de cenizas.

3.3.8.1.10 Matraz volumétrico de 25 ml.

3.3.8.1.11 Varillas de vidrio

3.3.8.1.12 Cilindros graduados de 200 ml y 25 ml

3.3.8.2 Reactivos

3.3.8.2.1 Metanol grado reactivo

3.3.8.2.2 Acido acetico glacial, grado reactivo

3.3.8.2.3 Agua destilada

3.3.8.2.4 Solvente para desarrollo cromatográfico (mezcla de 130 ml de metanol con 66 ml de agua destilada y 4 ml de ácido acético glacial).

3.3.8.2.5 Solución patrón de ácido sórbico. Se pesan $0,1 \text{ g} \pm 0,01\text{g}$ de ácido sórbico en un balón aforado de 25 ml y se añaden 20 ml de metanol, se disuelve con leve agitación y se diluye a volumen con metanol. Se mezcla homogéneamente y se rotula solución patrón de ácido sórbico.

3.3.8.3 Procedimiento

3.3.8.3.1 Preparación del tanque para cromatografía.

- 3.3.8.3.1.1 Se coloca el tanque bajo campana de ventilación y se añade suficiente solvente hasta alcanzar un nivel de altura de alrededor de 1,5 cm.
- 3.3.8.3.1.2 Se recubren internamente las paredes del tanque con papel de filtro asegurandose que dicho papel se impregne con el solvente.
- 3.3.8.3.1.3 Se tapa el tanque cromatográfico para permitir que el sistema se equilibre al menos por 30 minutos.
- 3.3.8.3.2 Preparación y cromatografía de la muestra.
- 3.3.8.3.2.1 Se pesan $20 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$ de la muestra en un vaso de precipitado de 50 ml.
- 3.3.8.3.2.2 Se añaden 15 ml de metanol y se dispersa la muestra con una varilla de vidrio.
- 3.3.8.3.2.3 Se filtra la solución a través de papel de filtro, recogiendo el filtrado en un segundo vaso de precipitado de 50 ml.
- 3.3.8.3.2.4 Se traza (con un lapiz de grafito) sobre una placa para cromatografía, una línea paralela (al lado más corto de la placa y a 2,54 cm de separación). Esta línea demarca el origen para el desarrollo.
- 3.3.8.3.2.5 Se traza una segunda línea sobre la placa a 7 cm, por encima y paralela a la línea de origen. Esta línea demarca el frente de solvente para el desarrollo.
- 3.3.8.3.2.6 Se realizan dos marcas sobre la línea de origen con una separación mínima de 2 cm, entre una y otra para la siembra de la muestra a investigar y el correspondiente patrón. Estas marcas indican la posición de cada muestra, rotulando muestra uno y muestra dos en su respectivo punto de siembra.
- 3.3.8.3.2.7 Se toman de cada una de las muestras una cantidad o microlitros, con una jeringa de 25 microlitros y se siembran en el lugar indicado por su respectiva marca en la placa, sembrando en porciones de 2 microlitros cada vez, hasta completar el total de la muestra.
- NOTA 2: Utilice un secador eléctrico para asegurar que la muestra esté totalmente seca, antes de una sucesiva siembra. Mantenga el área de siembra tan pequeña como sea posible.
- 3.3.8.3.2.8 Se lava y se purga la jeringa con metanol y se procede a sembrar 2 microlitros de la solución patrón de ácido sórbico, en el sitio indicado por su correspondiente marca.
- 3.3.8.3.2.9 Se seca la placa a 105°C durante 5 minutos para asegurar que ésta quede completamente seca. Se deja enfriar a temperatura ambiente.
- 3.3.8.3.2.10 Se coloca la placa en el tanque para el desarrollo cromatográfico, y se cierra herméticamente para que el solvente alcance completo desarrollo.
- 3.3.8.3.2.11 Una vez completado el desarrollo cromatográfico se saca la placa del tanque y se seca con el secador eléctrico.

3.3.8.4 Expresión de los resultados

Se inspecciona la placa en la obscuridad bajo fuente de luz ultravioleta y se localiza la mancha del ácido sórbico en la muestra por comparación de ésta respecto a la posición de la mancha dejada por la solución patrón de ácido sórbico.

Las manchas respectivas se detectan por la aparición de un color violeta (mancha) sobre color verde (fondo-placa).

El resultado se reporta como positivo o negativo.

