

383L0514

Nº L 291/9

24. 10. 83

**TERCEIRA DIRECTIVA DA COMISSÃO****de 27 de Setembro de 1983****relativa à aproximação das legislações dos Estados-membros respeitantes aos métodos de análise necessários para o controlo da composição dos produtos cosméticos**

(83/514/CEE)

A COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPEIAS,

tendo em conta o Tratado que institui a Comunidade Económica Europeia,

tendo em conta a Directiva 76/768/CEE do Conselho, de 27 de Julho de 1976, relativa à aproximação das legislações dos Estados-membros respeitantes aos produtos cosméticos<sup>(1)</sup>, com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 83/341/CEE<sup>(2)</sup> e, nomeadamente, o n.º 1 do seu artigo 8º,

considerando que a Directiva 76/768/CEE prevê controlos oficiais dos produtos cosméticos tendo em vista constatar que são respeitadas as condições previstas pelas disposições comunitárias respeitantes à composição dos produtos cosméticos;

considerando que é conveniente estabelecer o mais rapidamente possível todos os métodos de análise necessários e que duas fases para atingir esta finalidade foram realizadas através da fixação de certos métodos nas Directivas 80/1335/CEE<sup>(3)</sup> e 82/434/CEE<sup>(4)</sup> da Comissão, a fixação dos métodos de doseamento do diclorometano e do 1,1,1-tricloroetano, de identificação e de doseamento da 8-hidroxi-quinoleína e do seu sulfato, de doseamento do amoníaco, de identificação e de doseamento do nitrometano, de identificação e de doseamento do ácido tioglicólico nos produtos para a frisagem ou a desfrisagem dos cabelos e nos depilatórios, de identificação e de doseamento do hexaclorofeno, de doseamento da tosilcloramida sódica, de doseamento dos compostos de flúor nas pastas dentífricas, de identificação e de doseamento dos compostos organomercuriais, de doseamento dos sulfuretos alcalinos e alcalinoterrosos constituem uma terceira fase;

considerando que as medidas previstas na presente directiva estão conformes com o parecer do Comité para a adaptação ao progresso técnico da Directiva 76/768/CEE,

ADOPTOU A PRESENTE DIRECTIVA:

*Artigo 1º*

Os Estados-membros tomarão todas as disposições conve-

nientes para que, aquando dos controlos oficiais dos produtos cosméticos:

- o doseamento do diclorometano e do 1,1,1-tricloroetano,
- a identificação e o doseamento da 8-hidroxi-quinoleína e do seu sulfato,
- o doseamento do amoníaco,
- a identificação e o doseamento do nitrometano,
- a identificação e o doseamento do ácido tioglicólico nos produtos para a frisagem ou a desfrisagem dos cabelos e nos depilatórios,
- a identificação e o doseamento do hexaclorofeno,
- o doseamento da tosilcloramida sódica,
- o doseamento dos compostos de flúor nas pastas dentífricas,
- a identificação e o doseamento dos compostos organomercuriais,
- o doseamento dos sulfuretos alcalinos e alcalinoterrosos,

sejam efectuados segundo os métodos descritos no anexo.

*Artigo 2º*

Os Estados-membros aplicarão as disposições legislativas, regulamentares ou administrativas necessárias para darem cumprimento ao disposto na presente directiva, o mais tardar em 31 de Dezembro de 1984. Desse facto informarão imediatamente a Comissão.

*Artigo 3º*

Os Estados-membros são destinatários da presente directiva.

Feito em Bruxelas em 27 de Setembro de 1983.

*Pela Comissão*

Frans ANDRIESEN

*Membro da Comissão*<sup>(1)</sup> JO n.º L 262 de 27. 9. 1976, p. 169.<sup>(2)</sup> JO n.º L 188 de 13. 7. 1983, p. 15.<sup>(3)</sup> JO n.º L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.<sup>(4)</sup> JO n.º L 185 de 30. 6. 1982, p. 1.

## ANEXO

**DOSEAMENTO DO DICLOROMETANO E DO 1,1,1-TRICLOROETANO**

## 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método descreve o doseamento do diclorometano (cloreto de metileno) e do 1,1,1-tricloroetano (metilclorofórmio).

Aplica-se ao conjunto dos produtos cosméticos susceptíveis de conter estes compostos.

## 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em diclorometano e em 1,1,1-tricloroetano determinado segundo este método é expresso em percentagem de massa.

## 3. PRINCÍPIO

O doseamento efectua-se por cromatografia em fase gasosa, utilizando o triclorometano (clorofórmio) como padrão interno.

## 4. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1. Triclorometano ( $\text{CHCl}_3$ ).

4.2. Tetracloroeto de carbono ( $\text{CCl}_4$ ).

4.3. Diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

4.4. 1,1,1-tricloroetano ( $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ).

4.5. Acetona.

4.6. Azoto.

## 5. APARELHAGEM

5.1. Material corrente de laboratório e de cromatografia em fase gasosa.

5.2. Cromatógrafo munido dum detector catarmétrico.

5.3. Matrás rolhado munido de uma válvula de 50-100 ml; ver a amostragem em 5.3. <sup>(3)</sup>.

5.4. Seringa de pressão para gases (ver método de amostragem 5.4.2.2.) <sup>(3)</sup>.

## 6. TÉCNICA

6.1. Amostra não pressurizada: pesar exactamente a amostra num matrás com rolha. Introduzir uma quantidade, pesada com exactidão, de  $\text{CHCl}_3$  (4.1.) equivalente à quantidade pressuposta de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$  contida na amostra. Homogeneizar.

<sup>(1)</sup> JO n. L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.

- 6.2. Amostra pressurizada: utilizar o método para a tomada de ensaio descrito no capítulo « amostragem ». Todavia, ter o maior cuidado com a precisão das indicações seguintes.
- 6.2.1. Introduzir no matrás rolhado (5.3.) uma quantidade de padrão interno (4.1.) equivalente à quantidade pressuposta de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e/ou  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$  contida na amostra. Homogeneizar. Lavar o « volume morto » da válvula do matrás (5.3.) com 0,5 ml de  $\text{CCl}_4$  (4.2.), que se deixa evaporar. Determinar a massa do padrão interno por pesagem diferencial do matrás (5.3.).
- 6.2.2. A ponta em teflon da seringa, após enchimento com a amostra, deve ser submetida a uma corrente de azoto (4.6.) de tal modo que, antes da injeção no cromatógrafo, não subsista na ponta qualquer resíduo da amostra.
- 6.2.3. Após cada aplicação, a ponta da válvula ou a eventual peça de transferência utilizada deve ser lavada várias vezes com acetona (4.5.) (com uma seringa hipodérmica) e em seguida bem seca com azoto (4.6.).
- 6.2.4. Para cada análise, proceder às determinações utilizando dois matrases (5.3.) diferentes, efectuando 5 medidas por matrás.

## 7. CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

### 7.1. Pré-coluna

Tubo inoxidável

Comprimento : 30 cm

Diâmetro : 3 ou 6 mm

Enchimento : cromossorbe com as mesmas características que o da coluna.

### 7.2. Coluna

A fase estacionária é constituída por Hallcomid M 18 em cromossorbe. Deve permitir um grau de resolução (R) igual a 1,5, pelo menos :

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

em que :

$r_1$  e  $r_2$  = tempo de retenção (expresso em minutos),

$W_1$  e  $W_2$  = largura dos picos a meia-altura (em mm),

$d'$  = velocidade de desenrolamento do papel (em mm/minuto).

- 7.3. A título de exemplo, a técnica seguinte permite obter bons resultados:

Coluna	I	II
Natureza :	tubo inoxidável	tubo inoxidável
Comprimento :	350 cm	400 cm
Diâmetro :	3 mm	6 mm
Enchimento :		
cromossorbe :	WAW	WAW-DMCS-HP
granulometria :	100-120 mesh	60-80 mesh
Fase estacionária :	Hallcomid M 18 10%	Hallcomid M 18 20%
Temperaturas :		
coluna :	65°C	75°C
injector :	150°C	125°C
detector :	150°C	200°C
Gás de arrastamento :		
hélio, débito :	45 ml/min.	60 ml/min.
pressão de entrada :	2,5 bar	2,0 bar
Injecção :	15 µl	15 µl

## 8. DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE PROPORCIONALIDADE

Constituir num matrás, a mistura seguinte pesada com exactidão :

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4.3.): 30% m/m de diclorometano

CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub> (4.4.): 35% m/m de tricloroetano

CHCl<sub>3</sub> (4.1.): 35% m/m de triclorometano

Serve para estabelecer os coeficientes de proporcionalidade.

## 9. CÁLCULOS

9.1. *Cálculo dum coeficiente de proporcionalidade dum substância (p) em relação a uma substância (a) escolhida como padrão interno*

Seja para a substância p:

K<sub>p</sub> = o seu coeficiente de proporcionalidade,

m<sub>p</sub> = a sua massa na mistura,

A<sub>p</sub> = a área do seu pico;

seja para a substância a:

K<sub>a</sub> = o seu coeficiente de proporcionalidade considerado igual a 1,

m<sub>a</sub> = a sua massa na mistura,

A<sub>a</sub> = a área do seu pico :

$$K_p = \frac{m_p \times A_a}{m_a \times A_p}$$

A título de exemplo, foram obtidos os coeficientes de proporcionalidade seguintes (para CHCl<sub>3</sub> : K = 1):

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> : K<sub>1</sub> = 0,78 ± 0,03

CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub> : K<sub>2</sub> = 1,00 ± 0,03

9.2. *Cálculo das percentagens de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub> presentes na amostra a analisar*

Seja :

K<sub>1</sub> = o coeficiente de proporcionalidade de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

K<sub>2</sub> = o coeficiente de proporcionalidade de CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub>,

m<sub>a</sub> = a massa de CHCl<sub>3</sub>,

m<sub>e</sub> = a massa da amostra a analisar,

A<sub>a</sub> = a área do pico de CHCl<sub>3</sub>,

A<sub>1</sub> = a área do pico de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

A<sub>2</sub> = a área do pico de CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub>.

Teremos :

$$\% \text{ (m/m) CH}_2\text{Cl}_2 = \frac{m_a \times A_1 \times K_1 \times 100}{A_a \times m_e}$$

$$\% \text{ (m/m) CH}_3\text{CCl}_3 = \frac{m_a \times A_2 \times K_2 \times 100}{A_a \times m_e}$$

10. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>

Para um teor em compostos clorados de 25% (m/m), a diferença entre os resultados de duas determinações paralelas efectuadas sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 2,5%.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

**IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DA 8-HIDROXIQUINOLEÍNA E DO SEU SULFATO****1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO**

O método descreve a identificação e o doseamento da 8-hidroxiquinoleína e do seu sulfato.

**2. DEFINIÇÃO**

O teor da amostra em 8-hidroxiquinoleína determinado segundo este método é expresso em percentagem de 8-hidroxiquinoleína.

