II

(Actos cuja publicação não é uma condição da sua aplicabilidade)

COMISSÃO

QUINTA DIRECTIVA 93/73/CEE DA COMISSÃO

de 9 de Setembro de 1993

relativa aos métodos de análise necessários ao controlo da composição dos produtos cosméticos

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 (1), com a última redacção que lhe foi dada pela Directiva 93/35/CEE (2), e, nomeadamente, o nº 1 do seu artigo 8º,

Considerando que a Directiva 76/768/CEE prevê controlos oficiais dos produtos cosméticos destinados a verificar se são respeitadas as condições previstas nas normas comunitárias relativas à composição dos produtos cosméticos;

Considerando que é conveniente definir o mais rapidamente possível todos os métodos de análise necessários; que, com essa finalidade, foram cumpridas quatro etapas, mediante a adopção das Directivas 80/1335/CEE da Comissão (3), alterada pela Directiva 87/143/CEE (4), 82/434/CEE (5), alterada pela Directiva 90/207/CEE (6), 83/514/CEE (7) e 85/490/CEE (8); que a identificação e o doseamento do nitrato de prata, a identificação e o doseamento do bissulfeto de selénio nos champôs anticaspa, o doseamento do bário e estrôncio solúveis em pigmentos na forma de sais ou lacas, a identificação e a determinação do álcool benzílico, a identificação do zircónio e a determinação do zircónio, do alumínio e do cloro em antitranspirantes não aerossólicos, a identificação e a determinação de hexamidina, dibromohexidina, dibromopropamidina e clorohexidina constituem uma quinta etapa;

Considerando que as medidas previstas na presente directiva estão em conformidade com o parecer do Comité para a Adaptação ao Progresso Técnico previsto na Directiva 76/768/CEE,

ADOPTOU A PRESENTE DIRECTIVA:

Artigo 1º

Os Estados-membros tomarão as medidas adequadas para que, aquando dos controlos oficiais dos produtos cosméticos:

— a identificação e o doseamento do nitrato de prata,

— a identificação e o doseamento do bissulfeto de selénio nos champôs anticaspa,

— o doseamento do bário e estrôncio solúveis em pigmentos na forma de sais ou lacas,

— a identificação e a determinação do álcool benzílico,

— a identificação do zircónio e determinação do zircónio, do alumínio e do cloro em antitranspirantes não aerossólicos,

— a identificação e determinação de hexamidina, dibromohexidina, dibromopropamidina e clorohexidina

sejam efectuados segundo os métodos descritos no anexo.

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

Artigo 2.º

1. Os Estados-membros porão em vigor as disposições legislativas, regulamentares ou administrativas necessárias para dar cumprimento à presente directiva, o mais tardar, em 30 de Setembro de 1994. Desse facto informarão imediatamente a Comissão.

As disposições adoptadas pelos Estados-membros farão referência à presente directiva ou serão acompanhadas dessa referência aquando da sua publicação oficial. As normas relativas a essa referência serão adoptadas pelos Estados-membros.

2. Os Estados-membros comunicarão à Comissão o texto das disposições de direito interno que adoptem no domínio regulado pela presente directiva.

Artigo 3.º

Os Estados-membros são os destinatários da presente directiva.

Feito em Bruxelas, em 9 de Setembro de 1993.

Pela Comissão

Christiane SCRIVENER

Membro da Comissão

ANEXO

IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO NITRATO DE PRATA EM COSMÉTICOS

A. Identificação

1. *Âmbito e domínio de aplicação*

O presente método descreve a identificação do nitrato de prata sob a forma de prata nos produtos cosméticos aquosos.

2. *Princípio*

A prata é identificada pelo precipitado branco característico formado com iões de cloreto.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

3.1. Solução de ácido hidroclorídrico (2M)

3.2. Solução de amónia : dissolver solução concentrada de amónia (d_{20} = 0,88 g/ml) com igual quantidade de água e misturar

3.3. Solução de ácido nítrico (2M)

4. *Material*

4.1. Equipamento de laboratório normal

4.2. Centrifugadora

5. *Procedimento*

5.1. Adicionar a cerca de 1 ml de amostra num tubo de centrifugação algumas gotas de solução de ácido clorídrico (3.1) até que se complete a precipitação ; misturar e centrifugar.

