

Determinación de filtros solares químicos en productos cosméticos por HPLC con detección de diodos

Chemical sunscreen filters determination in cosmetics by HPLC-diode array detection

ROSANNA JIMÉNEZ*, PATRICIA BAFFI*, MIRIAN REGNAULT*

RESUMEN

Los protectores solares son una clase especial de productos de cuidado personal que contienen ingredientes activos que pueden absorber la radiación ultravioleta y así proteger la piel de los efectos dañinos del sol. En el análisis fisicoquímico de los protectores solares se debe determinar las cantidades de los filtros ultravioleta en el producto final relacionados con la eficacia de la protección solar, así como garantizar que los niveles de concentración se encuentren dentro del límite permitido. En la optimización de la metodología por Cromatografía Líquida de Alta Resolución con detección de diodos se estudiaron fases móviles, volúmenes de inyección así como la selección de la longitud de onda de detección. Las condiciones cromatográficas seleccionadas fueron las siguientes: Columna μ Bondapack C18 de 10 μ m, velocidad de flujo de 1,0 y 1,5 mL/min, volumen de inyección 20 μ L (loop) y se utilizó un gradiente de dos fases móviles conteniendo metanol y ácido acético glacial al 1%, la fase móvil A en una proporción de 80:20 y la fase móvil B 90:10. El tiempo de corrida fue 13 minutos y la longitud de onda fue 290 nm. Se reportan los valores de exactitud, precisión, rango, límites de cuantificación y detección del procedimiento optimizado. Por otra parte, para el estudio de selectividad de método se evaluó la pureza de los picos cromatográficos. En este trabajo, se analizaron dos muestras cosméticas comerciales, una crema de día conteniendo los siguientes filtros solares: octinoxato, octocrileno, benzofenona-3 y ensulizol encontrándose porcentajes de 8,26; 4,29; 2,15 y 2,01 respectivamente y una crema solar conteniendo octinoxato, octocrileno y ensulizol, los porcentajes fueron 7,05; 8,41 y 2,74 respectivamente. Los porcentajes encontrados para cada uno de estos filtros se encuentran dentro de los límites de seguridad permitidos por la Legislación de la Unión Europea.

Palabras clave: Protector solar, octinoxato, octocrileno, benzofenona-3, ensulizol, HPLC.

ABSTRACT

Sunscreen filters are special class of personal care products containing active compounds which can absorb ultraviolet radiation protecting skin from sun harm. Physicochemical analysis of sunscreen filters should be done to determine the amount of sunscreen filters in final products related to efficacy of sun protection, as well as guarantee that concentration level of them is on permitted level. To optimize the analytical methodology by High Performance Liquid Chromatography with diode array detection we studied various mobile phases, injection volume and also selection of detection wavelength. Chromatographic conditions selected were: a 10 μ m μ Bondapack C18 column, flow rate 1,0 and 1.5 mL/min, injection volume 20 μ L (loop) and we used two mobile phases gradient containing methanol and 1% glacial acetic acid, mobile phase A in ratio of 80:20 and mobile phase B 90:10. The running time was 13 min and the wavelength used was 290 nm. We report values of accuracy, precision, range and limits of quantification and detection for the optimized method. On the other hand, studies of selectivity method were done evaluating peak purity of chromatographic peaks. In this work, were analyzed two commercial cosmetic samples, a day cream containing the following filters: octinoxate, octocrylene, benzophenone-3 and ensulizol with finding percentages of 8.26; 4.29; 2.15 and 2.01 respectively and a solar cream containing octinoxate, octocrylene and ensulizole with percentages of 7.05; 8.41 and 2.74 respectively. These values are between limits allowed by European Legislation.

Key words: Sunscreen filters, octinoxate, octocrylen, benzophenone-3, ensulizole, HPLC.

* Postgrado de Aseguramiento de la Calidad, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.,
E-mail: rousjf@gmail.com; patriciabaffi@gmail.com;
miriamregnault@hotmail.com

Introducción

Los protectores solares son una clase especial de productos de cuidado personal que contienen ingredientes activos que pueden absorber la radiación ultravioleta (UV) y así proteger la piel de los efectos dañinos del sol. La luz solar está compuesta de muchas longitudes de onda propagadas a través del espectro electromagnético. A medida que la radiación solar pasa a través de la atmósfera de la tierra, algunas de estas longitudes de ondas son filtradas y las radiaciones remanentes alcanzan la tierra como luz UV e infrarroja. La luz UV es de particular interés debido a que esta puede interactuar con las células de la piel y causar efectos dañinos, esta luz consiste en diferentes longitudes de onda agrupadas en tres categorías: Luz UVC: 200-290 nm, este rango tiene el menor número de longitud de onda y por ende la mayor energía. Casi toda la luz de este rango es filtrada por la atmósfera. Luz UVB: 290-320 nm; es llamada la región eritemal o que ocasiona quemadura, debido a que penetra a través del estrato corneo y la epidermis. Este tipo de luz ocasiona el mayor daño a la piel, que es inmediatamente evidenciado, como enrojecimiento, el cual es conocido como eritema o quemadura solar. Luz UVA: 320-400 nm; este rango tiene la menor energía, pero penetra más profundo en la piel e interacciona con las estructuras de la misma. Bajas dosis de UVA pueden penetrar en la dermis, donde pueden estimular la producción de melamina, el pigmento responsable del bronceado y proteger la piel de mayor daño. Altas dosis de UVA pueden penetrar en las estructuras de la piel y causar daño de los componentes estructurales, como la matriz de elastina y colágeno (Shueller y Romanowski, 1999). Los filtros UV pueden ser clasificados como físicos (inorgánicos): los cuales interrumpen el paso de la luz UV por dispersión o reflexión y químicos (orgánicos) que sufren excitación foto-química al estar expuestos

a la luz UV. Estos últimos absorben la radiación de alta energía, siendo liberada como radiación de longitud de onda larga, la cual es menos nociva y así se protege la piel de dosis dañinas de luz UV. Los protectores solares casi siempre son combinaciones de 2 ó 3 filtros químicos con uno físico (Jiang y col., 1996).

Para el caso particular de los productos de protección solar, éstos son clasificados en diferentes categorías de acuerdo con la legislación de cada país. Los principales modelos normativos son la Directiva de Cosméticos de la Unión Europea y las reglas de la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos. Así, la Unión Europea considera los productos de protección solar como cosméticos, mientras que en Estados Unidos estos están catalogados como medicamentos OTC (over the counter) (Fda.gov, 1999; European Commission, 2000). En Venezuela no se cuenta con normas sanitarias ni general, ni específica sobre protectores solares, aún se conservan las directrices de la Decisión 516 para el registro y control de productos cosméticos del 14 de marzo de 2002, promulgadas por la Comunidad Andina de Naciones.

Los ingredientes activos y concentraciones aprobadas para los protectores solares de acuerdo a la FDA son los siguientes: ácido aminobenzoico (PABA) hasta un 15%, avobenzona hasta un 3%, cinoxato hasta un 3%, dioxibenzona hasta un 3%, homosalato hasta un 15%, metil antralinato hasta un 5%, octocrieno hasta un 10%, octilmetoxicinamato (octinoxato) hasta un 7,5%, octilsalicilato hasta un 5%, oxibenzona (benzofenona-3) hasta un 6%, padimato O hasta un 8%, ácido fenilbenzimidazol sulfónico (ensulizol) hasta un 4%, sulizobenzona hasta un 10%, y dióxido de titanio hasta un 25% (Fda.gov, 1999).