**3. PRINCÍPIO****3.1. Identificação**

É efectuada por cromatografia em camada delgada.

**3.2. Doseamento**

É efectuada por fotolorimetria em 410 nm dum complexo de cobre obtido por reacção com o licor de Fehling.

**4. REAGENTES**

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1. 8-Hidroxiquinoleína.

4.2. Benzeno (tendo em conta a toxicidade do produto, tomar as precauções adequadas).

4.3. Clorofórmio.

4.4. Solução de hidróxido de sódio a 50% m/m.

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

4.6. Tartarato duplo de potássio e de sódio.

4.7. Ácido clorídrico 1 N.

4.8. Ácido sulfúrico 1 N.

4.9. Solução de hidróxido de potássio 1 N.

4.10. Etanol.

4.11. 1-Butanol.

4.12. Ácido acético glacial.

- 4.13. Ácido clorídrico 0,1 N.
- 4.14. Celite 545 ou equivalente.
- 4.15. **Soluções padrões**
- 4.15.1. Colocar 100 mg de 8-hidroxiquinoleína (4.1.) num balão aferido de 100 ml e dissolver numa pequena quantidade de ácido sulfúrico 1 N (4.8.). Completar o volume com ácido sulfúrico 1 N (4.8.).
- 4.15.2. Colocar 100 mg de 8-hidroxiquinoleína (4.1.) num balão aferido de 100 ml. Dissolver no etanol (4.10.). Completar o volume com o mesmo solvente e misturar.
- 4.16. **Licor de Fehling**
- Solução A*
- Num balão aferido de 100 ml, pesar 7 g de sulfato de cobre (4.5.). Dissolver numa pequena quantidade de água, completar o volume com água e misturar.
- Solução B*
- Num balão aferido de 100 ml, pesar 35 g de tartarato duplo de potássio e de sódio (4.6.) e dissolvê-los em 50 ml de água. Juntar 20 ml de hidróxido de sódio a 50% (4.4.). Completar o volume com água e misturar.
- Imediatamente antes da utilização, pipetar 10 ml de solução A e 10 ml de solução B, para um balão aferido de 100 ml. Completar o volume com água e misturar.
- 4.17. **Eluentes**
- Eluente I: 1-butanol, ácido acético, água (80 : 20 : 20) (v/v/v).
- Eluente II: clorofórmio, ácido acético (95 : 5) (v/v).
- 4.18. Solução a 1% de 2,6-dicloro-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienona em etanol (4.10.).
- 4.19. Solução de carbonato de sódio a 1% (m/v).
- 4.20. Solução a 30% (v/v) de etanol (4.10.) em água.
- 4.21. Solução de dihidrogenoetilenodiaminatetraacetato de dissódio a 5% (m/v).
- 4.22. **Solução tampão de pH 7**
- Pesar 27 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  e 70 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  num balão aferido de 1 l. Dissolver. Completar o volume e misturar.
- 4.23. **Placas de sílica prontas para utilização**
- Espessura 0,25 mm (« Kieselgel » 60 Merck ou equivalente). Antes da utilização, cada placa deve ser pulverizada com 10 ml do reagente 4.21. e seca a 80°C.
5. APARELHAGEM
- 5.1. Balões esmerilados de fundo redondo de 100 ml.
- 5.2. Balões aferidos.
- 5.3. Pipetas graduadas de 10 e 5 ml.

- 5.4. Pipetas aferidas de 20, 15, 10 e 5 ml.
- 5.5. Ampolas de decantação de 100, 50 e 25 ml.
- 5.6. Filtros de pregas de 9 cm de diâmetro.
- 5.7. Evaporador rotativo.
- 5.8. Refrigerador esmerilado de refluxo.
- 5.9. Espectrofotómetro.
- 5.10. Tinas de 1 cm de percurso óptico.
- 5.11. Agitador com aquecimento.
- 5.12. Coluna de vidro para cromatografia de 160 mm de altura e 8 mm de diâmetro, cuja parte inferior está munida de um estreitamento tapado por um tampão de lã de vidro e cuja parte superior é adaptada a eluição sob pressão.

## 6. TÉCNICA

### 6.1. Identificação

#### 6.1.1. Amostras líquidas

- 6.1.1.1. Depois de ter levado a 7 o pH fracção de amostra a analisar, aplica-se 5 e 10 µl em cada um dos pontos da linha de partida numa placa recoberta com uma camada delgada de gel de sílica, tratada previamente como referido em 4.23.
- 6.1.1.2. Sobre dois outros pontos da linha de partida, aplicam-se 10 e 30 µl da solução padrão (4.15.2.) e, seguidamente, desenvolve-se a placa com um dos dois eluentes (4.17.).
- 6.1.1.3. Quando o eluente atingiu 15 cm, a placa é seca a 110°C durante 15 min. Com luz UV (366 nm), as manchas de 8-hidroxiquinoleína caracterizam-se por uma fluorescência amarela.
- 6.1.1.4. A placa é seguidamente pulverizada com uma solução aquosa de carbonato de sódio a 1% (4.19), e, após a secagem, com uma solução a 1% de 2,6-dicloro-4-(cloroimino)ciclohexa-2,5-dienona (4.18.). A 8-hidroxiquinoleína aparece na forma de uma mancha azul.

#### 6.1.2. Amostras sólidas e cremes

- 6.1.2.1. Colocar 1 g de amostra em suspensão em 5 ml da solução tampão de pH 7 (4.22.). Transferir com 10 ml de clorofórmio para uma ampola de decantação e agitar. Depois de ter separado a camada clorofórmica, extrair por duas vezes a suspensão aquosa com 10 ml de clorofórmio (4.3.). Misturar e filtrar os extractos clorofórmicos para um balão de fundo redondo de 100 ml (5.1.). Concentrar até à secura quase total no evaporador rotativo. Retomar o resíduo em 2 ml de clorofórmio e aplicar 10 e 30 µl da solução obtida numa placa de gel de sílica, procedendo como foi indicado em 6.1.1.1.
- 6.1.2.2. Após ter aplicado 10 e 30 µl da solução padrão (4.15.2.), procede-se como indicado em 6.1.1.2., 6.1.1.3. e 6.1.1.4.

### 6.2. Doseamento

#### 6.2.1. Amostras líquidas

- 6.2.1.1. Num balão esmerilado de fundo redondo de 100 ml, pesar 5 g da amostra. Juntar 1 ml de ácido sulfúrico 1N (4.8.) e concentrar a mistura até à secura quase total a pressão reduzida a 50°C.

- 6.2.1.2. Dissolver este resíduo em 20 ml de água quente. Transferir para um balão aferido de 100 ml e lavar por 3 vezes com 20 ml de água. Completar 100 ml com água e misturar.
- 6.2.1.3. Pipetar 5 ml desta solução para uma ampola de decantação de 50 ml (5.5.). Depois de se juntar 10 ml de licor de Fehling (4.16.), extrair o complexo de cobre formado por três vezes com 8 ml de clorofórmio (4.3.).
- 6.2.1.4. Juntar as fases clorofórmicas filtradas num balão aferido de 25 ml (5.2.). Completar o volume com clorofórmio (4.3.) e agitar. Determinar a densidade óptica da solução amarela a 410 nm, em relação ao clorofórmio.
- 6.2.2. *Amostras sólidas e cremes*
- 6.2.2.1. Num balão de fundo redondo de 100 ml (5.1.), pesar 0,500 g da amostra. Juntar 30 ml de benzeno (4.2.) e 20 ml de ácido clorídrico 1 N (4.7.). Aquecer à ebulição com refluxo durante 30 minutos, agitando.
- 6.2.2.2. Transferir a conteúdo do balão para uma ampola de decantação (5.5.) de 100 ml e lavar com 5 ml de ácido clorídrico 1 N (4.7.). Transferir a fase aquosa para um balão de fundo redondo (5.1.). Lavar a fase benzénica com 5 ml de ácido clorídrico 1 N (4.7.) e recolher as águas de lavagem no balão. Prosseguir como indicado no ponto 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. Caso das emulsões que não convêm para o prosseguimento da análise. Misturar 0,500 g da amostra com 2 g de celite 545 (4.14.), de modo a obter um pó fluído. Colocar a mistura, em pequenas fracções, na coluna de vidro para cromatografia (5.12.). Após cada adição, distribuir o conteúdo da coluna. Quando toda a mistura amostra-celite foi introduzida na coluna, eluir com ácido clorídrico 0,1 N (4.13.), de modo a obter 10 ml de eluído em cerca de 10 minutos. Em caso de necessidade, pode-se proceder a esta eluição, exercendo uma ligeira sobrepressão com azoto. Durante a eluição é conveniente certificar-se de que há sempre ácido clorídrico acima da mistura amostra-celite.
- Os primeiros 10 ml de eluído são seguidamente tratados como indicado em 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. As fases aquosas (6.2.2.2.) ou os eluídos (6.2.2.3.) são misturados e concentrados até à secura quase total sob pressão reduzida no evaporador rotativo.
- 6.2.2.5. Dissolver o resíduo em 6 ml da solução de hidróxido de sódio 1 N (4.9.). Juntar 20 ml de licor de Fehling (4.16.) e transferir para uma ampola de decantação de 50 ml (5.5.). Lavar o balão com 8 ml de clorofórmio (4.3.) e transferir para a ampola de decantar. Após agitação, a fase clorofórmica é filtrada e recolhida num balão aferido de 50 ml (5.2.).
- 6.2.2.6. A fase aquosa é extraída por três vezes com 8 ml de clorofórmio (4.3.). As fases clorofórmicas são filtradas e recolhidas no balão aferido de 50 ml. Completar o volume com clorofórmio e agitar. Determinar a densidade óptica da solução amarela a 410 nm, em relação ao clorofórmio.

## 7. CURVA DE CALIBRAÇÃO

- 7.1. Para balões de fundo redondo de 100 ml (5.1.) contendo cada um 3 ml duma solução aquosa de etanol a 30% (4.20.), pipetar 5, 10, 15 e 20 ml da solução padrão (4.15.1.) e proceder como indicado em 6.2.1.

## 8. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

### 8.1. *Amostras líquidas*

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

em que :

a = número de mg de 8-hidroxiquinoleína extrapolados da curva de calibração (7),

m (mg) = massa de amostra (6.2.1.1).

#### 8.2. *Amostras sólidas e cremes*

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

em que:

a = número de mg de 8-hidroxiquinoleína extrapolados na curva de calibração (7)

m (mg) = massa da amostra (6.2.2.1).

#### 9. REPETIBILIDADE (1)

Para um teor em 8-hidroxiquinoleína da ordem de 0,3%, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,02%.

### DOSEAMENTO DO AMONÍACO

#### 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

O método descreve o doseamento do amoníaco livre no conjunto dos produtos cosméticos.

#### 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em amoníaco determinado segundo este método é expresso em percentagem de massa de NH<sub>3</sub>.