5.2. Retirar o líquido sobrenadante e lavar o precipitado uma vez com 5 gotas de água fria. Rejeitar as águas de lavagem.

5.3. Adicionar um volume de água equivalente ao volume do precipitado no tubo centrifugador. Aquecer até à fervura e mexer.

5.4. Centrifugar a quente ; retirar o líquido sobrenadante.

5.5. Adicionar ao precipitado algumas gotas de solução de amónia diluída (3.2) ; misturar e centrifugar.

5.6. Sobre uma lâmina de vidro adicionar a uma gota do líquido sobrenadante algumas gotas de solução de ácido nítrico 2M (3.3).

5.7. Um precipitado branco indica a presença de prata.

B. Determinação

1. *Âmbito e domínio de aplicação*

O presente método é adequado à determinação de nitrato de prata como prata em cosméticos para pintar as pestanas ou as sobrancelhas.

2. *Princípio*

A prata é determinada no produto por espectrofotometria de absorção atómica.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

3.1. Solução de ácido nítrico (0,02 M)

3.2. Soluções de prata padrão

3.2.1. Solução concentrada de prata padrão, 1 000 µg/ml em solução de ácido nítrico, 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente).

3.2.2. Solução de prata padrão, 100 µg/ml : pipetar 10 ml de solução concentrada de prata padrão (3.2.1) para um frasco volumétrico de 100 ml. Perfazer o volume até ao traço com solução de ácido nítrico, 0,020 M (3.1) e misturar. Esta solução padrão deverá ser preparada de modo a ser recente e armazenada em frasco de vidro escuro.

4. *Material*

4.1. Equipamento de laboratório normal

4.2. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com uma lâmpada catódica côncava de prata.

5. *Procedimento*

5.1. Preparação da amostra

Para um frasco padrão de 1 000 ml, pesar com exactidão cerca de 0,1 g de produto (amostra homogénea), perfazer o volume até ao traço com solução de ácido nítrico, 0,02 M (3.1) e misturar.

5.2. Condições para espectrometria de absorção atómica

Chama : ar-acetileno

Comprimento de onda : 338,3 nm

Correcção de fundo : sim

Condições da chama : pobre ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibração

5.3.1. Pipetar respectivamente 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 ml da solução de prata padrão (3.2.2) para frascos volumétricos de 100 ml. Perfazer em cada frasco, o volume até ao traço com solução de ácido nítrico, 0,02 M (3.1) e misturar. As soluções assim obtidas contêm, respectivamente, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 µg de prata por mililitro.

5.3.2. Medir a absorção de uma solução de ácido nítrico 0,02 M (3.1) e usar este valor de absorvência como a concentração zero de prata para a curva de calibração. Medir a absorção de cada calibração de prata padrão (5.3.1) e registar os valores de absorvência. Traçar a curva que relaciona os valores de absorção com os de concentração de prata.

5.4. Determinação

Medir a absorção da solução de amostra (5.1). Com base na curva de calibração verificar a concentração de prata que corresponde ao valor de absorção obtido para a solução de amostra.

6. *Cálculo*

Calcular o teor em nitrato de prata, em percentagem por massa (% m/m) utilizado na fórmula :

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

em que :

m = massa em gramas da amostra de ensaio (5.1),

c = concentração de prata na solução de amostra (5.1), em microgramas por mililitro, obtida a partir da curva de calibração.

7. *Reprodutibilidade*(1)

Para um teor em nitrato de prata de 4 % m/m a diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas em paralelo na mesma amostra não deve exceder 0,05 % (m/m).

IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO BISSULFETO DE SELÉNIO NOS CHAMPÔS ANTICASPA

A. Identificação

1. *Objecto e campo de aplicação*

O presente método descreve a identificação do bissulfeto de selénio enquanto selénio nos champôs anticaspa.