La lista que se muestra a continuación contiene los diferentes filtros solares permitidos por la Legislación Europea y sus concentraciones (European Commission, 2000).

Lista actualizada para compuestos que pueden ser empleados como filtros UV en productos cosméticos de protección solar de acuerdo a la Legislación de la Unión Europea

EU N ^o a	COLIPA N ^o b	Nombre químico	Nombre INCI	Clave ^d	C _{max} ^e
1.1	S1	4-Aminobenzoic acid	PABA	PAB	5
1.2	S57	N,N,N-Trimethyl-4-(2-oxoborn-3-ylidinemethyl) anilinium methyl sulphate	Camphor benzalkonium methosulphate	CBM	6
1.3	S12	3,3,5-Trimethylciclohexyl salicylate (homosalate)	Homosalate	HS	10
1.4	S38	2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone (oxybenzone)	Benzophenone-3	BZ3	10
1.6	S45	2-Phenylbenzimidazole-5-sulphonic acid and its potassium, sodium and triethanolamine salts	Phenylbenzimidazole sulphonic Acid	PBS	8 (acid)

Lista actualizada (continuación)

EU N ^o a	COLIPA N ^o b	Nombre químico	Nombre INCI	Clave ^d	C _{max} ^e
1.7	S71	3,3'-(1,4-Phenylenedimethylene)bis(7,7-dimethyl-2-oxobicyclo-[2.2.1]hept-1-ylmethane sulphonic acid and its salts	Terephthalylidene dicamphor sulphonic acid	TDS	10(acid)
1.8	S66	4-tert-Butyl-4'-Methoxydibenzoylmethane	Butyl methoxydibenzoylmethane	BDM	5
1.9	S59	-(2-Oxoborn-3-ylidene)-toluene-4-sulphonic acid and its salts	Benzylidene camphor sulphonic acid	BCS	6 (acid)
1.10	S32	2-Ethylhexyl 2-cyano-3,3-diphenylacrylate	Octocrylene	OCR	10 (acid)
1.11	S72	Polymer of N-((2 and 4)-(2-oxoborn-3-ylidene)methyl)benzyl Acrylamide	Polyacrylamidomethyl benzylidene camphor	PBC	6
1.12	S28	2-Ethylhexyl 4-methoxycinnamate	Ethylhexyl methoxycinnamate	EMC	10
1.13	S3	Ethoxylated ethyl 4-aminobenzoate	PEG-25 PABA	P25	10
1.14	S27	Isoamyl 4-methoxycinnamate	Isoamyl p-methoxycinnamate	IMC	10
1.15	S69	2,4,6-Trianiilino-(p-carbo-2'-ethylhexyl-1'-oxy)-1,3,5-triazine	Ethylhexyl triazone	ET	5
1.16	S73	2-(2H-benzotriazol-2-yl)-4-methyl-6-(2-methyl-3-(1,3,3,3-tetramethyl-1-(trimethylsilyl)oxy)disiloxanyl)propyl) Phenol	Drometrizole trisiloxane	DRT	15
1.17	S78	4,4'-((6-(((1,1-Dimethylethyl)amino)carbonyl)phenyl)amino)-1,3,5-triazine-2,4-diyl)diimino)bis-bis(2-ethylhexyl) Benzoate	Diethylhexyl butamido triazone	DBT	10
1.18	S60	3-(4'-Methylbenzylidene) camphor	4-Methylbenzylidene camphor	MBC	4
1.19	S61	3-Benzylidene camphor	3-Benzylidene camphor	3BC	2
1.20	S13	2-Ethylhexyl salicylate	Ethylhexyl salicylate	ES	5
1.21	S8	2-Ethylhexyl 4-dimethylaminobenzoate	Ethylhexyl dimethyl PABA	EDP	8
1.22	S40	2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone-5 sulphonic acid and its sodium salt (sulisobenzone)	Benzophenone-4	BZ4	5 (acid)
1.23	S79	2,2'-Methylenebis-(4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-6-(2H-benzotriazol-2-yl)phenol)	Methylene bis-benzotriazolyl tetramethylbutylphenol	MBP	10
1.24	S80	2,2'-(1,4-Phenylene)bis-1H-benzimidazole-4,6-disulfonic acid, monosodium salt	Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate	PDT	10 (acid)
1.25	S81	2,2'-(6-(4-Methoxyphenyl)-1,3,5-triazine-2,4-diyl)bis(5-(2ethylhexyl)oxy)phenol	Bis-ethylhexyloxyphenol methoxyphenyl triazine	EMT	10
1.26	S74	Methyl 3-(4-(2,2-bis(ethoxycarbonyl)ethenyl)phenoxy)propenyl dimethyl Polysiloxane	Polysilicone-15	P15	10
1.27		Titanium dioxide	Titanium dioxide	TiO2	25

a Número de referencia de la Unión Europea

b Número de referencia COLIPA (Asociación Europea de Cosméticos y Perfumes)

c INCI (Nomenclatura Internacional para ingredientes cosméticos) elaborada por COLIPA

d Sistema abreviado adoptado por los autores del trabajo.

e Concentración máxima autorizada en cosméticos (% p/p)

Varios métodos analíticos han sido publicados para la determinación de filtros solares en cosméticos, entre los cuales se encuentran: cromatografía de gases (CG) utilizada para la determinación de cinnamatos y salicilatos en bronceadores (Paulus, 1972), cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección espectrofotométrica de longitud de onda fija Vanquerp y col., 1999; (Chisvert y Salvador, 2002; Santoro y col., 2004). En la revisión realizada por Salvador y Chisvert (2005a) se referencian trabajos utilizando cromatografía de fluido supercrítico acoplada a espectrometría de masas, para el estudio de productos de foto-degradación provenientes del Parsol MCX por la irradiación ultravioleta; cromatografía líquida micelar para la determinación de benzofenona-3, etilhexil dimetil PABA y Parsol y también técnicas espectroscópicas (UV, resonancia magnética nuclear, entre otras). En esta revisión los autores, referenciaron alrededor de 80 publicaciones sobre la determinación de filtros UV en cosméticos, de las cuales, la mayoría utiliza HPLC en fase reversa, con elución isocrática y detección UV de onda variable. Es de hacer notar, que el propósito de dichos trabajos casi en su totalidad fue la identificación de filtros UV y la cuantificación de los filtros UV aplicado a soluciones de estándares o muestras sintéticas (filtros UV mas excipientes). Los mismos autores en otra publicación evaluaron 27 muestras comerciales en diferentes formulaciones cosméticas (cremas, protector labial, maquillaje, lociones y leches) y se reporta la validación del método cromatográfico en términos de exactitud, precisión, linealidad y límite de detección (Salvador y Chisvert, 2005b). Se ha reportado además el uso de la cromatografía líquida de alta resolución con detección de diodos en la determinación de filtros solares (Rastogi y Jensen, 1998; Kicheol y col., 2011). La publicación de Kicheol y colaboradores describe el desarrollo y validación de una metodología por HPLC con detección de diodos para la determinación de cuatro preservativos y nueve filtros autorizados internacionalmente en productos cosméticos. Manová y col. reportaron en el año 2013 una encuesta de ocurrencia y concentraciones de filtros UV en productos de cuidado personal en Suiza. Estos autores reportaron las mediciones en las concentraciones de 22 filtros UV orgánicos en los 116 productos seleccionados. Los filtros UV de mayor ocurrencia fueron el butil metoxidibenzoilmetano detectado en 82 productos (71%), etilhexil metoxicinamato en 59 productos (51%) y octocrileno en 50 productos (43%); sus concentraciones promediaron 2,6%; 4,0% y 6,0% respectivamente.