#### 3. PPRINCÍPIO

Uma solução de cloreto de bário é adicionada ao produto cosmético em meio etanol-água. O precipitado eventualmente formado é filtrado ou centrifugado. Este modo de proceder evita, no decurso da destilação em corrente de vapor, o arrastamento de certos sais de amónio tais como o carbonato, o hidrogenocarbonato, os sais ácidos gordos, etc., com excepção do acetato de amónio.

O amoníaco é arrastado pelo vapor a partir do filtrado ou da parte sobrenadante e doseado por titrimetria de retorno com indicador, ou titrimetria potenciométrica directa.

#### 4. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

##### 4.1. Metanol.

##### 4.2. Solução de cloreto de bário dihidratado a 25% (m/v).

##### 4.3. Solução de ácido ortobórico a 4% (m/v).

##### 4.4. Solução aferida de ácido sulfúrico 0,5 N.

##### 4.5. Anti-espumante líquido.

##### 4.6. Solução aferida de hidróxido de sódio 0,5 N.

##### 4.7. Indicador: misturar 5 ml duma solução de vermelho de metilo a 0,1% em etanol e 2 ml duma solução de azul de metileno a 0,1% em água.

(1) Segundo a norma ISO 5725.

## 5. APARELHAGEM

- 5.1. Material corrente de laboratório.
- 5.2. Centrífuga com tubos fechados.
- 5.3. Aparelho de arrastamento pelo vapor.
- 5.4. Potenciógrafo.
- 5.5. Eléctrodo de vidro e eléctrodo de referência de dicloreto de dimercúrio (calomelanos).

## 6. TÉCNICA

- 6.1. Num balão aferido de 100 ml pesar, com a aproximação de 1 mg, uma quantidade da amostra (m), correspondente, no máximo, a 150 mg de NH<sub>3</sub>.
- 6.2. Adicionar:  
 água: 10 ml.  
 metanol: 10 ml (4.1.).  
 solução de cloreto de bário (4.2.): 10 ml.  
 Completar o volume com metanol (4.1.).
- 6.3. Homogeneizar e deixar uma noite em frigorífico (5°C).
- 6.4. A solução ainda fria é filtrada ou centrifugada em tubos fechados, durante 10 minutos, de modo a obter um líquido sobrenadante límpido.
- 6.5. Introduzir, medindo por pipeta, 40 ml da solução límpida no aparelho de arrastamento (5.3.) e, eventualmente, 0,5 ml de anti-espumante (4.5.).
- 6.6. Destilar e recolher 200 ml de produto destilado num copo de 250 ml contendo 10,0 ml de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4.) e 0,1 ml do indicador (4.7.).
- 6.7. Dosear por retorno o ácido sulfúrico em excesso com a solução de hidróxido de sódio (4.6.).
- 6.8. No caso dum doseamento potenciométrico, recolher 200 ml de produto destilado num copo de 250 ml contendo 25 ml da solução de ácido ortobórico (4.3.) e titular com o ácido sulfúrico 0,5 N (4.4.).

## 7. EXPRESSÃO DOS RESULTADOS

7.1. *Doseamento por retorno com o indicador*

Seja:

V<sub>1</sub> (ml) = o volume da solução de hidróxido de sódio 0,5 N (4.6) utilizado,

T<sub>1</sub> = o título exacto da solução de hidróxido de sódio 0,5 N (4.6),

T<sub>2</sub> = o título exacto da solução de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4),

m (mg) = massa da amostra (6.1):

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

7.2 **Doseamento potenciométrico directo**

em que:

 $V_2$  (ml) = o volume da solução de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4) utilizado, $T_2$  = o título exacto da solução de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4),

m (mg) = a massa da amostra (6.1).

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

8. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>

Para um teor em  $\text{NH}_3$  da ordem de 6%, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,6%.

**IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DO NITROMETANO**

## 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método é aplicável à identificação e ao doseamento do nitrometano nos produtos cosméticos acondicionados sob forma de aerossol para uma concentração inferior ou igual a 0,3%.

## 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em nitrometano determinado por este método é expresso em percentagem de nitrometano (m/m) na totalidade do conteúdo de aerossol.

## 3. PRINCÍPIO

O nitrometano é identificado por reacção corada. O seu doseamento é efectuado por cromatografia em fase gasosa após adição dum padrão interno.

## 4. IDENTIFICAÇÃO

4.1. **Reagentes**

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

4.1.1. Solução de hidróxido de sódio 0,5N.

4.1.2. *Reagente de Folin*

Dissolver em água 0,1 g de sal sódico do ácido 1,2-naftoquinona-4-sulfónico e levar a 100 ml.

4.2. **Técnica**

Juntar 10 ml de 4.1.1. e 1 ml de 4.1.2. a 1 ml de amostra. Uma coloração violeta indica a presença de nitrometano.

## 5. DOSEAMENTO

5.1. **Reagentes**

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

- 5.1.1. Clorofórmio (padrão interno 1).
- 5.1.2. 2,4-dimetilheptano (padrão interno 2).
- 5.1.3. Etanol a 95%.
- 5.1.4. Nitrometano.
- 5.1.5. *Solução padrão de clorofórmio*
- Num balão aferido de 25 ml previamente tarado, introduzir cerca de 650 mg de clorofórmio (5.1.1.). Pesar de novo com cuidado o balão e o seu conteúdo. Completar o volume com etanol a 95% (5.1.3.). Pesar e calcular a percentagem em massa de clorofórmio nesta solução.
- 5.1.6. *Solução padrão de dimetilheptano*
- Proceder como para a solução padrão de clorofórmio, mas introduzir 270 mg de 2,4-dimetilheptano (5.1.2.) num balão aferido de 25 ml.
- 5.2. **Aparelhagem**
- 5.2.1. Cromatógrafo de fase gasosa, com detector de ionização de chama.
- 5.2.2. Aparelhagem para a amostragem dos aerossóis (frasco de transferência, microseringa, ligação, etc.), tal como é descrito no capítulo II do anexo da Directiva 80/1335/CEE da Comissão de 22 de Dezembro de 1980<sup>(1)</sup>.
- 5.2.3. Material corrente de laboratório.
- 5.3. **Técnica**
- 5.3.1. *Preparação da amostra*
- Num frasco de transferência de 100 ml previamente tarado e liberto de ar (segundo o modo de proceder descrito no parágrafo 5.4. do Capítulo II do Anexo da Directiva 80/1335/CEE da Comissão de 22 de Dezembro de 1980) ou no qual se fez vácuo, introduzir cerca de 5 ml de um ou outro dos padrões internos 5.1.5. ou 5.1.6. Utilizar uma seringa de vidro de 10 ou 20 ml sem agulha, adaptada à peça de transferência, segundo a técnica descrita no parágrafo 5, capítulo II da referida directiva.
- Segundo a mesma técnica, introduzir no frasco cerca de 50 g do conteúdo da amostra de aerossol. Pesar de novo, a fim de determinar a quantidade de amostra introduzida. Misturar cuidadosamente. Injectar cerca de 10 µl utilizando a microseringa (5.2.2.). Efectuar 5 injecções.
- 5.3.2. *Preparação do padrão*
- Num balão aferido de 50 ml, pesar com precisão cerca de 500 mg de nitrometano (5.1.4.) em 500 mg de clorofórmio (5.1.1.) ou 210 mg de 2,4-dimetilheptano (5.1.2.). Completar o volume com etanol a 95% (5.1.3.). Misturar cuidadosamente. Introduzir 5 ml desta solução num balão aferido de 20 ml. Completar o volume com etanol a 95% (5.1.3.). Injectar cerca de 10 µl utilizando a microseringa (5.2.2.). Efectuar 5 injecções.
- 5.3.3. *Condições de cromatografia em fase gasosa*
- 5.3.3.1. **Coluna**
- Trata-se duma coluna constituída por duas partes, a primeira contendo ftalato de dodecilo sobre «Gascrom Q» como fase estacionária, a segunda «Ucon 50 HB 280X» sobre «Gascrom Q» como fase estacionária. A coluna dupla assim preparada deve dar uma resolução R igual ou superior a 1,5, partindo do princípio que:

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

<sup>(1)</sup> JO n. L 383 de 31. 12. 1980, p. 27.

- $r_1$  e  $r_2$  = tempo de retenção em minutos,  
 $W_1$  e  $W_2$  = largura dos picos a meia-altura em mm,  
 $d'$  = velocidade de desenvolvimento em mm/minuto.

A título de exemplo, as 2 partes seguintes dão a solução pretendida.

Parte A :

- materiais : aço inoxidável  
 comprimento : 1,5 m  
 diâmetro : 3 mm  
 enchimento : 20% de ftalato de dodecilo sobre « Gascrom Q » 100-120 mesh.

Parte B :

- materiais : aço inoxidável  
 comprimento : 1,5 m  
 diâmetro : 3 mm  
 enchimento : 20% Ucon 50 HB 280X sobre « Gascrom Q » 100-120 mesh.

5.3.3.2. Detector

Ionização de chama. O electrómetro do detector deve ser regulado para uma sensibilidade de  $8 \times 10^{-10}$  A.

5.3.3.3. Temperaturas

- Injector : 150 °C  
 Detector : 150 °C  
 Coluna : entre 50 °C e 80 °C segundo o tipo de coluna e a aparelhagem.

5.3.3.4. Gás

- Gás de arrastamento : azoto.  
 Pressão : 2,1 bar.  
 Débito : 40 ml/minuto.  
 Detector : gás recomendado pelo fabricante.

6. CÁLCULOS

6.1. **Factor de resposta do nitrometano, calculado em referência ao padrão interno utilizado**

Se n representa o nitrometano :

- $k_n$  = o factor de resposta  
 $m'_n$  = a sua massa em g na mistura,  
 $s'_n$  = a área do seu pico,

e se c representa o padrão interno, clorofórmio ou 2,4-dimetilheptano :

- $m'_c$  = a sua massa em g na mistura,  
 $s'_c$  = a área do seu pico.

A fórmula será :

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

$k_n$  depende da aparelhagem.

6.2. **Concentração do nitrometano na amostra**

Se n representa no nitrometano :

- $k_n$  = o factor de resposta,  
 $s_n$  = a área do seu pico,

e se c representa o padrão interno, clorofórmio ou 2,4-dimetilheptano :

- $m_c$  = a massa em g na mistura,  
 $s_c$  = a área do seu pico,  
 $M$  = a massa em g da amostra de aerosol transferida,

A percentagem m/m de nitrometano na amostra será igual a :

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_n \times s_n}{s_c} \times 100$$

#### 7. REPETIBILIDADE (1)

Para um teor em nitrometano da ordem de 0,3% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,03%.

### IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DO ÁCIDO TIOGLICÓLICO NOS PRODUTOS PARA A FRISAGEM OU A DESFRISAGEM DOS CABELOS E NOS DEPPILATÓRIOS

#### 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método descreve a identificação e o doseamento do ácido tioglicólico nos produtos para a frisagem ou a desfrisagem dos cabelos e nos depilatórios, em presença de outros redutores eventuais.