2. *Princípio*

O selénio é identificado pela cor característica entre o amarelo e o cor-de-laranja produzida pela reacção com a ureia e o iodeto de potássio.

(1) ISO 5725.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem apresentar pureza analítica.

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

3.2. Ureia

3.3. Solução de iodeto de potássio (10 % m/v) : dissolver 10 g de iodeto de potássio em 100 ml de água.

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Tubo de digestão com a capacidade de 100 ml

4.3. Bloco de digestão aquecido

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

5. *Procedimento*

5.1. A cerca de 1 g de champô juntar, num tubo de digestão (4.2), 2,5 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) e deixar digerir num bloco de digestão aquecido a 150 °C durante 30 minutos (4.3).

5.2. Diluir a amostra digerida a 25 ml com água e filtrar através de um filtro ou de uma membrana filtrante de 0,45 microns (4.4).

5.3. A 2,5 ml do filtrado acrescentar 5 ml de água, 2,5 de ureia (3.2), ferver, deixar arrefecer e juntar 1 ml da solução de iodeto de potássio (3.3).

5.4. Em presença do selénio produz-se uma cor entre o amarelo e o cor-de-laranja que escurece rapidamente.

B. **Determinação**

1. *Objecto e campo de acção*

O presente método determina a presença de bissulfeto de selénio enquanto selénio nos champôs anticaspa que contêm até 4,5 % (m/m) de bissulfeto de selénio.

2. *Princípio*

O selénio é determinado por espectrometria de absorção atómica após digestão pelo ácido nítrico.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem apresentar pureza analítica.

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

3.2. Solução de ácido nítrico (5 % v/v) ; juntar 50 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) a 500 ml de água num copo, mexendo continuamente. Passar esta solução para um frasco volumétrico de um litro e perfazer o volume com água.

3.3. Solução concentrada de selénio padrão, 1 000 µg/ml em solução de ácido nítrico, 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente).

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Tubo de digestão com 100 ml de capacidade.

4.3. Bloco de digestão aquecido

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

4.5. Espectrómetro de absorção atómica munido de uma lâmpada catódica côncava de selénio.

5. *Procedimento*

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Pesar com precisão cerca de 0,2 g de uma amostra homogénea de champô num tubo de digestão (4.2).

5.1.2. Juntar 5 ml de ácido nítrico concentrado (3.1) e deixar digerir a 150 °C durante uma hora num bloco de digestão aquecido (4.3).

5.1.3. Deixar arrefecer e diluir a 100 ml com água. Filtrar a amostra diluída por um filtro ou uma membrana filtrante de 0,45 microns (4.4). Guardar esta solução para a determinação.

5.2. Condições para a absorção atómica

Chama : ar-acetileno

Comprimento de onda : 196 nm

Correcção de fundo : sim

Condições da chama : pobre ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibração

5.3.1. Pipetar respectivamente 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 ml de solução concentrada de selénio padrão (3.3) para frascos volumétricos de 100 ml. Perfazer, em cada frasco, o volume até ao traço com solução de ácido nítrico a 5 % (v/v) (3.2) e misturar. As soluções assim obtidas contêm, respectivamente, 10, 20, 30, 40, e 50 µg de selénio por mililitro.

5.3.2. Medir a absorção de uma solução de ácido nítrico a 5 % (v/v) (3.2) e usar o valor de absorvência obtido como concentração zero de selénio para a curva de calibração. Medir a absorção de cada calibração de selénio padrão (5.3.1) e registar os valores de absorvência. Traçar a curva que relaciona os valores de absorvência com os de concentração de selénio.

5.4. Determinação

Aspirar a solução de amostra (5.1.3) e registar o valor de absorvência. A partir da curva de calibração verificar a concentração de selénio que corresponde ao valor de absorção obtido para a solução de amostra.