3.3.8.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.9 Determinación del Germall 115

3.3.9.1 Materiales y Equipos

3.3.9.1.1 Balanza analítica

3.3.9.1.2 Espectrofotómetro

3.3.9.1.3 Material usual de laboratorio

3.3.9.2 Reactivos

3.3.9.2.1 Acido clorhídrico concentrado

3.3.9.2.2 1,3 dihidroxinaftaleno

3.3.9.2.3 Metanol

3.3.9.3 Preparación de las soluciones

3.3.9.3.1 Solución patrón de Germall 115:

3.3.9.3.1.1 Se transfieren exactamente 500 ml de Germall 115 a un matraz volumétrico de 100 ml y se adicionan alrededor de 50 ml de agua destilada, se disuelve, se lleva a volumen y se mezcla bien.

3.3.9.3.1.2 Se miden exactamente 1,0 ml de esta solución y se adicionan en un matraz volumétrico de 100 ml, se lleva a volumen con agua destilada y obtenemos una solución patrón de Germall 115 de 0,05 mg/ml.

3.3.9.4 Procedimiento

3.3.9.4.1 Solución patrón

3.3.9.4.1.1 Se miden alícuotas de 2 ml, 4 ml, 6 ml, y 10 ml de la solución patrón (0,05 mg/ml) y se agregan dentro de seis matraces volumétricos y se rotulan soluciones patrones de Germall 115.

2 ml de solución patrón = 0,1 mg Germall 115

4 ml de solución patrón = 0,2 mg Germall 115

6 ml de solución patrón = 0,3 mg Germall 115

8 ml de solución patrón = 0,4 mg germall 115

10 ml de solución patrón = 0,5 mg Germall 115

3.3.9.4.1.2 Se adicionan a cada matraz un volumen de 10 ml de agua destilada, 15 ml de solución de 1,3 dihidroxinaftaleno recientemente preparada y filtrada y se añade una mezcla de 30 ml de ácido clorhídrico concentrado y 10 ml de agua destilada recientemente preparada y filtrada, lista para usar el mismo día.

3.3.9.4.1.3 Se calienta en baño de vapor a 100°C por 1 hora, se enfría en baño de hielo y se agregan 50 ml de metanol absoluto.

3.3.9.4.1.4 Se lleva a cero de absorbancia el instrumento usando metanol y luego se mide la absorbancia de cada una de las soluciones a una longitud de onda de $\lambda = 520$ nm en un fotómetro.

NOTA: Es aconsejable realizar un barrido desde 490 - 529 nm ya que la absorbancia máxima la tendremos a 520 nm.

3.3.9.4.1.5 Se resta la absorbancia del blanco para obtener la absorbancia correcta de las diferentes soluciones patrones.

3.3.9.4.2 Extracción y ensayo de desconocido.

3.3.9.4.2.1 Se pesa suficiente muestra para obtener 4 - 5 mg de Germall 115 dentro de un embudo de separación y se añaden 10 ml de cloroformo.

3.3.9.4.2.2 Se extrae la muestra con 5 porciones de 10 ml de agua destilada (se puede agregar 0,3 ml de ácido hidroclorehídrico a cada una de las muestras de 10 ml para favorecer la separación de las capas).

3.3.9.4.2.3 Se lavan las capas acuosas con 2 porciones de 10 ml de cloroformo.

3.3.9.4.2.4 Se filtran las capas acuosas lavadas con cloroformo para obtener un filtrado translúcido e incoloro y se diluye a volumen con agua en un matraz volumétrico de 50 ml.

3.3.9.4.2.5 Se mide una alícuota de 5 ml de este extracto incoloro en otro matraz volumétrico de 50 ml y se añaden 5 ml de agua destilada.

3.3.9.4.2.6 Se añaden 5 ml de solución indicadora y se calienta en baño de vapor a 100°C durante 15 minutos ó a 70°C por una hora.

3.3.9.4.2.7 Se enfría en baño de hielo y se diluye a volumen (50 ml) con metanol anhidro.

3.3.9.4.2.8 Se mide la absorbancia a $\lambda = 520$ nm tal y como se describe anteriormente para las soluciones patrones.

3.3.9.5 Expresión de los resultados

Se selecciona la absorbancia correcta de la solución patrón de Germall 115 en la emulsión según la siguiente ecuación:

$$\begin{array}{l} \text{\% Germall 115} \\ \text{(concentración teórica)} \end{array} = \frac{A_{bm}}{A_{bp}} \times \text{mg p} \times \frac{1000}{M} \quad (8)$$

Donde:

A_{bm} = Absorbancia de la muestra

A_{bp} = Absorbancia del patrón

mgp = Total en mg del patrón escogido

M = Peso de la muestra en mg.