#### 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em ácido tioglicólico, determinado segundo este método, é expresso em percentagem de ácido tioglicólico (m/m).

#### 3. PRINCÍPIO

O ácido tioglicólico é identificado, quer por reacção corada, quer por cromatografia em camada delgada. O seu doseamento é efectuado quer por iodometria, quer por cromatografia em fase gasosa.

#### 4. IDENTIFICAÇÃO

##### 4.1. *Identificação por via química*

##### 4.1.1. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

##### 4.1.1.1. Papel com di (acetato) de chumbo.

##### 4.1.1.2. Solução de ácido clorídrico 1:1.

##### 4.1.2. *Técnica*

##### 4.1.2.1. Identificação do ácido tioglicólico por reacção corada com o di (acetato) de chumbo

Aplicar uma gota da amostra a analisar sobre papel com di (acetato) de chumbo (4.1.1.1.). Se se obtiver uma coloração amarela intensa, é provável a presença de ácido tioglicólico.

Sensibilidade : 0,5%.

##### 4.1.2.2. Caracterização dos sulfuretos por formação de H<sub>2</sub>S após passagem em meio ácido

Num tubo de ensaio, introduzir alguns mg da amostra a estudar. Juntar 2 ml de água destilada e 1 ml de HVL 1:1 (4.1.1.2.). Verifica-se uma libertação de H<sub>2</sub>S que se reconhece pelo seu cheiro e pela formação de precipitado negro de PbS sobre um papel com di (acetato) de chumbo (4.1.1.1.).

Sensibilidade : 50 ppm.

##### 4.1.2.3. Caracterização dos sulfitos por formação de SO<sub>2</sub> após passagem por meio ácido

Proceder como em 4.1.2.2. Levar à ebulição. O SO<sub>2</sub> reconhece-se pelo seu cheiro e pelas suas propriedades redutoras sobre o MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>, por exemplo.

(1) Segundo a norma ISO 5725.

**4.2. Identificação por cromatografia em camada delgada****4.2.1. Reagentes**

Todos os reagentes, salvo indicação em contrário, devem ser de pureza analítica.

- 4.2.1.1. Ácido tioglicólico controlado iodometricamente, pureza  $\geq 98\%$  (ATG).
- 4.2.1.2. Ácido ditioglicólico, pureza  $\geq 99\%$  (ADTG).
- 4.2.1.3. Ácido tioláctico, pureza  $\geq 95\%$  (ATL).
- 4.2.1.4. Ácido 3-mercaptopropiónico, pureza  $\geq 98\%$  (AMP).
- 4.2.1.5. 1-tioglicerol, pureza  $\geq 98\%$  (TG).
- 4.2.1.6. Gel de sílica GHR ou placas prontas para utilização de espessura correspondente a 0,25 mm, activadas a 110°C durante 30 minutos.
- 4.2.1.7. Óxido de alumínio F 254, tipo E Merck (ou equivalente) ou placas prontas para utilização, de 0,25 mm de espessura.
- 4.2.1.8. Ácido clorídrico concentrado ( $d_4^{20} = 1,19$ ).
- 4.2.1.9. Acetato de etilo.
- 4.2.1.10. Clorofórmio.
- 4.2.1.11. Éter di-isopropílico.
- 4.2.1.12. Tetracloreto de carbono.
- 4.2.1.13. Ácido acético glacial.
- 4.2.1.14. Solução aquosa de iodeto de potássio a 1% (m/v).
- 4.2.1.15. Solução aquosa de cloreto de platina a 0,1% (m/v).
- 4.2.1.16. Eluentes
  - 4.2.1.16.1. Acetato de etilo, clorofórmio, éter di-isopropílico, ácido acético glacial (20:20:10:10) (em volumes).
  - 4.2.1.16.2. Clorofórmio, ácido acético glacial (90:20) (em volumes).
- 4.2.1.17. Reveladores
  - 4.2.1.17.1. Misturar directamente antes da utilização volumes iguais da solução (4.2.1.14) e da solução (4.2.1.15).
  - 4.2.1.17.2. Solução de bromo a 5% (m/v):  
Dissolver 5 g de bromo em 100 ml de  $\text{CCl}_4$  (4.2.1.12.).
  - 4.2.1.17.3. Solução de fluoresceína 0,1% (m/v):  
Dissolver 100 mg de fluoresceína em 100 ml de etanol a 95%.
  - 4.2.1.17.4. Solução aquosa de heptamolibdato de hexa-amónio a 10% (m/v).
- 4.2.1.18. Soluções padrão
  - 4.2.1.18.1. Solução aquosa de ácido tioglicólico 0,4% (m/v).
  - 4.2.1.18.2. Solução aquosa de ácido ditioglicólico 0,4% (m/v).
  - 4.2.1.18.3. Solução aquosa de ácido tioláctico 0,4% (m/v).
  - 4.2.1.18.4. Solução aquosa de ácido 3-mercaptopropiónico a 0,4% (m/v).
  - 4.2.1.18.5. Solução aquosa de 1-tioglicerol a 0,4% (m/v).

4.2.2. *Aparelhagem*

Material corrente de laboratório para cromatografia em camada delgada.

4.2.3. *Técnica*4.2.3.1. *Tratamento das amostras*

Acidificar com algumas gotas de ácido clorídrico (4.2.1.8.) até pH = 1 e filtrar, se fôr necessário. Em certos casos, pode ser necessário diluir a amostra. Neste caso, acidificá-la pelo ácido clorídrico antes de efectuar a diluição.

4.2.3.2. *Desenvolvimento*

Aplicar na placa 1 µl da solução da amostra (4.2.3.1.) e 1 µl de cada uma das 5 soluções padrão (4.2.1.18.). Secar cuidadosamente sob corrente fraca de azoto e desenvolver com os eluentes (4.2.1.16.1.) ou (4.2.1.16.2.). Secar o mais rapidamente possível sob azoto de modo a evitar a oxidação dos tióis.

4.2.3.3. *Revelação*

Pulverizar a placa com o reagente (4.2.1.17.1.) ou (4.2.1.17.3.) ou (4.2.1.17.4.). Quando a placa foi pulverizada com o reagente (4.2.1.17.3.), colocá-la numa tina saturada de bromo (4.2.1.17.2.) até que as manchas fiquem visíveis. Quando a placa foi pulverizada com o reagente (4.2.1.17.4.), a revelação apenas será apropriada se o tempo de secagem da camada não ultrapassou meia hora.

4.2.3.4. *Leitura*

Comparar os valores dos Rf e a cor das soluções padrão, com os da solução da amostra. Os Rf médios em camada de sílica são dados abaixo, a título indicativo, e apenas têm valor comparativo. Com efeito, dependem:

- do estado de activação da placa no momento da cromatografia,
- da temperatura da tina de cromatografia.

**Quadro dos Rf obtidos em camada de sílica**

	Eluentes	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Ácido tioglicólico	0,25	0,80
Ácido tioláctico	0,40	0,95
Ácido ditiodiglicólico	0,00	0,35
Ácido 3-mercaptopropiónico	0,45	0,95
1-tioglicerol	0,45	0,35

## 5. DOSEAMENTO (\*)

Começa sempre por uma iodometria.

5.1. *Iodometria*5.1.1. *Princípio*

O doseamento efectua-se por oxidação do grupo SH por I<sub>2</sub> em meio ácido, segundo a equação:

5.1.2. *Reagentes*

Solução aferida de iodo 0,1N.

(\*) Nota: O doseamento do ácido tioglicólico deve fazer-se sobre os produtos ainda não utilizados e destapados recentemente, de modo a evitar qualquer oxidação.

5.1.3. *Aparelhagem*

Material corrente de laboratório.

5.1.4. *Técnica*

Num matrás com rolha, de 150 ml, contendo 50 ml de água destilada, pesar com exactidão de 0,500 a 1 g de amostra. Juntar 5 ml de HCl 1:1 (4.1.1.2.) (pH da solução próximo de 0) e titular pelo iodo 0,1N (5.1.2.) até ao aparecimento duma coloração amarela. Pode-se utilizar um indicador (amido, clorofórmio, etc.).

5.1.5. *Cálculo*

O teor em ácido tioglicólico é calculado segundo a fórmula :

$$\% \text{ (m/m)} = \frac{92 \times n \times 100}{1000 \times 10 \times m} = \frac{0,92 n}{m}$$

em que :

m = a massa em g da tomada de ensaio ;

n = o volume de iodo 0,1N gasto.

5.1.6. *Nota*

Se o resultado, calculado em ácido tioglicólico, for inferior em 0,1% às concentrações máximas autorizadas, não é conveniente efectuar outros doseamentos. Se o resultado for igual ou superior às concentrações máximas autorizadas, e se a identificação mostrou a presença de vários redutores, é então necessário efectuar o doseamento por cromatografia em fase gasosa.

5.2. *Cromatografia em fase gasosa*5.2.1. *Princípio*

O ácido tioglicólico é separado do excipiente por precipitação sob forma de di(acetato) de cádmio. Após metilação pelo diazometano preparado quer extemporaneamente, quer previamente em solução etérea, o derivado metilado do ácido tioglicólico é doseado por cromatografia gás/líquido com o caprilato de metilo como padrão interno.

5.2.2. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

5.2.2.1. Ácido tioglicólico puro (de título conhecido).

5.2.2.2. Ácido clorídrico concentrado  $d_4^{20} = 1,19$ .

5.2.2.3. Metanol.

5.2.2.4. Solução aquosa de di(acetato) de cádmio  $2H_2O$  a 10% (m/v).

5.2.2.5. Solução de caprilato de metilo a 2% (m/v) em metanol.

5.2.2.6. Solução tampão acética de pH<sub>5</sub> :

acetato de sódio,  $3H_2O$  : 77 g,

ácido acético glacial : 27,5 ml,

água desmineralizada q.b. : 1 l.