6. *Cálculo*

Calcular o teor de bissulfeto de selénio da amostra, em percentagem por massa (% m/m) por meio da seguinte fórmula :

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

em que :

m = massa em gramas da amostra de ensaio (5.1.1),

c = concentração de selénio na solução de amostra (5.1.3), em microgramas por ml, obtida na curva da calibração.

7. *Reprodutibilidade*(1)

Para um teor de bissulfeto de selénio de 1 % (m/m), a diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas em paralelo sobre a mesma amostra não deverá exceder 0,05 % (m/m).

DETERMINAÇÃO DE BÁRIO E ESTRÔNCIO SOLÚVEIS EM PIGMENTOS NA FORMA DE SAIS OU LACAS

A. Determinação do bário solúvel

1. *Objectivo e âmbito de aplicação*

Este método descreve o procedimento para a extracção e determinação de bário solúvel de pigmentos na forma de sais ou lacas.

2. *Princípio*

O pigmento é extraído com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M sob condições definidas e a quantidade de bário é determinada no extractante por espectrometria de absorção atómica.

(1) ISO 5725.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser puros, para efeitos analíticos.

3.1. Etanol, absoluto.

3.2. Solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M.

3.3. Solução de ácido hidroclorídrico 0,5 M.

3.4. Solução de cloreto de potássio, 8 % (m/v) : dissolver 16 g de cloreto de potássio em 200 ml de solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2).

3.5. Soluções normalizadas de bário.

3.5.1. Ter em *stock* solução normalizada de bário, 1 000 µg/ml em solução de ácido nítrico 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente).

3.5.2. Solução normalizada de bário, 200 µg/ml : transferir com uma pipeta 20,0 ml da solução normalizada de bário em *stock* (3.5.1) para um frasco graduado de 100 ml. Encher o resto do frasco com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar.

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Contador de pH (tolerância de ± 0,02 unidades)

4.3. Agitador de frascos manual

4.4. Filtro de membrana com poros de 0,45 µm.

4.5. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com uma lâmpada catódica oca de bário.

5. *Metodologia*

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Pesar com precisão cerca de 0,5 g (m grama) de pigmento para um frasco cónico. Com vista a garantir um volume suficiente para uma agitação eficaz, utilizar um frasco com capacidade igual ou superior a 150 ml.

5.1.2. Adicionar 1,0 ml de etanol (3.1) com a pipeta e rodar o frasco de modo a assegurar o humedecimento completo do pigmento. Adicionar de uma bureta a quantidade exacta de solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) necessária para obter uma razão volume de ácido/massa de pigmento de exactamente 50 mililitros por grama. O volume total de extractante, incluindo o etanol, é representado por V ml. Agitar o conteúdo do frasco durante 5 segundos para garantir a mistura completa do conteúdo.

5.1.3. Usando um contador (4.2), medir o pH da suspensão resultante ; se este se situar acima de 1,5, adicionar gotas de solução de ácido hidroclorídrico 0,5 M (3.3) até ficar entre 1,4 e 1,5.

5.1.4. Tapar imediatamente o frasco e agitá-lo durante 60 minutos, utilizando um agitador manual de frascos (4.3). A velocidade de agitação deve ser suficiente para produzir espuma. Filtrar com um filtro de membrana 0,45 µm (4.4) e recolher o filtrado. Não centrifugar o extracto antes de filtrar. Transferir com uma pipeta 5,0 ml do filtrado para um frasco graduado de 50 ml ; encher o resto do frasco com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar. Esta solução é igualmente utilizada para a determinação do estrôncio (parte B).

5.1.5. Com uma pipeta, transferir, para um frasco graduado de 100 ml, 5,0 ml de solução de cloreto de potássio (3.4) e uma parte alíquota (W_{Ba} ml) do filtrado diluído (5.1.4) para conseguir a concentração desejada de 3 a 10 µg de bário por mililitro (Uma parte alíquota de 10 ml deverá constituir um ponto de partida satisfatório). Encher o resto do frasco com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar.