3.3.9.5.1 Corrección del rendimiento de extracción

$$\begin{array}{l} \text{Rendimiento de CTM} \\ \text{Extracción} = \frac{\text{-----}}{\text{del ratio CCM}} \end{array} \quad (9)$$

Donde:

CTM = Concentración teórica en % de la muestra conocida.

CCM = Concentración conocida en % de la muestra conocida

3.3.9.5.2 Determinación de la concentración actual de Germall 115 en una emulsión desconocida.

$$\begin{array}{l} \text{\% Germall 115} \\ \text{en la emulsión} \\ \text{desconocida} \end{array} = \frac{\text{C.T.E.D}}{\text{R.E.R}} \quad (10)$$

Donde:

CTED = % de la concentración teórica de la emulsión desconocida

R.E.R = Rendimiento de extracción del ratio

3.3.9.6 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.10 Determinación cualitativa del Acido Benzoico

3.3.10.1 Materiales y Equipos

3.3.10.1.1 Placas de cromatografía de capa fina de sílica gel con indicador fluorescente.

3.3.10.1.2 Tanque cromatográfico con tapa.

3.3.10.1.3 Jeringa/calibrada en microlitros

3.3.10.1.4 Material usual de laboratorio.

3.3.10.2 Reactivos

3.3.10.2.1 Alcohol

3.3.10.2.2 Eter Etilico

3.3.10.2.3 Cloroformo

3.3.10.2.4 Hexano

3.3.10.2.5 Acido Acético Glacial

3.3.10.2.6 Acido Benzoico

3.3.10.2.7 Mezcla solvente 2:1:1 V/V

Mezcle en un matraz volumétrico de 250 ml, 100 ml Cloro, 50 ml Eter, 50 ml Hexano más dos 2 ml de ácido acético glacial V/V.

3.3.10.3 Procedimiento

3.3.10.3.1 Preparación del patrón

3.3.10.3.1.1 Se pesa $0,1 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ de ácido benzóico en un vaso de precipitado de 100 ml.

3.3.10.3.1.2 Se añade 50 ml de alcohol y se disuelve con un agitador cubriendolo con un vidrio de reloj.

3.3.10.3.2 Preparación de la muestra

3.3.10.3.2.1 Se pesa $1 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$ del producto en un vaso de precipitado de 100 ml.

3.3.10.3.2.2 Se añade 10 ml de eter etilico y se dispersa el producto usando agitador de vidrio se agita por 5 minutos (realice el trabajo sobre campana).

3.3.10.3.2.3 Se transfiere la solución en un tubo de centrifuga de 50 ml.

3.3.10.3.2.4 Se lava el vaso de precipitado con 5 ml adicionales de éter etílico y se añaden estos lavados al tubo de centrifuga se tapa el tubo y se centrifuga por 5 minutos a 2.000 r.p.m.

por 5 minutos a 2.000 r.p.m.

3.3.10.3.2.5 Se saca el tubo de la centrifuga y se deja tapado hasta la siembra.

3.3.10.3.2.6 Cromatografía de Capa Fina

3.3.10.3.2.6.1 Se coloca el tanque de desarrollo en una campana ventilada y se añade suficiente mezcla solvente para llevar a volumen a un nivel aproximado de 12,7 mm (0,5 pulgadas).

3.3.10.3.2.7 Se cubren las paredes del tanque con el papel de filtro y se inclinan para mojar toda la superficie del papel.

3.3.10.3.2.8 Se coloca la tapa en el tanque y un peso sobre ella.

3.3.10.3.2.9 En una placa de cromatografía de capa fina con indicador fluorescente se dibuja una línea (con un lápiz) paralela y aproximadamente a 25,4 mm una (1 pulgada) del borde.

3.3.10.3.2.10 Se dibuja una segunda línea, paralela al origen de 10-12 cm por arriba de él. Esta línea marca la distancia que el solvente deberá migrar antes de quitarlo del tanque.

3.3.10.3.2.11 Se colocan dos (2) marcas a lo largo del origen por lo menos a 2 cm de distancia entre ellas y se rotula un punto como patrón y el otro como muestra.

3.3.10.3.2.12 Usando una jeringa de 100 μ l, se aplica 2 μ l de la solución de la muestra en la marca apropiada. Seque. Repita el procedimiento hasta colocar 50 μ l de la solución de la muestra en el punto.