5.2.2.7. Solução recentemente preparada de ácido clorídrico 3N em metanol.

5.2.2.8. N-metil-N-nitroso-N'-nitroguanidina.

5.2.2.9. Solução de hidróxido de sódio 5N.

5.2.2.10. Solução aferida de iodo 0,1N.

- 5.2.2.11. Óxido de dietilo
- 5.2.2.12. Solução de diazometano preparada a partir da N-metil-N-nitroso *p*-toluenosulfonamida segundo Fieser (Reagents for Organic Synthesis, Ed. Wiley, 1967)
- A solução obtida contém cerca de 1,5 g de diazometano em 100 ml de óxido de dietilo (5.2.2.11.).
- Sendo o diazometano um gás tóxico e muito instável, é necessário efectuar todos os ensaios, em «hotte» e também evitar a utilização de aparelhos que tenham os adaptadores esmerilados.
- 5.2.3. *Aparelhagem*
- 5.2.3.1. Material corrente de laboratório.
- 5.2.3.2. Aparelho para preparação *in situ* de diazometano (An. Chem. 1973, 45, 2302).
- 5.2.3.3. Aparelho para a preparação prévia do diazometano segundo Fieser.
- 5.2.4. *Preparação da amostra*
- Num tubo de centrífuga de 50 ml, pesar com exactidão uma massa de amostra tal, que a quantidade suposta de ácido tioglicólico seja da ordem de 50 a 70 mg. Acidificar com algumas gotas de HCL concentrado (5.2.2.2.) até à obtenção dum pH próximo de 3.
- Juntar: 5 ml de água desmineralizada, 10 ml de solução tampão acética (5.2.2.6.).
- Verificar por meio dum papel indicador que o pH está próximo de 5.
- Depois: 5 ml de solução de di(acetato) de cádmio (5.2.2.4.).
- Esperar 10 minutos e centrifugar pelo menos durante 15 minutos a 4000 g. Separar o produto sobrenadante. Pode acontecer que este contenha uma gordura insolúvel (caso dum creme), e esta última não pode ser confundida com o mercapteto de cádmio acumulado de modo compacto no fundo do tubo.
- Verificar a ausência de precipitação aquando da adição ao líquido sobrenadante de algumas gotas de solução de di(acetato) de cádmio (5.2.2.4.).
- No caso em que as identificações precedentes teriam demonstrado a ausência de agentes redutores além dos tióis, verificar por iodometria que a presença de tióis no produto sobrenadante não exceda 6 a 8% da quantidade inicial.
- No tubo de centrífuga que contém o precipitado, introduzir 10 ml de metanol (5.2.2.3.), espalhar finamente o precipitado com a ajuda duma vareta, centrifugar de novo durante pelo menos 15 minutos a 4000 × g.
- Decantar o produto sobrenadante e verificar por iodometria a ausência de tióis.
- Uma segunda lavagem é efectuada nas mesmas condições.
- Sempre no tubo de centrífuga, juntar:
- 2 ml de solução de caprilato de metilo (5.2.2.5.),
  - 5 ml de solução de ácido clorídrico em metanol (5.2.2.7.).
- Dissolver completamente o mercapteto (pode acontecer que permaneça um ligeiro resíduo insolúvel devido ao excipiente).
- Obtém-se a solução S.
- Sobre uma parte alíquota da solução S, verificar iodometricamente o teor em tióis que deve ser pelo menos igual a 90% do que foi obtido em 5.1.
- 5.2.5. *Metilação*
- A metilação é efectuada ou *in situ* segundo o processo descrito em 5.2.5.1., ou com a ajuda duma solução de diazometano previamente preparada segundo 5.2.5.2.
- 5.2.5.1. *Metilação extemporânea*
- No aparelho (5.2.3.2.) que contém 1 ml de óxido de dietilo (5.2.2.11.), introduzir 50 µl da solução S. Metilar segundo o método referenciado em 5.2.3.2. com 300 mg de N-metil-N-nitroso-N'-nitroguanidina (5.2.2.8.).

Passados 15 minutos, verificar se a solução contém um excesso de diazometano (solução amarela), e transferir para um balão de 2 ml fechado hermeticamente. Colocá-lo num frigorífico, durante uma noite.

Fazer simultaneamente duas metilações.

5.2.5.2. Metilação com a solução previamente preparada de diazometano (5.2.2.12.).

Num frasco com rolha de 5 ml, introduzir 1 ml de diazometano (5.2.2.12.), e, seguidamente 50 µl da solução S. Deixar num frigorífico durante uma noite.

5.2.6. *Preparação do padrão*

Preparar uma solução padrão de ácido tioglicólico de título conhecido, contendo cerca de 60 mg de ácido tioglicólico num volume de 2 ml. Obtém-se a solução E.

Efectuar a precipitação, os doseamentos e a metilação como indicado em 5.2.4. e 5.2.5.

5.2.7. *Condições da cromatografia em fase gasosa*

5.2.7.1. Coluna

Tipo : ácido inoxidável.

Comprimento : 2 metros.

Diâmetro : 3 mm.

5.2.7.2. Enchimento

Ftalato de dodecilo 20%/Chrôm. WAW 80-100 mesh.

5.2.7.3. Detector

Ionização de chama

É conveniente que o electrómetro seja calibrado para uma sensibilidade de  $8 \cdot 10^{-10}$ A.

5.2.7.4. Gás :

Gás de arrastamento : azoto

Pressão : 2,2 bar

Débito : 35 ml/minuto.

Gás auxiliar : hidrogénio.

Pressão : 1,8 bar

Débito : 15 ml/minuto

Detector : gás recomendado pelo fabricante

5.2.7.5. Temperaturas :

Injector : 200 °C,

Detector : 200 °C,

Coluna : 90 °C.

5.2.7.6. Registador

Velocidade: 5 mm/minuto.

5.2.7.7. Quantidade injectada : 3 µl.

Fazer 5 ensaios com cada amostra metilada.

5.2.7.8. As condições da cromatografia são dadas a título indicativo. Elas permitem obter uma resolução  $R \geq 1,5$ , entendendo-se que :

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

$r_1$  e  $r_2$  = tempo de retenção em minutos,

$W_1$  e  $W_2$  = largura dos picos a meia-altura em mm,

$d'$  = velocidade de desenvolvimento em mm/minuto.

É aconselhável terminar a cromatografia com uma programação de temperatura de 90 a 150°C, a 10°C/minuto, a fim de eliminar as substâncias que levariam ao risco de interferir aquando das medidas seguintes.

### 5.2.8. Cálculos

#### 5.2.8.1. Coeficiente de proporcionalidade do ácido tioglicólico

É calculado em relação ao octanoato de metilo a partir da mistura padrão.

Seja:

$t$  = o ácido tioglicólico,

$k_t$  = o seu coeficiente de proporcionalidade,

$m'_t$  = a sua massa (em mg) na mistura,

$S'_t$  = a área do seu pico,

$c$  = o caprilato de metilo,

$m'_c$  = a sua massa (em mg) na mistura,

$S'_c$  = a área do seu pico.

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

Este coeficiente é função da aparelhagem.

#### 5.2.8.2. Concentração do ácido tioglicólico na amostra

Seja:

$t$  = ácido tioglicólico,

$k_t$  = o seu coeficiente de proporcionalidade,

$S_t$  = a superfície do seu pico,

$c$  = o caprilato de metilo,

$m'_c$  = a sua massa (em mg) na mistura,

$S_c$  = a superfície do seu pico,

$M$  = a massa (em mg) da tomada de ensaio inicial.

A percentagem (m/m) de ácido tioglicólico na amostra é igual a:

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

## 6. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>

Para um teor em ácido tioglicólico de 8% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra, não deve ultrapassar 0,8%.

## IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DO HEXACLOROFENO

### A. IDENTIFICAÇÃO

#### 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

O método é aplicável a todos os produtos cosméticos.

#### 2. PRINCÍPIO

O hexaclorofeno contido na amostra é extraído pelo acetato de etilo e identificado por cromatografia em camada delgada.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

### 3. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

3.1. Solução de ácido sulfúrico 8 N.

3.2. Celite AW.

3.3. Acetato de etilo.

3.4. Eluente :

Benzeno contendo 1% v/v de ácido acético glacial.

3.5. Revelador n. 1:

Solução de rodamina B: dissolver 100 mg de rodamina B numa mistura de 150 ml de óxido de dietilo, 70 ml de etanol absoluto e 16 ml de água.

3.6. Revelador n. 2:

Solução de 2,6-dibromo-4-(cloroímino)ciclohexa-2,5-dienona: dissolver 400 mg de 2,6-dibromo-4-(cloroímino)ciclohexa-2,5-dienona em 100 ml de metanol (a preparar diariamente).

Solução de carbonato de sódio: dissolver 10 g de carbonato de sódio em 100 ml de água desmineralizada.

3.7. Solução padrão:

Solução de 0,05% m/v de hexaclorofeno em acetato de etilo (3.3.).

### 4. APARELHAGEM

4.1. Placas CCM de sílica F 254 20 × 20 cm.

4.2. Material corrente de laboratório para cromatografia em camada delgada.

4.3. Banho termostatado para 26°C.

### 5. PREPARAÇÃO DA AMOSTRA

5.1. Misturar cuidadosamente 1 g de amostra homogeneizada com 1 g de celite AW (3.2.) e 1 ml de solução de ácido sulfúrico (3.1.).

5.2. Secar a 100°C durante 2 horas.

5.3. Arrefecer e reduzir o resíduo seco a pó fino.

5.4. Extrair duas vezes com 10 ml de acetato de etilo (3.3.) de cada vez. Centrifugar após cada extracção e juntar as fases de acetato de etilo.

5.5. Evaporar a 60°C.

5.6. Dissolver a resíduo em 2 ml de acetato de etilo (3.3.).

### 6. TÉCNICA

6.1. Aplicar 2 µl de solução da amostra (5.6.) e 2 µl de solução padrão (3.7.) sobre uma placa CCM (4.1.).

6.2. Saturar o recipiente termostatado a 26°C com o eluente (3.4.).

6.3. Colocar a placa CCM no recipiente e desenvolver até 15 cm.

6.4. Retirar a placa e secar na estufa a 105°C.

6.5. *Revelação*

Revelam-se as manchas de hexaclorofeno como indicado em 6.5.1. ou 6.5.2.

- 6.5.1. Pulverizar o revelador n. 1 (3.5.) de modo uniforme sobre a placa. Passados 30 minutos, examinar a placa com luz UV de 254 nm.
- 6.5.2. Pulverizar o revelador n. 2 (3.6.) utilizando sucessivamente a solução de 2,6-dibromo-4-(cloró-mino)ciclohexa-2,5-dienona, e em seguida a solução de carbonato de sódio. Examinar a placa à luz do dia após 10 minutos de secagem à temperatura ambiente.

## 7. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

### 7.1. Revelador n. 1 (3.5.):

O hexaclorofeno é revelado sob forma de manchas azuladas sobre fundo amarelo avaranjado fluorescentes e apresenta um Rf de 0,5, aproximadamente.

### 7.2. Revelador n. 2 (3.6.):

O hexaclorofeno é revelado sob forma de manchas de azul-celeste a azul-turquesa sobre fundo branco e apresenta um Rf de 0,5, aproximadamente.

## B. DOSEAMENTO

### 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

O método é válido para todos os produtos cosméticos.

### 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em hexaclorofeno determinado por este método é expresso em percentagem de massa de hexaclorofeno.

### 3. PRINCÍPIO

Após transformação em derivado metilado, o hexaclorofeno é doseado por cromatografia em fase gasosa com detector de captura electrónica. O método implica a utilização dum padrão interno.