5.1.6. Determinar a concentração de bário na solução (5.1.5) por espectrometria de absorção atómica no mesmo dia.

5.2. Condições para a espectrometria de absorção atómica

Chama : óxido nitroso/acetileno

Comprimento de onda : 553,5 nm

Correcção prévia : não

Condições da chama : pobre ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibragem

5.3.1. Transferir com uma pipeta, para uma série de frascos graduados de 100 ml, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 ml da solução normalizada de bário (3.5.2). Com uma pipeta, transferir para cada frasco 5,0 ml de solução de cloreto de potássio (3.4); encher os frascos com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar. Estas soluções contêm 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 e 10,0 µg de bário por mililitro, respectivamente.

Procedendo do mesmo modo, preparar uma solução neutra omitindo a solução normalizada de bário.

5.3.2. Medir a absorção da solução neutra (5.3.1) e utilizar o valor obtido como a concentração zero de bário para a curva de calibragem. Medir a absorção de cada nível de calibragem de bário (5.3.1). Desenhar uma curva de calibragem relacionando os valores de absorção com a concentração de bário.

5.4. Determinação

Medir a absorção da solução de amostra (5.1.5). A partir da curva de calibragem, obter a concentração de bário correspondente ao valor de absorção obtido para a solução de amostra.

6. *Cálculo*

O teor (% m/m) de bário solúvel no pigmento é dado pela fórmula:

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

em que:

m = massa da amostra analisada, em gramas (5.1.1),

c = concentração de bário na solução de amostra (5.1.5), em microgramas por mililitro, obtida a partir da curva de calibragem,

V = volume total do extractante em mililitros (5.1.2), e

W_{Ba} = volume do extracto, em mililitros (5.1.5).

7. *Reprodutibilidade*

A melhor previsão de reprodutibilidade (ISO 5725) relativamente a este método é de 0,3 % para uma concentração de bário solúvel de 2 % (m/m).

8. *Observações*

8.1. Em determinadas condições, a absorção de bário pode ser aumentada pela presença de cálcio; este efeito é contrariado pela adição de iões de magnésio com uma concentração de 5 g por litro (1).

8.2. A utilização de espectrometria de tocha de plasma indutivo — espectrometria de emissão óptica é permitida como alternativa à espectrometria de absorção atómica de chama.

B. Determinação do estrôncio solúvel

1. *Objectivo e âmbito de aplicação*

Este método descreve o procedimento para a extracção e determinação de estrôncio solúvel de pigmentos na forma de sais ou lacas.

2. *Princípio*

O pigmento é extraído com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M sob condições definidas e a quantidade de estrôncio é determinada no extractante por espectrometria de absorção atómica.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser puros, para efeitos analíticos.

3.1. Etanol, absoluto

3.2. Solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M.

3.3. Solução de cloreto de potássio, 8 % (m/v): dissolver 16 g de cloreto de potássio em 200 ml de solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2).

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

3.4. Soluções normalizadas de estrôncio

3.4.1. Ter em *stock* solução normalizada de estrôncio, 1 000 µg/ml em ácido hidroclorídrico 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente)

3.4.2. Solução normalizada de estrôncio 100 µg/ml : transferir com uma pipeta 10,0 ml da solução normalizada de estrôncio em *stock* (3.4.1) para um frasco graduado de 100 ml. Encher o resto do frasco com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar.

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Filtro de membrana com poros de 0,45 µm

4.3. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com uma lâmpada catódica oca de estrôncio.

5. *Metodologia*

5.1. Preparação da amostra

A solução preparada segundo a descrição mencionada no ponto 5.1.4 da parte A é utilizada para determinar o conteúdo de estrôncio solúvel.

5.1.1. Com uma pipeta, transferir, para um frasco graduado de 100 ml, 5,0 ml de solução de cloreto de potássio (3.3) e uma parte alíquota (W_{Sr} ml) do filtrado diluído (A.5.1.4) para conseguir a concentração desejada de 2 a 5 µg de estrôncio por mililitro (Uma parte alíquota de 25 ml deverá constituir um ponto de partida satisfatório). Encher o resto do frasco com solução de ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar.