El análisis físico-químico de los protectores solares se debe realizar para determinar las cantidades de

los filtros UV en el producto final, que se relacionan con la eficacia de protección solar (declarada en la etiqueta del producto por el Factor de Protección Solar FPS); también es importante garantizar que los niveles de concentración se encuentren dentro de los límites permitidos internacionalmente (Fda. gov, 1999; European Commission, 2000) ya que existen efectos dermatológicos no deseados por el uso de protectores solares. En el presente trabajo se reporta la determinación de 4 filtros solares químicos presentes en 2 muestras cosméticas, utilizando un cromatógrafo líquido de alta resolución con detección de diodos.

Materiales y métodos

REACTIVOS

Reactivo grado analítico: ácido acético glacial 100% (Merck, Alemania). Reactivos grado HPLC: metanol (Fischer Scientific, USA), acetonitrilo (Burdick & Jackson, USA) y agua obtenida de un equipo Barnstead alimentado con agua tridestilada. Helio de alta pureza suministrado por la empresa Pariata C.A. (Caracas, Venezuela).

PATRONES

Se utilizaron cuatro patrones de filtros solares químicos: 2-fenil-5-benzimidazol-ácido sulfónico (ensulizol) de pureza 96%; 2-hidroxi-4-metoxi-benzofenona (benzofenona-3) de pureza 98%; 2-etilhexil-2-ciano-3,3-difenilacrilato (octocrileno) de pureza 97%; 2-etilhexiltrans-4- metoxicinamato (octinoxato) de pureza 98%, todos los patrones fueron obtenidos de Aldrich (USA).

MUESTRAS

Las muestras analizadas corresponden a 2 productos cosméticos obtenidos en el comercio venezolano. Crema de día: Creme Haute Exigence Jour, Multiintensive SPF 20- Super Restorative Day Cream (Clarins, Francia). Número de Lote: 510189. El rótulo del producto declara la siguiente composición: Ingredientes Activos: octinoxato, octocrileno, benzofenona-3, ensulizol y dióxido de titanio. Crema solar: Creme Solaire Securite Haute Protection SPF 30 (Clarins, Francia). Número de Lote: 611057. El rótulo del producto declara la siguiente composición: Ingredientes Activos: octocrileno 9%, octinoxato 7,5%, ensulizol 3% y dióxido de titanio 3,24%.

EQUIPOS

El análisis de cromatografía líquida de alta resolución fue llevado a cabo en un cromatógrafo líquido de alta resolución marca Waters[®] conformado por una

Bomba modelo 600E, con detector de arreglo regular de diodos marca Waters[®] modelo 996 e inyector manual Rheodyne marca Waters[®] con loop de 20 μ l y PC con Programa Millennium 32 (Cienvar, Venezuela). Se utilizó una columna de fase reversa μ Bondapak[™] C18, 10 μ m, 3,9 mm x 300 mm. N° WAT027324 Waters, Número de Serial: 0202351111. Se utilizó además un ultrapurificador de agua Barnstead, bomba de vacío, baño ultrasonido Branson 5200, equipo de filtración para fases móviles de HPLC Millipore, portafiltros Swinney (Cienvar, Venezuela), membranas de filtración de Nylon 0,45 μ m Millipore, micropipeta calibrada Gilson de 1000 μ L de capacidad y balanza analítica digital modelo AG 245 (Mettler Toledo).

PREPARACIÓN DE PATRONES

Las soluciones madres de los patrones fueron preparadas por separado, mediante la dilución de cada uno de ellos en metanol. Para el análisis de la muestra crema de día las concentraciones de los patrones fueron: 250 ppm de ensulizol, 150 ppm de benzofenona-3, 300 ppm de octocrileno y 1000 ppm octinoxato y para la muestra crema solar: 250 ppm de ensulizol, 600 ppm de octocrileno y 1000 ppm de octinoxato.

Para el ensayo de identificación de los filtros solares se prepararon soluciones diluidas de cada patrón en metanol a la concentración de 38 ppm para ensulizol, 12 ppm para benzofenona-3, 125 ppm para octocrileno y 92 ppm para octinoxato. Luego se prepararon dos soluciones de mezcla de patrones, una de ellas compuesta por ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato y la otra solución con los mismos filtros solares a excepción de la benzofenona-3.

Para el análisis de la crema de día, las soluciones de patrones para la curva de calibración fueron preparadas a las concentraciones de 15, 20, 25, 30 y 35 ppm de ensulizol; 18, 24, 30, 36 y 42 ppm de benzofenona-3; 36, 48, 60, 72 y 84 ppm de octocrileno y 60, 80, 100, 120 y 140 ppm de octinoxato. Para el análisis de la crema solar, las soluciones patrones de la curva de calibración fueron preparadas a las concentraciones de 24, 32, 40, 48 y 56 ppm de ensulizol; 72, 96, 120, 144 y 168 ppm de octocrileno y 60, 80, 100, 120 y 140 ppm de octinoxato.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las soluciones de las muestras (crema de día y crema solar) fueron preparadas pesando por separado 130 mg de cada una de las muestras en un balón aforado de 50 mL, se diluyó con 30 mL de metanol, asistiendo la disolución con ultrasonido durante 30 minutos y se llevó a volumen con metanol. Cada solución fue filtrada por una membrana de 0,45 μ m.

Alícuotas de 4,0; 5,0 y 6,0 mL fueron diluidas a 10 mL con el mismo solvente para obtener concentraciones finales correspondientes al 80, 100 y 120% de la curva de calibración.

PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

La preparación de la fase móvil se realizó mezclando metanol con una solución de ácido acético al 1% en agua grado HPLC y se prepararon dos fases móviles: Fase Móvil A: metanol y ácido acético al 1% (80:20). Fase Móvil B: metanol y ácido acético al 1% (90:10). Cada fase móvil fue filtrada a través de una membrana de Nylon 0,45 μ m, se desgasificó con vacío durante 15 minutos.

CROMATOGRAFÍA

En los inicios se utilizó un sistema de tipo isocrático el cual no reportó buenos resultados, por lo tanto se decidió diseñar un sistema por gradiente, tomando en consideración la utilizada por Salvador y Chisvert (2005b) y realizando los cambios necesarios para lograr una separación óptima de los filtros estudiados.

DATOS ESPECTROSCÓPICOS

Los espectros de absorción UV/Visible de los filtros solares se obtuvieron realizando un barrido de longitudes de onda entre 220 nm a 400 nm con el detector de diodos.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE ALTA RESOLUCIÓN CON DETECCIÓN DE ARREGLO DE DIODOS (USP37-NF32, 2014).

La validación del método analítico se realizó siguiendo los lineamientos para la cuantificación de los componentes activos en productos farmacéuticos terminados, descrito en la sección <1225> de la USP37-NF32 (2014), siendo los siguientes los parámetros evaluados: precisión, adecuación del sistema, linealidad y rango, límites de detección y cuantificación, especificidad y exactitud.

PRECISIÓN DEL SISTEMA

La precisión del sistema se determinó inyectando seis réplicas de la mezcla de patrones de la curva de calibración compuesta por ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato y seis réplicas de la mezcla de patrones compuesta por ensulizol, octocrileno y octinoxato. La concentración inyectada corresponde al 100% para cada filtro solar en la curva de calibración. La precisión se calculó mediante el coeficiente de variación (CV) de los tiempos de retención y áreas obtenidas para cada filtro solar.