### 4. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

- 4.1. Acetato de etilo.
- 4.2. N-metil-N-nitroso-p-toluenosulfonamida (diazalde).
- 4.3. Óxido de dietilo.
- 4.4. Metanol.
- 4.5. 2-(2-etoxietoxi)etanol (carbitol).
- 4.6. Ácido fórmico.
- 4.7. Hidróxido de potássio-solução aquosa 50% m/m, preparação *in situ*.
- 4.8. Hexano para espectroscopia.
- 4.9. Bromoclorofeno (padrão n. 1).

- 4.10. 4,4',6,6'-tetracloro-2,2-tiodifenol (padrão n. 2).
- 4.11. Éter 2,4,4'-tricloro-2-hidroxi-difenilo (padrão n. 3).
- 4.12. Acetona.
- 4.13. Ácido sulfúrico 8N.
- 4.14. Celite AW.
- 4.15. Solução de ácido fórmico no acetato de etilo 10% v/v.
- 4.16. Hexaclorofeno.

## 5. APARELHAGEM

- 5.1. Aparelhagem habitual de laboratório.
- 5.2. Mini-aparelhagem para a preparação de diazometano (Ref. Anal. Chem. 1973, 45, 2302-3).
- 5.3. Cromatógrafo de fase gasosa, equipado com um detector de captura electrónica, origem: 63 nickel.

## 6. TÉCNICA

### 6.1. *Preparação das soluções padrão*

O padrão é escolhido de tal modo que não interfira com qualquer substância contida no excipiente do produto a analisar. Geralmente o padrão n. 1 é o mais conveniente (4.9.).

- 6.1.1. Pesar cuidadosamente cerca de 50 mg de padrão n. 1 (4.9.), 2 (4.10.) ou 3 (4.11.) e 50 mg de hexaclorofeno (4.16.) num balão aferido de 100 ml. Completar o volume com acetato de etilo (4.1.) (solução A). Diluir 10 ml da solução A a 100 ml com acetato de etilo (4.1.) (solução B).
- 6.1.2. Pesar cuidadosamente cerca de 50 mg de padrão 1 (4.9.), 2 (4.10.) ou 3 (4.11.) num balão aferido de 100 ml. Completar o volume com acetato de etilo (4.1.) (solução C).

### 6.2. *Preparação da amostra* <sup>(1)</sup>

Pesar com exactidão 1 g de amostra homogeneizada e misturar cuidadosamente com 1 ml de ácido sulfúrico (4.13.), 15 ml de acetona (4.12.) e 8 g de celite AW (4.14.). Secar ao ar a mistura durante 30 minutos sobre um banho de vapor, e secar durante 1 h 30 m numa mufla ventilada. Arrefecer, reduzir o resíduo a pó fino e transferir para uma coluna de vidro. Eluir com acetato de etilo e recolher 100 ml. Juntar 2 ml de solução do padrão interno (solução C) (6.1.2.).

(<sup>1</sup>) Devido ao facto de existir uma grande variedade de produtos nos quais o hexaclorofeno pode estar presente, é importante verificar em primeiro lugar a recuperação do hexaclorofeno da amostra por este processo, antes de registar os resultados. Se as recuperações forem fracas, poder-se-ão fazer modificações de acordo com as partes interessadas, tais como alterar o eluente (benzeno em lugar do acetato de etilo, etc.).

**6.3. Metilação da amostra**

Arrefecer todos os reagentes e a aparelhagem entre 0°C e 4°C durante 2 horas. Colocar 1,2 ml da solução obtida em 6.2. e 0,1 ml de metanol (4.4.) no compartimento exterior do aparelho de produção do diazometano.

Colocar cerca de 200 mg de diazald (4.2.) no reservatório central, juntar 1 ml de carbitol (4.5.) e 1 ml de óxido de dietilo (4.3.) e dissolver. Juntar os aparelhos, mergulhar até metade o aparelho num banho a 0°C e introduzir no reservatório central, com a ajuda dum a seringa, cerca de 1 ml de solução arrefecida de hidróxido de potássio (4.7.).

Produz-se uma coloração amarela que deve ser persistente. Se a coloração amarela desaparecer, repetir a metilação com mais 200 mg de diazald (4.2.)<sup>(1)</sup>.

O aparelho é retirado do banho passados 15 minutos, depois deixa-se fechado à temperatura ambiente durante 12 h. Abrir o aparelho, retirar o excesso de diazometano, acrescentando algumas gotas de solução de ácido fórmico em acetato de etilo (4.15.) e transferir a solução orgânica para um balão aferido de 25 ml. Completar o volume com hexano (4.8.).

Injectar 1,5 µl desta solução no cromatógrafo.

**6.4. Metilação da solução padrão**

Arrefecer todos os reagentes e a aparelhagem até uma temperatura compreendida entre 0°C e 4°C durante 2 horas. Introduzir no compartimento exterior do aparelho de produção do diazometano:

0,2 ml de solução B (6.1.1.),

1 ml de acetato de etilo (4.1.),

0,1 ml de metanol (4.4.).

Continuar a metilação como descrito em 6.3. Injectar 1,5 µl da solução obtida no cromatógrafo.

**7. CONDIÇÕES DA CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA**

A fase estacionária deve dar um grau de resolução R pelo menos igual a 1,5.

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

em que:

$r_1$  e  $r_2$  = tempo de retenção em minutos,

$W_1$  e  $W_2$  = largura dos picos a meia-altura,

$d'$  = velocidade de desenvolvimento do papel em mm/minuto.

A técnica seguinte permite obter este resultado.

Coluna: ácido inoxidável.

Diâmetro: 3 mm.

Comprimento: 170 cm.

Enchimento: 10% OV 17 sobre cromossorbe WAW 80 a 100 mesh.

Temperaturas: coluna, detector, injector: 280 °C.

Gás de arrastamento: azoto U: isento de oxigénio:

Pressão: 2,3 bar,

Débito: 30 ml/minuto.

<sup>(1)</sup> A persistência desta coloração amarela indica um excesso de diazometano que é necessário para assegurar uma metilação completa da amostra.

## 8. CÁLCULOS

8.1. *Coefficiente de proporcionalidade do hexaclorofeno*

É calculado segundo o padrão escolhido em relação com a mistura padrão, ou seja:

$h$  = o hexaclorofeno,

$K_h$  = o seu coeficiente de proporcionalidade,

$m'_h$  = a sua massa na mistura padrão em g,

$A'_h$  = a área do seu pico,

$s$  = o padrão escolhido,

$m'_s$  = a sua massa na mistura em g,

$A'_s$  = a área do seu pico,

donde:

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

8.2. *Quantidade de hexaclorofeno na amostra*

Seja:

$h$  = o hexaclorofeno,

$k_h$  = o seu coeficiente de proporcionalidade,

$A_h$  = a área do seu pico,

$s$  = o padrão escolhido,

$m_s$  = a sua massa na mistura em g,

$A_s$  = a área do seu pico,

$M$  = a massa da amostra tomada em g,

então, a massa em % de hexaclorofeno na amostra é igual a:

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

9. REPETIBILIDADE<sup>(1)</sup>

Para um teor em hexaclorofeno de 0,1% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,005%.

**DOSEAMENTO DA TOSILCLORAMIDA SÓDICA (CLORAMINA T)**

## 1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

O método descreve o doseamento da tosilcloramida sódica total (cloramina T) nos produtos cosméticos, por cromatografia em camada delgada.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

## 2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em cloramina T, estabelecido por este método, é expresso em percentagem (m/m).

## 3. PRINCÍPIO

Em meio clorídrico a quente, a cloramina T hidrolisa-se totalmente em 4-toluenossulfonamida. A quantidade de 4-tolueno sulfonamida formada é doseada por fotodensitometria após cromatografia em camada delgada.

## 4. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

- 4.1. Tosilcloramida sódica (cloramina T).
- 4.2. Solução padrão em 4-tolueno sulfonamida: 50 mg de 4-tolueno sulfonamida são dissolvidos em 100 ml de etanol (4.5.).
- 4.3. Ácido clorídrico a 37% (m/m)  $d_4^{20} = 1,18$ .
- 4.4. Éter dietílico.
- 4.5. Etanol a 96% (v/v).
- 4.6. *Eluente*
  - 4.6.1. 1-Butanol/etanol a 96% (4.5.)/água (40:4:9 v/v/v) ou
  - 4.6.2. Clorofórmio/acetona: 6:4 v/v.
- 4.7. Placas de silicagel 60 sem indicador fluorescente.
- 4.8. Permanganato de potássio.
- 4.9. Ácido clorídrico a 15% (m/m).
- 4.10. Reagente de pulverização: solução a 1% (m/v) de o-toluidina em etanol (4.5.).

## 5. MATERIAL

- 5.1. Material corrente de laboratório.
- 5.2. Material corrente para cromatografia em camada delgada.
- 5.3. Fotodensitómetro.

## 6. TÉCNICA

### 6.1. *Hidrólise*

Pesar com exactidão num balão de 50 ml, cerca de 1 g (m) de amostra, juntar 5 ml de água, 5 ml de ácido clorídrico (4.3.) e ferver durante uma hora sob refluxo. Transferir imediatamente

a suspensão ainda quente, com água, para um balão aferido de 50 ml. Arrefecer e completar o volume com água. Centrifugar pelo menos 5 minutos a 3000 rotações/minuto e filtrar o produto sobrenadante.

6.2. **Extracção**

6.2.1. Retirar 30 ml do filtrado e extrair três vezes com 15 ml de éter dietílico (4.4.). Secar, se necessário, as fases etéreas e recolhê-las num balão aferido de 50 ml. Completar o volume com éter dietílico (4.4.).

6.2.2. Retirar 25 ml do extracto etéreo, evaporar até à secura sob corrente de azoto. Retomar o extracto por 1 ml de etanol (4.5.).

6.3. **Cromatografia em camada delgada**

6.3.1. Aplicar sobre uma placa de silicagel 60 (4.7.), 20 µl do resíduo dissolvido no etanol (6.2.).

Aplicar do mesmo modo 8, 12, 16 e 20 µl da solução padrão de 4-tuloenossulfonamida (4.2.).

6.3.2. Desenvolver seguidamente até uma altura aproximada de 15 cm, com eluente (4.6.1. ou 4.6.2.).

6.3.3. Após evaporação completa do eluente, colocar a placa durante 2 a 3 minutos numa atmosfera de vapores de cloro, obtida do seguinte modo: juntam-se cerca de 100 ml de ácido clorídrico (4.9.) a cerca de 2 g de permanganato de potássio (4.8.) num recipiente fechado. Expulsar o excesso de cloro, aquecendo a placa a 100°C durante 5 minutos. Pulverizar o reagente sobre a placa (4.10).

6.4. **Determinação**

Após cerca de 1 hora, medir a intensidade da coloração das manchas violetas por fotodensitometria a 525 nm (5.3.).

6.5. **Estabelecimento da curva de calibração**

A partir da altura dos picos obtidos, traçar a recta de aferição em função das quantidades (4, 6, 8, 10 µg) de 4-tolueno-sulfonamida.