5.1.2. Determinar a concentração de estrôncio na solução (5.1.1) por espectrometria de absorção atómica no mesmo dia.

5.2. Condições para a espectrometria de absorção atómica

Chama : óxido nitroso/acetileno

Comprimento de onda : 460,7 nm

Correcção prévia : não

Condições da chama : pobre ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibragem

5.3.1. Transferir com uma pipeta, para uma série de frascos graduados de 100 ml, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, e 5,0 ml da solução normalizada de estrôncio (3.4.2). Com uma pipeta, transferir para cada frasco 5,0 ml de solução de cloreto de potássio (3.3) ; encher os frascos com ácido hidroclorídrico 0,07 M (3.2) e misturar. Estas soluções contêm 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, e 5,0 µg de estrôncio por mililitro, respectivamente.

Procedendo do mesmo modo, preparar uma solução neutra omitindo a solução normalizada de estrôncio.

5.3.2. Medir a absorção da solução neutra (5.3.1) e utilizar o valor obtido como a concentração zero de estrôncio para a curva de calibragem. Medir a absorção de cada nível de calibragem de estrôncio (5.3.1). Desenhar uma curva de calibragem, relacionando os valores máximos de absorção com a concentração de estrôncio.

5.4. Determinação

Medir a absorção da solução de amostra (5.1.1). A partir da curva de calibragem obter a concentração de estrôncio correspondente ao valor de absorção obtido para a solução de amostra.

6. *Cálculo*

O teor (% m/m) de estrôncio solúvel no pigmento é dado pela fórmula :

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

em que :

m = massa da amostra analisada, em gramas (A.5.1.1),

c = concentração de estrôncio, em microgramas por mililitro na solução de amostra (5.1.1), obtida a partir da curva de calibragem,

V = volume do extractante em mililitros (A.5.1.2), e

W_{Sr} = volume do extracto em mililitros (5.1.1).

7. *Reprodutibidade*

A melhor previsão de reprodutibilidade (ISO 5725) relativamente a este método é de 0,09 % para uma concentração de estrôncio solúvel de 0,6 % (m/m).

8. *Observações*

A utilização de espectrometria de tocha de plasma indutivo — espectrometria de emissão óptica é permitida como alternativa à espectrometria de absorção atómica de chama.

IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DO ÁLCOOL BENZÍLICO EM PRODUTOS COSMÉTICOS

A. Identificação

1. *Objectivo e campo de aplicação*

Este método descreve a identificação do álcool benzílico em produtos cosméticos.

2. *Princípio*

O álcool benzílico é identificado por cromatografia em camada fina sobre placas de gel de sílica.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

3.1. Álcool benzílico.

3.2. Clorofórmio.

3.3. Etanol, absoluto.

3.4. n-pentano.

3.5. Solvente de desenvolvimento : éter dietílico.

3.6. Solução-padrão de álcool benzílico : pesar 0,1 g de álcool benzílico (3.1) para um balão graduado de 100 ml, completar o volume com etanol (3.3) e homogeneizar.

3.7. Placas de vidro para cromatografia em camada fina, de 100 mm × 200 mm ou de 200 mm × 200 mm, revestidas com uma camada de 0,25 mm de gel de sílica 60 F_{254}.

3.8. Revelador : ácido 12-molibdofosfórico, 10 % (m/v) em etanol (3.3).

4. *Aparelhos e utensílios*

4.1. Material corrente de laboratório para cromatografia em camada fina.

4.2. Tina de cromatografia com dois canais, dimensões globais aproximadas : 80 mm × 230 mm × 240 mm.

4.3. Papel para cromatografia : Whatman ou equivalente.

4.4. Lâmpada ultra-violeta, comprimento de onda 254 nm.

5. *Técnica*

5.1. Preparação da amostra

Pesar 1,0 g do produto a analisar num balão graduado de 10 ml. Adicionar 3 ml de clorofórmio (3.2) e agitar vigorosamente até à dispersão do produto. Completar o volume com etanol (3.3) e agitar vigorosamente por forma a obter uma solução límpida ou quase.