PRECISIÓN DEL MÉTODO

La precisión del método fue determinada inyectando tres concentraciones de cada una de las muestras por triplicado, correspondientes al 80%, 100% y 120% de la curva de calibración, para un total de 9 determinaciones. Se calculó el coeficiente de variación de los tiempos de retención y de las concentraciones obtenidas para cada filtro solar.

ADECUACIÓN DEL SISTEMA

A partir de los cromatogramas obtenidos en la determinación de la precisión del sistema y del método analítico se calculó el coeficiente de variación (CV) de los tiempos de retención y áreas obtenidas para cada filtro solar, los valores promedio de resolución (R), factor de cola (T), factor de capacidad (k') y número de platos teóricos (N) con los coeficientes de variación respectivos, utilizando el programa de computación Waters Millennium 32 para validación de métodos analíticos siguiendo los lineamientos de la Farmacopea Americana (USP37-NF32, 2014).

LINEALIDAD Y RANGO

El estudio de la linealidad del método se realizó mediante la curva de calibración de cada filtro solar, utilizando 5 concentraciones diferentes de cada patrón a evaluar por triplicado realizado en 3 días. El rango de concentración de la curva de calibración para la muestra crema de día fue el siguiente: ensulizol 15,01- 35,03 ppm; benzofenona-3 18,66 - 43,54 ppm; octocrileno 36,16 - 84,38 ppm; octinoxato 57,90 - 135,10 ppm y para la muestra crema solar: ensulizol 23,65 - 55,19 ppm; octocrileno 70,54 - 164,59 ppm; octinoxato 58,06 - 135,46 ppm. La regresión lineal se obtuvo a partir del promedio de tres determinaciones para cada concentración ensayada del patrón y se determinó los valores de coeficiente de correlación y la desviación estándar de la respuesta.

LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) para ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato fueron estimados estadísticamente a partir de la regresión lineal y la desviación estándar de la respuesta $DE(Sy/x)$ (Miller y Miller, 2002). Se calculó los límites de detección y cuantificación de acuerdo a las fórmulas $LD = 3,3 (DE/b)$ y $LC = 10 (DE/b)$, respectivamente. Donde $DE (Sy/x)$ es la desviación estándar de la respuesta y b es la pendiente de la curva de calibración.

ESPECIFICIDAD

La especificidad del método se determinó mediante la evaluación de la pureza del pico cromato-

gráfico (homogeneidad del pico) para los 4 filtros solares utilizando el detector de arreglo de diodos a una longitud de onda de 290 nm. El análisis de la pureza del pico para cada filtro consiste en determinar si existen diferencias espectrales entre el ápice y las zonas restantes del pico cromatográfico (Waters Corporation, 2000).

EXACTITUD

Se determinaron las concentraciones de los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato en la crema de día y de los filtros solares ensulizol, octocrileno y octinoxato en la crema solar, a partir de la ecuación de regresión lineal de cada filtro solar tomando en cuenta el peso de la muestra. Para la crema de día, los valores de exactitud se reportan en términos de recuperación tomando como valor de referencia, el valor promedio encontrado para cada filtro solar evaluado, utilizando los cromatogramas obtenidos en la determinación de la precisión del método. El valor de referencia fue expresado en g de cada filtro solar por 100g de crema (% p/p) con los límites de confianza al nivel del 95% y 99% del promedio. Para la crema solar los valores de exactitud se reportan en términos de recuperación tomando como referencia el valor declarado en el rótulo del producto (ensulizol 3%, octocrileno 9% y octinoxato 7,5%) con los límites de confianza al nivel del 95% y 99%.

Resultados y discusión

Para el desarrollo del método analítico se tomó como base las condiciones cromatográficas establecidas por Salvador y Chisvert (2005b); ellos utilizaron dos mezclas diferentes de fases móviles, una contenía etanol grado HPLC con solución de ácido acético al 1% y la otra etanol grado HPLC con un buffer acetato pH 4,75. Siendo que el etanol no es un solvente muy común para los análisis por HPLC, en este trabajo se sustituyó el etanol por metanol y no fue necesario la utilización del buffer acetato para analizar los filtros solares estudiados. Se realizaron diferentes pruebas en el sistema de elución por gradiente y fase móvil de manera de optimizar el método.

Las fase móviles utilizadas fueron una mezcla de metanol y solución de ácido acético al 1%, siendo las proporciones las siguientes: Fase Móvil A: 80:20 y Fase Móvil B: 90:10. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: Columna μ BondapakTM C₁₈, (300 x 3,9 mm mm, 10 μ m); temperatura: 25°C; volumen de inyección: 20 μ L (utilizando loop de 20 μ L); tiempo de corrida: 13 min. Programa de elución: Fases Móviles A y B utilizando un sistema por gradiente como se describe en la Tabla I.

Tabla I
Sistema de Gradiente

Tiempo (min.)	Flujo	A (%)	B (%)
0,00	1.00	100	0
4,00	1.00	100	0
4,10	1.50	0	100
12,00	1.50	0	100
12,10	1.00	100	0
13,00	1.00	100	0

ESTUDIO DE SELECCIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA

Se prepararon los patrones y se inyectaron en el cromatógrafo de forma individual para la obtención del espectro UV de cada uno de los filtros solares junto con el respectivo cromatograma, esto con la finalidad de seleccionar la longitud de onda que nos permitiera una mayor absorción de cada uno de los compuestos. La banda UV máxima para ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato fue de 304,9; 288,3; 304,9 y 310,8, respectivamente. Seleccionamos la longitud de onda de 290 nm que nos permitió obtener buenos resultados en términos de selectividad, como se evidencia en los cromatogramas y se aprecian que las unidades de absorción tienen valores que oscilan alrededor de 0,5 UA. Se prepararon 2 mezclas de patrones, la mezcla 1 conteniendo ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato y la mezcla 2 conteniendo los mismos filtros solares a excepción de la benzofenona-3, y se obtuvieron los cromatogramas de la mezcla junto con los datos espectroscópicos UV (Figuras 1 y 2).

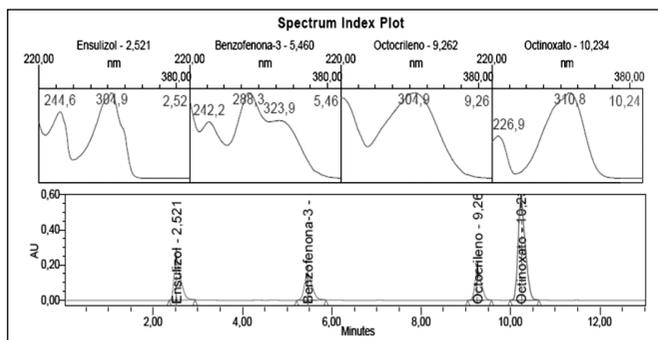


Figura 1. Cromatograma y espectros de la mezcla 1 de patrones de los filtros solares (25 ppm de ensulizol, 30 ppm de benzofenona-3, 60 ppm de octocrileno y 100 ppm de octinoxato).

Como indicamos, se trabajó con un gradiente de elución, con dos fases móviles diferentes (mezclas de metanol con ácido acético al 1%) aumentando la proporción de fase orgánica (80:20 a 90:10), obteniéndose una buena separación entre los filtros solares presentes en las muestras cosméticas comerciales.