7. **NOTA**

O método pode ser controlado a partir de soluções a 0,1 ou 0,2% de cloramina T (4.1.) tratadas nas mesmas condições que a amostra (6).

8. **CÁLCULO**

O teor da amostra expresso em percentagem m/m é calculado pela fórmula seguinte :

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

onde :

1,33 = factor de conversão de 4-tuloenossulfonamida em cloramina T,

a(µg) = quantidade de 4-tuloenossulfonamida expressa em µg contida na amostra a lida na recta de calibração,

m (g) = massa da tomada de ensaio expressa em gramas.

9. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>

Para um teor em cloramina T da ordem de 0,2% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,03%.

### DOSEAMENTO DOS COMPOSTOS DE FLÚOR NAS PASTAS DENTÍFRICAS

1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método descreve a dosagem do flúor total nas pastas dentífricas. É conveniente para teores que não excedam 0,25%.

2. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em flúor determinado segundo este método é expresso em percentagem (m/m).

3. PRINCÍPIO

O flúor do composto é transformado em trietilfluorsilano (TEFS) por reacção directa com trietilclorossilano (TECS) em meio ácido, e, simultaneamente, extraído com a ajuda de xileno contendo cicloexano como padrão interno. A solução obtida é analisada por cromatografia em fase gasosa.

4. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1. Fluoreto de sódio sêco a 120°C até massa constante.

4.2. Água bidestilada ou de qualidade equivalente.

4.3. Ácido clorídrico concentrado  $d_4^{20} = 1,19$ .

4.4. Cicloexano (CH).

4.5. Xileno não fazendo aparecer picos sobre o cromatograma antes do pico do eluente quando este é cromatografado nas mesmas condições que as amostras (6.1.). Em caso de necessidade, purificar por destilação (5.8.).

4.6. Trietilclorossilano (TECS Merck ou equivalente).

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

- 4.7. **Soluções padrão de fluoreto**
- 4.7.1. Solução padrão de 0,250 mg de fluoreto/ml. Pesar exactamente 138,1 mg de fluoreto de sódio (4.1.) e dissolvê-los em água (4.2.). Transferir quantitativamente a solução para um balão aferido de 250 ml (5.5.). Completar o volume com água (4.2.) e misturar.
- 4.7.2. Solução padrão diluída, 0,050 mg de fluoreto/ml. Transferir, com a ajuda duma pipeta, 20 ml da solução (4.7.1.) para um balão aferido de 100 ml (5.5.). Completar o volume com água (4.2.) e misturar.
- 4.8. **Solução do padrão interno**
- Misturar 1 ml de cicloexano (4.4.) e 5 ml de xileno (4.5.).
- 4.9. **Solução do padrão interno de trietilclorossilano**
- Transferir com a ajuda duma pipeta (5.7.) 0,6 ml de TECS (4.6.) e 0,12 ml da solução padrão interno (4.8.) para um balão aferido de 10 ml. Completar o volume com xileno (4.5.) e misturar. Solução a preparar diariamente.
- 4.10. Ácido perclórico 70% (m/v).
- 4.11. Ácido perclórico 20% (m/v) em água (4.2.).
5. **APARELHAGEM**
- 5.1. Material corrente de laboratório.
- 5.2. Cromatógrafo de fase gasosa munido dum detector de ionização de chama.
- 5.3. Homogeneizador Vortex ou equivalente.
- 5.4. Agitador Bühler, tipo SMB<sub>1</sub> ou equivalente.
- 5.5. Balões aferidos de 100 a 250 ml, em polipropileno.
- 5.6. Tubos de centrífuga de 20 ml em vidro com tampas de rosca recobertas de teflon Sovirel tipo 611-56 ou equivalente. Limpar os tubos e as tampas da maneira seguinte: lexiviar durante várias horas em ácido perclórico (4.11.), lavar cinco vezes com água (4.2.) e secar a 100°C.
- 5.7. Pipetas reguláveis susceptíveis de fornecer volumes de 50 a 200 µl com extremidade plástica de utilização única.
- 5.8. Aparelho de destilação munido dum apoio Schneider com 3 esferas ou duma coluna de Vigreux equivalente.
6. **TÉCNICA**
- 6.1. **Análise da amostra**
- 6.1.1. Escolher um tubo de pasta dentífrica que ainda não foi aberto. Abrir o tubo. Transferir todo o conteúdo para um recipiente de plástico, misturar cuidadosamente e conservar em condições que impeçam a deterioração.

- 6.1.2. Pesar exactamente cerca de 150 mg (m) de amostra num tubo de centrífuga (5.6.), juntar 5 ml de água (4.2.) e homogeneizar (5.3.).
- 6.1.3. Escolher 1 ml de xileno (4.5.).
- 6.1.4. Juntar gota a gota 5 ml de ácido clorídrico (4.3.) e homogeneizar (5.3.).
- 6.1.5. Juntar, com a ajuda duma pipeta, 0,5 ml de solução do padrão interno de trietilclorossilano (4.9.) no tubo de centrífuga (5.6.).
- 6.1.6. Fechar o tubo de centrífuga por meio da tampa de rosca e misturar cuidadosamente durante 45 minutos com a ajuda do agitador (5.4.) regulado a 150 vibrações/minuto.
- 6.1.7. Centrifugar durante 10 minutos a uma velocidade tal, que se obtenha uma separação nítida das fases. Desrolhar o tubo, recolher a fase orgânica e injectar 3 µl na coluna do cromatógrafo de fase gasosa (5.2.).

*Nota:*

São precisos cerca de 20 minutos para que todos os componentes sejam eluídos.

- 6.1.8. Repetir a injeção, calcular a relação média da área dos picos  $A_{TEFS}/A_{CH}$  e ler sobre a curva de calibração (6.3.) quantidade de fluoreto correspondente em mg ( $m_1$ ).
- 6.1.9. Calcular o teor em fluoreto total da amostra em percentagem (m/m) de fluoreto como indicado em 7.

6.2. **Condições cromatográficas**

6.2.1. Coluna

Material: ácido inoxidável.

Comprimento: 180 cm.

Diâmetro: 3 mm.

Enchimento: Gascrom Q 80-100 mesh.

Fase estacionária: óleo de silicone DC-200 (ou equivalente): 20%.

Estabilizar a coluna durante uma noite a 100°C, sendo o débito do gaz de arrastamento de 25 ml/minuto de azoto. Esta operação é repetida todas as noites.

Para todas as 4 ou 5 injeções, reestabilizar a coluna por aquecimento durante cerca de meia-hora a 100°C.

Temperaturas:

coluna: 70 °C,

injector: 150 °C,

detector: 250 °C.

Gaz de arrastamento: azoto 35 ml/minuto.

6.3. **Curva de calibração**

- 6.3.1. Introduzir por meio duma pipeta, numa série de seis tubos de centrífuga, (5.6.) 0, 1, 2, 3, 4 e 5 ml da solução padrão, de fluoreto, diluída (4.7.2.). Completar o volume de cada tubo até 5 ml com água (4.2.).
- 6.3.2. Proceder como no ponto 6.1.3. até 6.1.6., inclusivé.
- 6.3.3. Injectar 3 µl da fase orgânica na coluna do cromatógrafo em fase gasosa (5.2.).
- 6.3.4. Repetir a injeção e calcular a relação média das áreas dos picos  $A_{TEFS}/A_{CH}$ .
- 6.3.5. Estabelecer uma curva de calibração relacionando a massa de fluoreto (mg) nas soluções padrão (6.3.1.) e as áreas dos picos  $A_{TEFS}/A_{CH}$  medidas em 6.3.4. Traçar a curva de calibração.

## 7. CÁLCULO

A concentração de flúor total na amostra, em percentagem m/m é obtida pela fórmula seguinte :

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

em que :

m = massa de amostra em mg (6.1.2),

m<sub>1</sub> = quantidade de fluor lida na curva de calibração, em mg (6.1.8).

## 8. REPETIBILIDADE (1)

Para um teor em flúor da ordem de 0,15% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra, não deve ultrapassar 0,012%.

# IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DOS COMPOSTOS ORGANOMERCURIAIS

## OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO

Este método permite a identificação nos produtos cosméticos para os olhos dos derivados organomercúriaes utilizados como agentes conservantes.

Aplica-se ao tiomersal (DCI) [2-(etilmercurio)benzoato de sódio], bem como ao fenilmercúrio e seus sais.

## A. IDENTIFICAÇÃO

### 1. PRINCÍPIO

Os derivados organomercúriaes são complexados sob a forma de ditizonatos. Após extracção dos ditizonatos pelo tetracloreto de carbono, procede-se a uma cromatografia em camada delgada em gel de sílica. As manchas de ditizonatos aparecem em cor de laranja.

### 2. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

2.1. Ácido sulfúrico a 25 v/v.

2.2. Solução de 1,5-difenil-3-tiocarbazona (ditizona): 0,8 mg de ditizona em 100 ml de tetracloreto de carbono (2.4.).

2.3. Azoto.

(1) Segundo a norma ISO 5725.

- 2.4. Tetracloreto de carbono.
- 2.5. Eluente: hexanoacetona 90/10 v/v.
- 2.6. Soluções padrões a 0,001% em água de :
  - 2-(Etilmercuriotio)benzoato.
  - Cloreto de etilmercúrio ou cloreto de metilmercúrio.
  - Nitrato ou acetato de fenilmercúrio.
  - dicloreto de mercúrio ou di(acetato) de mercúrio.
- 2.7. Placas de sílica G prontas utilização (Merck 5721 ou equivalente).
- 2.8. Cloreto de sódio.

### 3. APARELHAGEM

- 3.1. Material corrente de laboratório.
- 3.2. Equipamento corrente para cromatografia em camada delgada.
- 3.3. Filtro separador de fases.

### 4. TÉCNICA

#### 4.1. *Extracção*

- 4.1.1. Num tubo de centrífugar, diluir por trituração 1 grama de amostra em 20 ml de água destilada. Dispersar ao máximo, aquecendo a 60°C em banho-maria. Juntar 4 g de cloreto de sódio (2.8.), agitar e deixar arrefecer.
- 4.1.2. Centrífugar pelo menos durante 20 minutos a 4500 rotações/minuto, de modo a separar a maior parte da fase sólida. Filtrat para uma ampola de decantação e juntar 0,25 ml da solução de ácido sulfúrico (2.1.).
- 4.1.3. Extrair várias vezes 2 ou 3 ml de solução de ditizona (2.2.), até que a última fase orgânica fique verde.
- 4.1.4. Filtrar por filtro separador de fase (3.3.) cada fase orgânica.
- 4.1.5. Evaporar até à secura sob corrente de azoto (2.3.).
- 4.1.6. Dissolver em 0,5 ml de tetracloreto de carbono (2.4.). Aplicar imediatamente esta solução como indicado em 4.2.1.