No deje que el punto se haga muy grande, mantengalo lo más pequeño posible. Esto impedirá resultados dudosos en la banda de propagación.

3.3.10.3.2.13 Se lava la jeringa con alcohol y se coloca 10 μ l de la solución patrón de ácido benzoico en la marca apropiada en incrementos de 2 μ l cada vez.

3.3.10.3.2.14 Cuando los puntos estén completamente secos, se colocan las placas en el tanque, con el origen hacia abajo y se repone la tapa y el peso.

3.3.10.3.1.15 Se deja que el solvente alcance su línea de origen, se retiran las placas del tanque y se seca bajo campana. (Nota 3)

3.3.10.4 Expresión de los resultados

Precaución: Use lentes oscuros cuando observe las placas TLC bajo L.U.V. Visiones prolongadas sin el uso de los lentes oscuros pueden dañar los ojos.

3.3.10.4.1 Inspeccione las placas en un área oscura bajo L.U.V. y localice el ácido benzoico e la muestra comparando éste con la posición del patrón ácido benzoico, (Los puntos aparecerán violeta en un fondo verde). Perfile todos los puntos con un lápiz.

3.3.10.4.2 El punto del ácido benzoico de la muestra deberá ser igual al punto del patrón en tamaño y valor Rf.

NOTAS:

- 1.- Si no se dispone de placas con indicador fluorescente se pueden usar placas sin el indicador. La visualización se logra rociando con 2,7 diclorofluoresceína que hace al ácido benzóico fluorescente bajo L.U.V. Esta técnica es menos sensitiva y requiere una aplicación doble de la muestra y el patrón a la usada con sílica gel fluorescente.
- 2.- La mezcla de solventes debe ser agregada al tanque y dejarla equilibrar por lo menos 1 hora antes de usar.
Para ganar tiempo, esta técnica deberá realizarse al inicio del análisis.
- 3.- Si el método es para usarse en otros productos que contengan superficies fuertemente activas pueden ser necesarios múltiples desarrollos para eliminar el rayado. Deje el solvente alcanzar la mitad de la distancia que hay entre el origen y la línea del solvente. Retire las placas del tanque y seque bajo campana. Coloque las placas volteadas en el tanque y repita la operación.
Se deja que el último desarrollo termine (el solvente alcanza la línea del solvente).

3.3.10.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.3.11 Determinación de Kathon C.G. (Metil-cloro isotiazolonone + Metilisotiazolonone)

3.3.11.1 Materiales y Equipos

3.3.11.1.1 Balanza analítica

3.3.11.1.2 Baño de vapor

3.3.11.1.3 Placa de sílica gel

3.3.11.1.4 Jeringa calibrada en microlitros

3.3.11.1.5 Material usual de laboratorio

3.3.11.2 Reactivos

3.3.11.2.1 Eter de petróleo

3.3.11.2.2 Alcohol etílico

3.3.11.2.3 Cloroformo

3.3.11.2.4 Metanol

3.3.11.3 Procedimiento

3.3.11.3.1 Se pesan alrededor de 10 gramos de muestras y se llevan a un embudo de separación de 250 ml y se extrae con eter de petróleo pasando cada extracto a un

3.3.11.3.2 Se somete a evaporación completa, se retoma con alcohol etílico para sembrarlo en placa de sílica gel.

3.3.11.3.3 El patrón se disuelve en alcohol etílico y se siembra en la misma placa de sílica de la muestra.

3.3.11.3.4 Se coloca la placa en el tanque de cromatografía que contiene la fase móvil cloroformo - metanol (95 - 5) y se deja correr la placa hasta llegar al frente del solvente.

3.3.11.3.5 Se seca la placa cromatográfica y se observa en la luz ultra violeta para comparar las manchas del patrón y la muestra.

3.3.11.4 Expresión de los resultados

Se reporta positivo el Kathon C.6. si se observa en la placa cromatográfica una mancha que coincida con la del patrón sembrado al mismo Rf. Y negativo si no aparece mancha alguna.