En la Figura 3 se observa el cromatograma del análisis de la crema de día, pudiéndose identificar (basándonos en el tiempo de retención y en los espec-

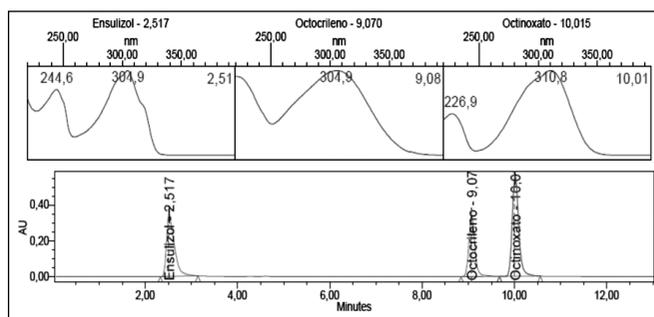


Figura 2. Cromatograma y espectros de la mezcla 2 de patrones de los filtros solares (40 ppm de ensulizol, 120 ppm de octocrileno y 100 ppm de octinoxato).

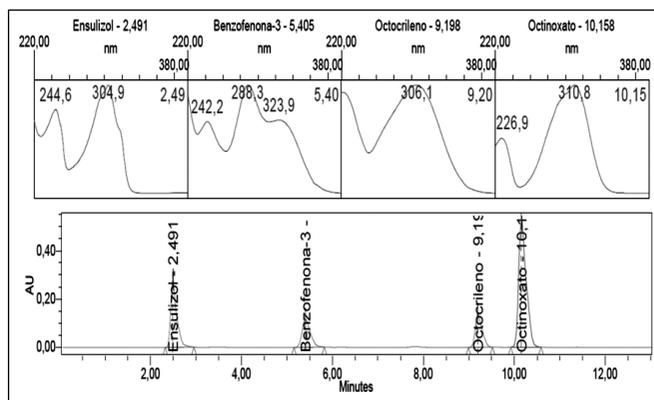


Figura 3. Cromatograma del análisis de la crema de día (Concentración de ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato a un valor estimado al 100% de la curva de calibración, ver en la sección de materiales y métodos).

tros UV) y cuantificar cuatro filtros solares: ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato.

En la Figura 4 se observa el cromatograma del análisis de la crema solar, pudiéndose identificar y cuantificar tres filtros solares: ensulizol, octocrileno y octinoxato.

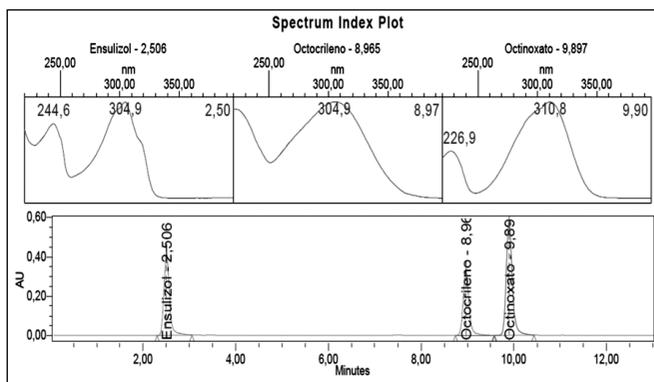


Figura 4. Cromatograma del análisis de la crema solar (Concentración de ensulizol, octocrileno y octinoxato a un valor estimado al 100% de la curva de calibración, ver en la sección de materiales y métodos).

Los tiempos de retención obtenidos en la crema de día fueron los siguientes: ensulizol 2,491; benzofenona-3 5,405; octocrileno 9,198 y octinoxato 10,198. Los tiempos de retención obtenidos en la crema solar fueron los siguientes: ensulizol 2,506; octocrileno

8,960 y octinoxato 9,891. Observamos que el método de HPLC optimizado nos permitió una buena separación de los componentes activos presentes en cada una de las cremas de origen comercial.

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN

PRECISIÓN DEL SISTEMA

Los resultados para evaluar la repetibilidad del método analítico basado en la variación de tiempos de retención y área de los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato se muestran en la Tablas II y III.

PRECISIÓN DEL MÉTODO

Los resultados para evaluar la precisión del método analítico basado en la variación de la concentración de los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato presentes en la crema de día se muestran en la Tabla IV.

El coeficiente de variación fue menor o igual a 2,6% para las tres concentraciones evaluadas de la crema de día.

Los resultados para evaluar la precisión del método analítico basada en la variación de la concentración de los filtros solares ensulizol, octocrileno y octinoxato presentes en la crema solar se muestran en la Tabla V.

ADECUACIÓN DEL SISTEMA

Los resultados para evaluar la adecuación del sistema cromatográfico basado en los valores promedio de factor de capacidad (k'), factor de cola (T), resolución (R) y número de platos teóricos (N) para los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato en la crema de día se presentan en la Tabla VI y para los filtros solares presentes en la crema solar, se presentan en la Tabla VII. Los valores de resolución fueron calculados entre el par de picos cromatográficos contiguos.

Los valores obtenidos para los parámetros de la adecuación del sistema fueron adecuados y suficientes para garantizar la adecuada resolución cromatográfica (Regnault, 2004; 2005). El factor de capacidad (k') es un valor práctico que nos expresa el grado de interacción del compuesto con la columna. Idealmente,

Tabla II

Precisión del sistema para la solución de patrones de ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato

Inyección	Ensulizol		Benzofenona-3		Octocrileno		Octinoxato	
	TR	Área	TR	Área	TR	Área	TR	Área
1	2,506	2400757	5,472	1733622	9,279	1671239	10,248	6302088
2	2,517	2482476	5,462	1787304	9,275	1719987	10,244	6507440
3	2,520	2478043	5,461	1794361	9,263	1725264	10,233	6524655
4	2,521	2441174	5,460	1786604	9,262	1718966	10,234	6498571
5	2,519	2462225	5,455	1788956	9,260	1718044	10,231	6506704
6	2,523	2483890	5,450	1798024	9,250	1729139	10,219	6549989
Promedio	2,518	2458094	5,460	1781479	9,265	1713773	10,235	6481575
CV	0,2	1,3	0,1	1,3	0,1	1,2	0,1	1,4

Tabla III

Precisión del sistema para la solución de patrones de ensulizol, octocrileno y octinoxato

Inyección	Ensulizol		Octocrileno		Octinoxato	
	TR	Área	TR	Área	TR	Área
1	2,530	4064241	9,079	3064311	10,030	5497054
2	2,529	4075520	9,084	2945097	10,036	5473038
3	2,532	4072172	9,091	2954926	10,043	5491458
4	2,517	4095480	9,070	3073513	10,015	5501101
5	2,519	4075722	9,088	3074796	10,035	5504045
6	2,518	4039295	9,080	3066761	10,023	5495703
Promedio	2,524	4070405	9,082	3029901	10,030	5493733
CV	0,3	0,5	0,1	2,0	0,1	0,2

Los valores de tiempos de retención (TR) y área para todos los patrones de los filtros solares estudiados cumplieron los requerimientos de valores menores a los 2% establecidos en la USP37-NF32 (2014).

Tabla IV

Precisión del método analítico de ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato presentes en la crema de día

Filtro Solar	Crema de día al 80%		Crema de día al 100%		Crema de día al 120%	
	Concentración Promedio (%p/p)	CV	Concentración Promedio (%p/p)	CV	Concentración Promedio (%p/p)	CV
Ensulizol	2,008	1,0	2,016	1,4	2,001	2,1
Benzofenona-3	2,136	0,9	2,159	1,7	2,154	2,0
Octocrileno	4,262	1,4	4,315	1,8	4,305	2,6
Octinoxato	8,197	1,2	8,308	1,8	8,281	2,5

Tabla V

Precisión del método analítico de ensulizol, octocrileno y octinoxato presentes en la crema solar

Filtro Solar	Crema solar al 80%		Crema solar al 100%		Crema solar al 120%	
	Concentración Promedio (%p/p)	CV	Concentración Promedio (%p/p)	CV	Concentración Promedio (%p/p)	CV
Ensulizol	2,714	0,4	2,649	0,2	2,849	0,3
Octocrileno	8,320	0,5	8,138	0,4	8,769	0,2
Octinoxato	6,875	0,3	6,798	0,3	7,474	0,1

El coeficiente de variación fue menor o igual a 0,5% para las tres concentraciones evaluadas de la crema solar.