#### 4.2. *Separação e identificação*

- 4.2.1. Aplicar imediatamente sobre a placa de sílica G (2.7.) 50 µl da solução em tetracloreto de carbono, obtida em 4.1.6. Tratar simultaneamente como indicado em 4.1., 10 ml de solução padrão (2.6.) e aplicar sobre a mesma placa 50 µl das soluções obtidas (4.1.6.).

- 4.2.2. Desenvolver a placa com o eluente (2.5.) até uma altura de 15 cm. Os compostos organomercúriaes aparecem sob forma de manchas coradas, cuja coloração é estável, desde que se cubra a placa imediatamente após a evaporação do eluente.

A título indicativo os Rf obtidos são :

	Rf	Côr
Tiomersal	0,33	Laranja
Cloreto de etilmercúrio	0,29	Laranja
Cloreto de metilmercúrio	0,29	Laranja
Fenilmercúrio e seus sais	0,21	Laranja
Dicloreto de mercúrio	0,10	Laranja
Di(acetato) de mercúrio	0,10	Laranja
1,5-difenil-3-tiocarbazona	0,09	Rosa

## B. DOSEAMENTO

### 1. DEFINIÇÃO

O teor da amostra em composto organomercurial determinado por este método é expresso em percentagem de mercúrio, (m/m).

### 2. PRINCÍPIO

O método consiste num doseamento do mercúrio total. É, pois, necessário ter previamente verificado a ausência de mercúrio mineral e identificar o derivado organomercurial contido na amostra. Após mineralização a húmido, o mercúrio libertado é doseado por absorção atómica sem chama.

### 3. REAGENTES

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

- 3.1. Ácido nítrico concentrado  $d_4^{20} = 1,41$ .
- 3.2. Ácido sulfúrico concentrado  $d_4^{20} = 1,84$ .
- 3.3. Água bidestilada.
- 3.4. Permanganato de potássio: solução a 7% m/v.
- 3.5. Cloreto de hidroxilamónio: solução a 1,5% m/v.
- 3.6. Peroxodissulfato de dipotássio: solução a 5% m/v.
- 3.7. Dicloreto de estanho: solução a 10% m/v.
- 3.8. Ácido clorídrico concentrado  $d_4^{20} = 1,18$ .
- 3.9. Lã de vidro impregnada de dicloreto de paládio a 1% m/m.

#### 4. APARELHAGEM

- 4.1. Material corrente de laboratório.
- 4.2. Aparelho para o doseamento do mercúrio por absorção atómica sem chama (técnica do vapor frio) e respectivo material de vidro. Comprimento mínimo da célula de medida: 10 cm.

#### 5. TÉCNICA

Tomar todas as precauções para o doseamento de vestígios de mercúrio.

##### 5.1. *Mineralização*

- 5.1.1. Pesar com exactidão cerca de 150 mg (m) de amostra. Juntar 10 ml de ácido nítrico (3.1.) e deixar em contacto, durante 3 horas em banho-maria a 55°C num matrás fechado hermeticamente, agitando regularmente. Efectuar simultaneamente um ensaio em branco.
- 5.1.2. Depois de arrefecer, juntar 10 ml de ácido sulfúrico (3.2.) e voltar a aquecer durante 30 minutos em banho-maria a 55°C.
- 5.1.3. Colocar o balão num banho de gelo fundente e juntar cuidadosamente 20 ml de água (3.3.).
- 5.1.4. Juntar fracções de 2 ml duma solução de permanganato de potássio (3.4.), até coloração permanente. Colocar durante mais 15 minutos em banho-maria a 55°C.
- 5.1.5. Juntar 4 ml de peroxidissulfato de dipotássio (3.6.) e continuar o aquecimento em banho-maria a 55°C durante 30 minutos.
- 5.1.6. Arrefecer e transferir o conteúdo do balão para um balão aferido de 100 ml. Lavar com 5 ml de cloreto de hidroxilamónio (3.5.), e com 4 vezes 10 ml de água (3.3.). O meio deve ser incolôr. Completar o volume com água (3.3.):

##### 5.2. *Doseamento*

- 5.2.1. Introduzir 10 ml da solução de mineralização (5.1.6.) no recipiente em vidro que serviu para o doseamento do mercúrio pelo método do vapor frio (4.2.). Diluir com 100 ml de água (3.3.), juntar 5 ml de ácido sulfúrico (3.2.) e 5 ml de dicloreto de estanho (3.7.). Misturar após cada adição. Esperar 30 segundos. Os iões  $Hg^{++}$  são reduzidos a mercúrio metálico. Efectuar a determinação. Seja n o número observado.
- 5.2.2. Colocar lâ de vidro impregnada de dicloreto de paládio (3.9.) entre o recipiente de redução e a célula de medida do instrumento (4.2.). Repetir a operação 5.2.1. Se n não for igual a 0, a mineralização está incompleta e deve recomençar-se a análise.

#### 6. CÁLCULOS

O teor da amostra, expresso em mercúrio em percentagem m/m, é calculado pela fórmula:

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

em que:

n = quantidade de mercúrio em  $\mu\text{g}$  lida no aparelho

m = massa em mg da tomada de ensaio

**7. NOTAS**

- 7.1. Para melhorar a mineralização, pode ser necessário proceder previamente a uma diluição da tomada de ensaio.
- 7.2. No caso em que se poderia suspeitar de uma fixação do mercúrio por adsorção sobre o substrato, será necessário efectuar um doseamento por adição de um padrão.

**8. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>**

Para teores em mercúrio de 0,007%, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,00035.

**DOSEAMENTO DOS SULFURETOS ALCALINOS E ALCALINOTERROSOS****1. OBJECTIVO E CAMPO DE APLICAÇÃO**

O método descreve o doseamento dos sulfuretos nos produtos cosméticos. A presença de tióis ou de outras substâncias redutoras (incluindo os sulfitos) não tem influência.

**2. DEFINIÇÃO**

O teor da amostra em sulfureto determinado segundo este método é expresso em percentagem (m/m) de enxofre.

**3. PRINCÍPIO**

Após acidificação do meio, o sulfureto de hidrogénio formado é arrastado por uma corrente de azoto, e seguidamente fixado sob a forma de sulfureto de cádmio. Este, após filtração e lavagem, é doseado por iodometria.

**4. REAGENTES**

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

- 4.1. Ácido clorídrico concentrado  $d_4^{20} = 1,19$ .
- 4.2. Solução aferida de tiosulfato de sódio 0,1 N.
- 4.3. Solução de iodo 0,1 N.
- 4.4. Sulfureto de dissódio,
- 4.5. Di(acetato) de cádmio.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.

- 4.6. Amoníaco concentrado  $d_4^{20} = 0,90$ .
- 4.7. Solução amoniacal de di(acetato) de cádmio: dissolver 10 g de di(acetato) de cádmio (4.5.) em cerca de 50 ml de água, juntar amoníaco (4.6.) até à redissolução do precipitado (cerca de 20 ml) e completar com água até 100 ml.
- 4.8. Azoto.
- 4.9. Solução de amoníaco M.

## 5. APARELHAGEM

- 5.1. Material corrente de laboratório.
- 5.2. Balão de 100 ml com três tubuladuras esmeriladas normalizadas.
- 5.3. Dois matrases de 150 ml com rolha esmerilada munidos dum dispositivo que comporta um tubo mergulhador e uma tubuladura lateral para a libertação do gaz de arrastamento.
- 5.4. Funil de tubo comprido.

## 6. TÉCNICA

### 6.1. *Arrastamento dos sulfuretos*

- 6.1.1. Escolher uma embalagem que não tenha sido aberta. Pesar com exactidão no balão (5.2.) uma quantidade de produto correspondente, no máximo, a 30 mg de iões sulfureto. Introduzir 60 ml de água e duas gotas de líquido anti-espumante.
- 6.1.2. Em cada um dos dois matrases (5.3.), introduzir 50 ml da solução (4.7.).
- 6.1.3. Adaptar ao balão (5.2.) uma ampola de decantação, o tubo mergulhador e o tubo de libertação de sais (5.3.). Ligar com a ajuda dum tubo de PVC, o tubo de libertação aos dois matrases colocados em série (5.3.).

#### *Nota :*

Verificar a impermeabilidade da montagem do modo seguintes: nas condições do ensaio, substituir o produto a dosear por 10 ml duma solução de sulfureto preparada a partir de (4.4.) contendo X mg de sulfureto (determinado por iodometria). Seja Y o número de mg de sulfureto encontrado no fim do ensaio. O desvio entre estas 2 quantidades X e Y não deve ser superior a 3%.

- 6.1.4. Fazer passar o azoto (4.8.) a um débito de duas bolhas por segundo durante 15 minutos, para expulsar o ar contido no balão (5.2.).
- 6.1.5. Aquecer o balão a  $85^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ .
- 6.1.6. Suspender a corrente de azoto e juntar, gota a gota, 40 ml de ácido clorídrico (4.1.).
- 6.1.7. Restabelecer a corrente de azoto (4.8.) quando a quase totalidade do ácido se espalhou, deixando na ampola um mínimo de solução para evitar as fugas de sulfureto de hidrogéneo.
- 6.1.8. Suspender o aquecimento passados 30 minutos e deixar arrefecer o balão (5.2.), continuando a fazer passar a corrente de azoto (4.8.) durante pelo menos 1 h 30 m.

### 6.2. *Titulação*

- 6.2.1. Filtrar o sulfureto de cádmio por filtro colocado no funil de tubo comprido (5.4.).

- 6.2.2. Lavar os matrises (5.3.), em primeiro lugar com uma solução amoniacal M (4.9.) e deitá-la sobre o filtro; lavar seguidamente com água e utilizar esta água para lavar o precipitado retido sobre o filtro.
- 6.2.3. Terminar a lavagem do precipitado com 100 ml de água.
- 6.2.4. Colocar o filtro de papel no primeiro matrís que conteve o precipitado. Juntar 25 ml ( $n_1$ ) da solução de iodo 0,1 N (4.3.), cerca de 20 ml de ácido clorídrico (4.1.) e 50 ml de água.
- 6.2.5. Dosear o iodo em excesso com a solução graduada de tiosulfato de sódio 0,1 N (4.2.). Seja  $n_2$  o número de ml utilizado.

## 7. CÁLCULO

O teor da amostra expresso em enxofre (m/m) é calculado pela fórmula seguinte :

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

em que :

$n_1$  = número de ml da solução titulada de iodo utilizado (4.3),

$X_1$  = normalidade desta solução,

$n_2$  = número de ml de solução titulada de tiosulfato de sódio (4.2),

$X_2$  = normalidade desta solução,

$m$  = massa da tomada de ensaio (6.1.1) expressa em g.

## 8. REPETIBILIDADE <sup>(1)</sup>

Para um teor em sulfuretos da ordem de 2% (m/m) a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,2%.

<sup>(1)</sup> Segundo a norma ISO 5725.