3.3.11.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.4 DETERMINACION DE COLORANTES POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

3.4.1 Materiales y equipos

3.4.1.1 Placas de sílica gel para cromatografía en capa fina fluorescente.

3.4.1.2 Tanque cromatográfico

3.4.1.3 Baño de maría

3.4.1.4 Material usual de laboratorio

3.4.2 Reactivos:

3.4.2.1 Acetato de etilo

3.4.2.2 Metanol

3.4.2.3 Hidroxido de amonio en agua (3 + 7)

3.4.2.4 Alcohol grado analítico

3.4.2.5 Acetona

3.4.2.6 Acido clorhídrico

3.4.3 Procedimiento

3.4.3.1 Se pesa aproximadamente 1 gramo de muestra y se añaden 20 ml de acetona y 4 ml de ácido clorhídrico.

NOTA 4:

Algunos productos precipitan más fácil y rápidamente con 20 ml de alcohol y 4 ml de ácido clorhídrico y otros solamente con alcohol.

3.4.3.2 Se obtiene el espectro visible de la muestra contra patrones de los colorantes presentes en ella, preparados en iguales condiciones que la muestra.

3.4.3.3 Si hay presente más de un colorante puede ser necesario realizar una separación cromatográfica en capa fina, para lo cual se procede de la siguiente manera:

3.4.3.3.1 Se evapora el filtrado obtenido en un baño de maría con la ayuda de aire.

3.4.3.3.2 Se retoma con 2 ml de alcohol y se siembran 100 microlitros en placa de sílica gel.

3.4.3.3.3 Se siembran 100 microlitros también de cada una de las soluciones patrones de los colorantes declarados en la fórmula del producto, preparados en iguales condiciones que la muestra.

3.4.3.3.4 Se desarrolla la placa en el tanque cromatográfico que contiene:

15 ml de Acetato de Etilo

3 ml de Metanol

3 ml de Hidróxido de Amonio en agua (3 + 7)

3.4.3.3.5 Se comparan los Rf de los colorantes contenidos en la muestra con los de los patrones sembrados.

3.4.3.3.6 Se observa la placa bajo la luz ultravioleta (U.V) en longitud de onda larga para colorantes que presentan fluorescencia.

3.4.4 Expresión de los resultados

Se reportan los colorantes contenidos en la muestra revelados en la placa cromatográfica, por comparación con los patrones sembrados en la misma.

3.4.5 Informe

Ver punto 3.1.5

3.5 DETERMINACION DE AMINAS TERCIARIAS

3.5.1 Principio del método

Se titulan primero los cuaternarios totales en medio alcalino y luego se titulan las aminos terciarias en medio ácido. Este es un método que permite titular aminos terciarias en presencia de aminos cuaternarios sin interferencias.

3.5.2 Materiales y equipos

3.5.2.1 Balanza analítica

3.5.2.2 Instrumento para medir pH

3.5.2.3 Material usual de laboratorio

3.5.3 Reactivos

3.5.3.1 Solución de lauril sulfato 0,004 M

3.5.3.2 Solución indicadora de azul de bromofenol

3.5.3.3 Solución buffer pH 10: se preparan pesando 7 gramos de carbonato de sodio anhidro y 100 gramos de sulfato de sodio anhidro en un vaso de precipitado de 600 ml. Se añade agua destilada y se va disolviendo. Luego se trasvasa cuantitativamente a un cilindro graduado de 1000 ml con la ayuda de agua destilada y se lleva a volumen.

Se determina el pH de la solución para asegurar que el mismo esté en 10.

3.5.4 Procedimiento

3.5.4.1 Titulación en Medio Alcalino:

3.5.4.1.1 Se pesan con exactitud 2 gramos de muestra en un cilindro graduado de 100 ml de capacidad.

3.5.4.1.2 Se añaden al cilindro los siguientes reactivos 25 ml de cloroformo, 25 ml de solución buffer pH 10, 4 - 4 gotas de azul de bromofenol. Se tapa el cilindro y se agita vigorosamente.

3.5.4.1.3 Se titula la solución con lauril sulfato de sodio 0,004 M.

3.5.4.1.4 El punto final practico se toma a la primera aparición de un color purpura definido en la capa superior acuosa cuando esta se ve en frente de luz directa.

NOTA

Agite vigorosamente después de cada adición, destapando el cilindro para liberar la presión, disminuya el tamaño de los incrementos graduables a medida que se aproxima el punto final.

3.5.4.2 Titulación en Medio Acido:

3.5.4.2.1 Se pesan con exactitud 2 gramos de la muestra en un cilindro graduado de 100 ml.

3.5.4.2.2 Se añaden al cilindro los reactivos siguientes: 10 ml de agua destilada, 10 ml de mezcla indicadora, 15 ml de cloroformo y se agita.

3.5.4.2.3 Se titula la solución con lauril sulfato de sodio 0,004 M, agitando después de cada adición. La emulsión se vuelve menos persistente cerca del punto final.