Tabla VI

Resultados de adecuación del sistema para el análisis de los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato

	k'	CV	T	CV	R	CV	N	CV
Ensulizol								
Patrón	1,518	0,4	1,586	1,4	--	--	1415,819	4,5
Crema de día	1,501	0,8	1,503	3,4	--	--	2045,769	6,1
Benzofenona-3								
Patrón	4,460	0,2	1,216	2,6	9,534	2,3	4597,461	5,7
Crema de día	4,397	0,2	1,261	2,8	10,045	2,5	4254,019	8,0
Octocrileno								
Patrón	8,265	0,1	1,221	3,0	12,496	2,6	18328,463	4,5
Crema de día	8,193	0,3	1,275	3,6	11,962	4,4	16184,550	3,5
Octinoxato								
Patrón	9,235	0,1	1,268	3,3	3,216	2,6	17096,247	3,6
Crema de día	9,147	0,3	1,336	3,8	3,001	4,7	16133,461	2,5

Tabla VII

Resultados de adecuación del sistema para el análisis de los filtros solares ensulizol, octocrileno y octinoxato

	k'	CV	T	CV	R	CV	N	CV
Ensulizol								
Patrón	1,524	0,4	1,670	4,8	--	--	985,639	5,7
Crema solar	1,511	0,7	1,221	4,0	--	--	2244,498	11,8
Octocrileno								
Patrón	8,082	0,1	1,182	2,6	23,334	1,6	24927,413	0,8
Crema solar	7,967	0,1	1,207	1,0	29,272	3,7	26510,638	2,8
Octinoxato								
Patrón	9,030	0,1	1,223	0,4	3,872	0,3	25786,265	1,4
Crema solar	8,897	0,2	1,221	0,5	4,030	1,0	29065,937	1,5

los valores de k' varían entre 1 (poca interacción) y 10 (gran interacción). El k' obtenido se consideró aceptable, ya que los resultados se encuentran por debajo de 10, a pesar de tratarse de una mezcla con 4 compuestos y de naturaleza compleja por la cantidad de excipientes que contiene, siendo el mayor valor obtenido de $k' = 9.235$, correspondiente al patrón de octinoxato presente en la mezcla de patrones utilizada para el análisis de la crema de día. Los resultados obtenidos del número de platos teóricos (N) fueron aceptables. Para ensulizol se encontraron valores de N menores al resto de los filtros solares estudiados relacionado a su tiempo de retención. Los valores del factor de cola (T) para los diferentes compuestos oscilaron desde 1,207 hasta 1,670, siendo valores algo elevados, sin embargo, podemos evidenciar en los cromatogramas que no existió problema en la integración de los picos cromatográficos. Los resultados obtenidos para la resolución de los picos cromatográficos (R) fueron muy satisfactorios debido a que oscilan desde 3,001 (para el octinoxato en la crema de día) hasta 29,272 (para octocrileno en la crema solar).

LINEALIDAD Y RANGO

Se realizó el estudio de linealidad para la mezcla de patrones 1 y dio como resultado la ecuación de regresión para ensulizol: $y = 109604X - 99412$, el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 15,01 y 35,03 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9996. La desviación estándar de la respuesta fue 5629,18. La ecuación de regresión lineal para la benzofenona-3 fue $y = 57431X - 30196$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 18,66 y 43,54 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9998. La desviación estándar de la respuesta fue 4877,29. La ecuación de regresión lineal para el octocrileno fue $y = 27706X + 10204$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 36,16 y 84,38 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9997. La desviación estándar de la respuesta fue 4700,89. La ecuación de regresión lineal para el octinoxato fue $y = 61443X - 31229$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 57,90 y 135,10 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9995. La desviación estándar de la respuesta fue 41174,88.

El estudio de linealidad para la mezcla de patrones 2 dio como resultado la ecuación de regresión lineal para ensulizol: $y = 102399X - 28836$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 23,65 y 55,19 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9997. La desviación estándar de la respuesta fue 19949,33. La ecuación de regresión

lineal para octocrileno fue $y = 27478X - 50456$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 70,54 y 164,59 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9991. La desviación estándar de la respuesta fue 19340,56. La ecuación de regresión lineal para el octinoxato fue $y = 59129X + 46402$ y el ensayo fue lineal para el rango de concentraciones comprendido entre 58,06 y 135,46 ppm, con un coeficiente de correlación de 0,9995. La desviación estándar de la respuesta fue 39192,19. El método mostró la capacidad de producir resultados directamente proporcionales a la concentración del analito dentro del intervalo ensayado con un coeficiente de correlación que debe ser mayor o igual a 0,999.

LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Los límites de detección y cuantificación para los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato fueron calculados estadísticamente a partir de los datos de regresión lineal y la desviación estándar de la respuesta (Miller y Miller, 2002). Para la crema de día los límites de detección y cuantificación fueron para ensulizol 0,1696 ppm y 0,5140 ppm, para benzofenona-3 0,2802 ppm y 0,8490 ppm, para octocrileno 0,5599 ppm y 1,6967 ppm y para octinoxato 2,2114 ppm y 6,7013 ppm, respectivamente. Para la crema solar, los límites de detección y cuantificación fueron para ensulizol 0,6429 ppm y 1,9482 ppm, para octocrileno 2,3227 ppm y 7,0386 ppm y para octinoxato 2,1873 ppm y 6,6283 ppm, respectivamente.

ESPECIFICIDAD

La especificidad es la habilidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que pudieran estar presentes, como las impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz (USP37-NF32, 2014). La especificidad del método se evaluó con el estudio de la pureza del pico cromatográfico. El detector PDA evalúa la pureza del pico cromatográfico en 4 fases. Realiza una primera corrida comparando el espectro de cada punto del pico cromatográfico con el espectro del ápice y la marca como fase 1. Si encuentra diferencias espectrales evalúa nuevamente el pico tomando en cuenta el espectro del ápice y el espectro de la impureza como referencia y lo marca como fase 2, así continua hasta obtener las 4 fases. La Tabla VIII muestra los valores obtenidos en el estudio de pureza del pico cromatográfico para los cuatro filtros solares contenidos en la crema de día estudiada, así como los valores del umbral. La figura 5 muestra el gráfico de pureza del pico cromatográfico de ensulizol para la crema de día.

Los ángulos de pureza (PA) obtenidos del pico de ensulizol, en la primera fase mostró una diferencia espectral que puede deberse a alguna contaminación de la muestra coeluyendo con el analito. Sin embargo, en la segunda fase las diferencias espectrales fueron mínimas con respecto al espectro obtenido del espectro del ápice y del espectro de la primera fase, ya que el TH fue mayor que el PA, garantizando

Tabla VIII

Valores de ángulos de pureza y umbral obtenidos para la crema de día

Filtro Solar	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Umbral (TH)
Ensulizol	0,490	0,135	0,100	0,034	0,229
Benzofenona-3	0,043	0,027	0,024	0,021	0,216
Octocrileno	0,098	0,049	0,038	0,025	0,214
Octinoxato	0,183	0,024	0,015	0,009	0,246

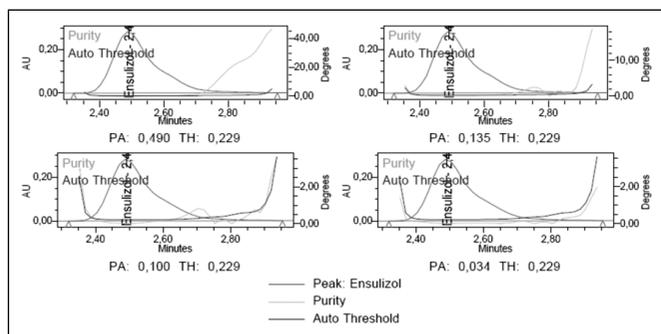


Figura 5. Gráfico de pureza del pico de ensulizol en la crema de día.

que no hubo mayor variación en la comparación del espectro y que el pico evaluado corresponde al ensulizol. Para la benzofenona-3 los ángulos de pureza fueron menores que los valores TH indicando que las diferencias espectrales en cada punto del pico y el espectro del ápice fueron casi nulas y que el pico evaluado corresponde a la benzofenona-3. Los ángulos de pureza obtenidos del pico de octocrileno fueron menores que los valores TH indicando que las diferencias espectrales en cada punto del pico y el espectro del ápice fueron casi nulas y que el pico evaluado corresponde al octocrileno. Los ángulos de pureza obtenidos del pico de octinoxato menores que los valores TH indicaron que las diferencias espectrales en cada punto del pico y el espectro del ápice fueron casi nulas y que el pico evaluado corresponde al octinoxato.

La Tabla IX muestra los valores obtenidos en el estudio de pureza del pico cromatográfico para los tres filtros solares contenidos en la crema solar estudiada, así como los valores del umbral. La Figura 6 muestra el gráfico de pureza del pico cromatográfico de ensulizol para la crema solar.

En la primera fase los ángulos de pureza (PA) obtenidos del pico de ensulizol mostraron que hubo una diferencia espectral que puede deberse a alguna coelución presente con con el analito. Sin embargo, en la segunda fase las diferencias espectrales fueron mínimas con respecto al espectro obtenido del espectro del ápice y del espectro de la primera fase, ya que el TH fue mayor que el PA, garantizando que no

Tabla IX

Valores de ángulos de pureza y umbral obtenidos para la crema solar

Filtro Solar	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Umbral (TH)
Ensulizol	0,832	0,079	0,059	0,031	0,248
Octocrileno	0,284	0,066	0,051	0,022	0,236
Octinoxato	0,078	0,041	0,025	0,015	0,256

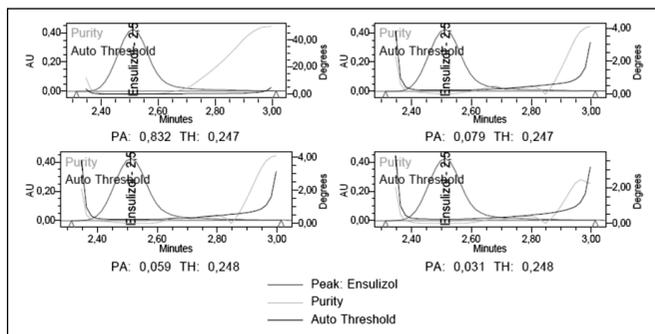


Figura 6. Gráfico de pureza del pico de ensulizol en la crema solar.

hubo mayor variación en la comparación del espectro y que el pico evaluado correspondió al ensulizol. Los ángulos de pureza obtenidos del pico de octocrileno que en la primera fase hubo una diferencia espectral que pudo deberse a alguna contaminación coeluyendo con el analito. Sin embargo, en la segunda fase las diferencias espectrales fueron mínimas con respecto al espectro obtenido del espectro del ápice y del espectro de la primera fase, ya que el TH es mayor que el PA, garantizando que no hubo mayor variación en la comparación del espectro y que el pico evaluado correspondió al octocrileno. Los ángulos de pureza (PA) obtenidos del pico de octinoxato fueron menores que los valores TH indicando que las diferencias espectrales en cada punto del pico y el espectro del ápice fueron casi nulas y que el pico evaluado correspondió al octinoxato.

EXACTITUD

Los resultados para evaluar la exactitud del método analítico se presentan en las Tablas X y XI para la crema de día y la crema solar, respectivamente.

Tabla X

Exactitud del método analítico de los filtros solares ensulizol, benzofenona-3, octocrileno y octinoxato en la crema de día

Filtro Solar	Valor encontrado (% P/P)	Valor promedio (% P/P)	Valor de referencia (% P/P)	Exactitud (%)	Límites de confianza p=0.05	Límites de confianza p=0.01
ENSULIZOL						
Muestra al 80%	1,985	2,008	2,008	100	2,008 ± 0,01996	2,008 ± 0,04646
	2,034					
	2,004					
Muestra al 100%	1,989	2,016				
	2,017					
	2,042					
Muestra al 120%	1,964	2,000				
	2,016					
	2,019					
BENZOFENONA-3						
Muestra al 80%	2,123	2,137	2,154	99,21	2,154 ± 0,03746	2,154 ± 0,08638
	2,130					
	2,157					
Muestra al 100%	2,136	2,165				
	2,166					
	2,193					
Muestra al 120%	2,107	2,159				
	2,175					
	2,194					
OCTOCRILENO						
Muestra al 80%	4,223	4,260	4,294	99,21	4,294 ± 0,07467	4,294 ± 0,17218
	4,238					
	4,320					
Muestra al 100%	4,263	4,317				
	4,314					
	4,373					
Muestra al 120%	4,200	4,305				
	4,332					
	4,382					
OCTINOXATO						
Muestra al 80 %	8,156	8,194	8,263	99,17	8,263 ± 0,14368	8,263 ± 0,33134
	8,175					
	8,251					
Muestra al 100%	8,198	8,309				
	8,309					
	8,419					
Muestra al 120%	8,092	8,285				
	8,325					
	8,438					

Los valores de concentración de todos los filtros solares evaluados en la crema de día se encontraron dentro de los intervalos de confianza de 95% y 99% del promedio.

Tabla XI

Exactitud del método analítico de los filtros solares ensulizol, octocrileno y octinoxato en la crema solar

Filtro Solar	Valor encontrado (% P/P)	Valor promedio (% P/P)	Valor promedio encontrado (% P/P)	Valor declarado por el fabricante (% P/P)	Exactitud (%)	Límites de confianza p=0.05	Límites de confianza p=0.01
ENSULIZOL							
Muestra al 80%	2,703	2,714	2,737	3,0	90,47	3,0 ± 0,25159	3,0 ± 0,58012
	2,715						
	2,723						
Muestra al 100%	2,653	2,649					
	2,650						
	2,645						
Muestra al 120%	2,849	2,849					
	2,859						
	2,840						
OCTOCRILENO							
Muestra al 80%	8,296	8,320	8,409	9,0	92,44	9,0 ± 0,81457	9,0 ± 1,78829
	8,501						
	8,564						
Muestra al 100%	8,106	8,138					
	8,143						
	8,164						
Muestra al 120%	8,753	8,769					
	8,786						
	8,767						
OCTINOXATO							
Muestra al 80%	6,855	6,875	7,049	7,5	91,67	7,5 ± 0,92817	7,5 ± 2,14085
	6,870						
	6,899						
Muestra al 100%	6,777	6,798					
	6,803						
	6,813						
Muestra al 120%	7,465	7,474					
	7,481						
	7,476						

Los valores declarados en el rótulo de la crema solar para ensulizol, octocrileno y octinoxato corresponden a los siguientes porcentajes 3,0, 9,0 y 7,5%, respectivamente. Los valores de concentración de todos los filtros solares evaluados en la crema solar se encontraron dentro de los intervalos de confianza de 95% y 99% de lo declarado en el producto, a

excepción del ensulizol que no cumplió con el requerimiento del 95%.