3.5.4.2.4 Se titula agitando entre adiciones hasta que el color azul de la capa de cloroformo desaparezca completamente.

En este punto la capa de cloroformo se torna rosada en presencia de un exceso de lauril sulfato de sodio.

3.5.5 Expresión de los resultados

3.5.5.1 Titulación alcalina (meg/g)

$$\text{Activos} = \frac{\text{ml (L.S.S.)} \times M \text{ (L.S.S.)}}{M} \quad (11)$$

Donde:

Activos = cantidad de cuaternarios totales

ml (L.S.S) = volumen consumido de lauril sulfato de sodio en la titulación en medio alcalino.

M (L.S.S) = Molaridad del lauril sulfato de sodio

M = Peso de la muestra en gramos

3.5.5.2 Titulación ácida (meg.g)

$$\text{Activos} = \frac{\text{ml (L.S.S.)} \times M \text{ (L.S.S.)}}{M} \quad (12)$$

Donde:

Activos = Cantidad de aminas terciarias presentes en la muestra

ml (L.S.S) = Volumen de lauril sulfato de sodio consumidos en la titulación en medio ácido.

M (L.S.S) = Molaridad del lauril sulfato de sodio.

M = Peso de la muestra

3.5.6 Informe

Ver punto 3.1.5

3.6 DETERMINACION DE CUATERNARIUM 23

3.6.1 Materiales y equipos

3.6.1.1 Placas de sílica gel para cromatografía en capa fina.

3.6.1.2 Tanque cromatográfico

3.6.1.3 Material usual de laboratorio

3.6.2 Reactivos

3.6.2.1 Acido acético 2N

3.6.2.2 Cloroformo

3.6.2.3 Lauril sulfato de sodio 0,004 M.

3.6.2.4 Acido sulfúrico diluido

3.6.2.5 Fase Móvil: Amoniaco - Metanol (1 - 99)

3.6.2.6 Solución de Iodoplatinato: Se pesan 0,25 g de Cloruro Platinico + 5 g de Ioduro de Potasio + 2 ml de Acido Clorhidrico y agua destilada cantidad suficiente para 100 ml.

3.6.3 Preparación de las soluciones

3.6.3.1 Solución patrón.

Se pesa alrededor de 25 mg de droga pura en un balón aforado de 25 ml y se lleva a volumen con ácido acetico 2N.

3.6.3.2 Solución muestra

Se pesan alrededor de 25 mg de cuaternario 23 y se lleva a un balón aforado de 25 ml y se completa a volumen con Acético 2N.

3.6.4 Procedimiento

3.6.4.1 En una placa de sílica gel dividida en dos (patrón y muestra) se siembran 0,5 ml del patrón y 0,5 ml de la muestra y luego se coloca en el tanque cromatográfico que contiene la fase móvil.

3.6.4.2 Después de correr la placa cromatográfica se saca del tanque y se deja secar.

3.6.4.3 Se rocía con solución de Iodo platinato para localizar las manchas.

3.6.4.4 Se raspa donde se encuentra el patrón y la muestra y se colocan en un matraz volumétrico con tapa de 250 ml y se le agregan 50 ml de agua destilada, 10 ml de ácido sulfúrico y 3 gotas de solución indicadora de amarillo de metilo.

3.6.4.5 Luego se titula con solución de lauril sulfato de sodio 0,004 M al que previamente se le ha determinado el titulo con el patrón.

3.6.5 Expresión de los resultados

$$\% \text{ C23} = \frac{V \times M \times f_c}{m} \times 100 \quad (13)$$

Donde:

% C23 = Porcentaje en ml % de cuaternarium 23

V = Volumen consumido en la titulación de lauril sulfato de sodio.

f_c = Factor de corrección del lauril sulfato de sodio.

m = Peso de la muestra en mg.

3.6.6 Informe

Ver punto 3.1.5

BIBLIOGRAFIA

Información suministrada por la industria.

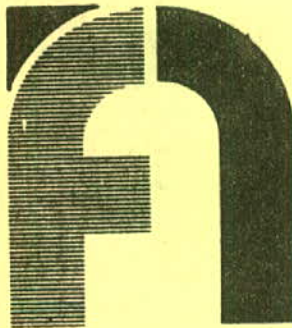


COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES

MINISTERIO DE FOMENTO

Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Piso II

CARACAS

publicación de:  **FONDONORMA**

IMPRESO EN EL TALLER DE COVENIN