Conclusiones y recomendaciones

En el presente trabajo se optimizó, aplicó y validó una metodología analítica por cromatografía de alta resolución con detección de diodos para la determi-

nación cuantitativa de filtros solares químicos en productos cosméticos comerciales. Las condiciones analíticas finales fueron: Columna μ BondapakTM C₁₈, (300 x 3,9 mm, 10 μ m); Fase Móvil A: Metanol y Ácido Acético al 1% (80:20); Fase Móvil B: Metanol y Ácido Acético al 1% (90:10) utilizando el siguiente gradiente de elución: Fase Móvil A (0-4 min) Fase Móvil B (4,1-12 min), Fase Móvil A (12,1-13 min) y Velocidad de Flujo de 1,0 mL/min y 1,5 mL/min para Fase Móvil A y Fase Móvil B, respectivamente. Temperatura: 25°C; Volumen de inyección: 20 μ L (loop); Tiempo de corrida: 13 min; Longitud de onda de detección: 290 nm.

La validación de la metodología se realizó siguiendo el protocolo establecido por la USP 37 para metodologías analíticas empleadas en la evaluación de productos farmacéuticos determinando como parámetros: precisión, linealidad y rango, límites de detección y cuantificación, exactitud y especificidad. Los resultados de coeficiente de variación para la precisión del sistema fueron menor o igual al 2%, sin embargo, para la precisión del método se obtuvo un valor máximo de 2,6%, que se lo atribuimos a la naturaleza compleja de las muestras analizadas. Los resultados de exactitud para la crema de día variaron de 99,17 a 100,56% (100% ensulizol, 99,98% benzofenona-3, 100% octocrileno y 100% octinoxato) y para la crema solar variaron de 88,30 a 99,65% (91,25% ensulizol, 93,43% octocrileno y 93,99% octinoxato). Consideramos nuestros resultados aceptables ya que se encuentran dentro de los límites de 90 a 110% usualmente utilizados para productos farmacéuticos a excepción del filtro solar ensulizol de la crema solar.

La especificidad fue evaluada con el estudio de pureza del pico cromatográfico, los resultados obtenidos fueron satisfactorios, sin embargo, para algunos de los compuestos no fue suficiente la primera fase, sino que se tuvo que pasar a la segunda fase para tener un valor conforme, esto lo evidenciamos en la evaluación del ensulizol en la crema de día donde PA fue mayor a TH, significando la existencia de una diferencia espectral. En el caso de la crema solar el valor PA fue mayor a TH tanto para el ensulizol como para el octocrileno, en la primera fase. Estas diferencias espectrales encontradas en la primera fase pueden deberse a alguna contaminación que está coeluyendo con el compuesto de interés, por lo cual recomendamos realizar un pre-tratamiento más exhaustivo a la muestra para disminuir al máximo estas posibles interferencias, sobre todo si no se cuenta con el detector de diodos.

Los resultados tanto para la crema de día como para la crema solar se encuentran dentro de los lími-

tes permitidos de acuerdo a la legislación de la Unión Europea, siendo los límites máximos para ensulizol 8%, benzofenona-3 10%, octocrileno 10% y octinoxato 10%, por lo cual ambas cremas cumplieron con lo exigido en cuanto a los límites de los filtros UV con esta legislación.

Para los productos cosméticos no existen criterios de aceptación definidos para la validación de las metodologías, por lo que se hace necesario utilizar lo señalado en las Farmacopeas, que aplica para formas farmacéuticas, sin embargo, estos valores no siempre se pueden adaptar debido a la complejidad de las muestras e impacto, siendo la recomendación de que basándose en los resultados obtenidos en este trabajo se estudie el establecimiento de los criterios de aceptación para la validación de productos cosméticos así como la aplicación de este tipo de técnicas analíticas a un mayor número de muestras cosméticas comercializadas en Venezuela.

Referencias bibliograficas

- Chisvert A, Salvador A. 2002. Determination of water-soluble UV-filters in sunscreen sprays by liquid chromatography. *J Chromatogr A*. 977: 277-280.
- Comunidad Andina de Naciones. Armonización de Legislaciones en materia de productos cosméticos. Decisión 516 de 2002, marzo de 2002.
- European Commission. Cosmetics Legislation. Bélgica, 2000.
- Fda.gov. Sunscreen Drug Products for over-the-counter human use; final monograph (sede Web): fda.gov; 1999. Disponible en: <http://www.fda.gov>.
- Jiang R, Hayden CGJ, Prankerd RJ, Roberts MS, Benson HAE. 1996. High-performance liquid chromatographic assay for common sunscreens agents in cosmetic products, bovine serum albumin solution and human plasma. *J Chromatogr B Biomed Appl* 682: 137-145.
- Kicheol K, Jochen M, Yong-Bae P, Hong-Rae J, Seok-Ho K, Mi-Hye Y, Jeung-Bok L. 2011. Simultaneous determination of nine UV filters and four preservatives in sunscreen products by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr Sci* 49: 554-559.
- Manová E, Von Goetz N, Hauri U, Bogdal C, Hungerbühler K. 2013. Organic UV filters in personal care products in Switzerland: A survey of occurrence and concentrations. *Int J Hyg Environ Health* 216: 508-514.
- Miller JN, Miller JC. Estadística y quimiometría para química analítica. Pearson Educación S.A.: Madrid, 2002, pp. 125-127.
- Paulus GL. 1972. Gas-liquid chromatographic characterization of sunscreens in suntan preparations. *J Assoc Off Anal Chem* 55: 47-50

- Rastogi SC, Jensen GH. 1998. Identification of UV filters in sunscreen products by high-performance liquid chromatography- diode array detection. *J Chromatogr A* 828: 311-316
- Regnault M. *Análisis de Medicamentos*. Universidad Central de Venezuela, Caracas, 2004.
- Regnault M. *Desarrollo de un Método Analítico por HPLC*. Universidad Central de Venezuela, Caracas, 2005.
- Salvador A, Chisvert A. 2005a. Sunscreen analysis A critical survey on UV filters determination. *Anal Chim Acta* 537: 1-14.
- Salvador A, Chisvert A. 2005b. An environmentally friendly (“green”) reversed- phase liquid chromatography method for UV filters determination in cosmetics. *Anal Chim Acta* 537: 15-24.
- Santoro M, Oliveira D, Kedor-Hackmann E, Singh A. 2004. Quantifying Benzophenone-3 and octyl methoxycinnamate in sunscreen emulsions. *Cosmet Toilet* 119(9): 77-82.
- Shueller R, Romanowski P. 1999. The ABCs of SPFs: An introduction to sun protection products. *Cosmet Toilet* 114(9): 49-57.
- The United States Pharmacopeia USP37-NF32. *Validación de métodos analíticos. Capítulos Generales <1225>*. Convention 2014. National Publishing: Philadelphia, USA, 2014.
- Vanquerp V, Rodríguez C, Coiffard C, Coiffard LJM, De Roeck- Holtzhauer Y. 1999. High-performance liquid chromatographic method for the comparison of the photostability of five sunscreen agents. *J Chromatogr A* 832: 273-277.
- Waters Corporation. *Peak Purity Analysis*. Waters 996. Photodiode Detector. *Performance Perspectives*. 508 478-2000.