5.2. Cromatografia em camada fina

5.2.1. Saturar a tina de cromatografia (4.2) com n-pentano (3.4) do seguinte modo : revestir a parede da tina adjacente ao canal posterior com papel para cromatografia (4.3), verificando se o bordo inferior do papel se encontra dentro do canal. Transferir 25 ml de n-pentano (3.4) para o canal posterior, vertendo este solvente sobre a superfície exposta do papel para cromatografia que reveste a parede. Recolocar imediatamente a tampa e deixar repousar a tina durante 15 minutos.

5.2.2. Depositar 10 µl de solução da amostra (5.1) e 10 µl da solução-padrão de álcool benzílico (3.6) nos pontos adequados da linha de partida de uma placa de cromatografia em camada fina (3.7). Deixar secar.

5.2.3. Pipetar 10 ml de éter dietílico (3.5) para o canal dianteiro da tina e, imediatamente a seguir, colocar a placa (5.2.2) dentro do mesmo canal. Recolocar rapidamente a tampa da tina e efectuar o desenvolvimento numa distância de 150 mm. Retirar a placa da tina de cromatografia e deixá-la secar à temperatura ambiente.

5.2.4. Observar a placa (5.2.3) à luz ultravioleta e assinalar a posição das manchas de cor violeta. Pulverizar a placa com o revelador (3.8) e, em seguida, aquecê-la a 120 °C durante cerca de 15 minutos. O álcool benzílico surge sob a forma de uma mancha azul escura.

5.2.5. Calcular o valor R_f obtido com a solução-padrão de álcool benzílico. Uma mancha azul escura com um valor R_f igual ao obtido com a solução da amostra indica a presença de álcool benzílico.

Limite de detecção: 0,1 µg de álcool benzílico.

B. Determinação

1. *Objectivo e campo de aplicação*

Este método descreve a determinação de álcool benzílico em produtos cosméticos.

2. *Definição*

A quantidade de álcool benzílico determinada por este método é expressa em percentagem em massa (% m/m).

3. *Princípio*

A amostra é extraída com metanol, determinando-se a quantidade de álcool benzílico presente no extracto por cromatografia em fase líquida de alta resolução (HPLC).

4. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica e adequados para HPLC, caso necessário.

4.1. Metanol.

4.2. 4-etoxifenol.

4.3. Álcool benzílico.

4.4. Fase móvel: metanol (4.1)/água (45 : 55; v/v).

4.5. Solução-mãe de álcool benzílico: pesar cuidadosamente cerca de 0,1 g de álcool benzílico (4.3) num balão graduado de 100 ml. Completar o volume com metanol (4.1) e homogeneizar.

4.6. Solução-mãe do padrão interno: pesar cuidadosamente cerca de 0,1 g de 4-etoxifenol (4.2) num balão graduado de 100 ml. Completar o volume com metanol (4.1) e homogeneizar.

4.7. Soluções-padrão: com uma pipeta introduzir numa série de balões graduados de 25 ml quantidades da solução-mãe de álcool benzílico (4.5) e da solução-mãe do padrão interno (4.6), em conformidade com o quadro abaixo indicado. Completar o volume com metanol (4.1) e homogeneizar.

Solução padrão	Concentração de álcool benzílico		Concentração de 4-etoxifenol	
	ml (4.5) adicionados	µg/ml (*)	ml (4.6) adicionados	µg/ml (*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Estes valores são fornecidos a título indicativo e correspondem às concentrações de soluções-padrão preparadas com as soluções de álcool benzílico (4.5) e de 4-etoxifenol (4.6), que contêm exactamente 0,1 % (m/v) de álcool benzílico e 0,1 % (m/v) de 4-etoxifenol, respectivamente.

5. *Aparelhos e utensílios*

5.1. Material corrente de laboratório.

5.2. Equipamento de cromatografia de alta resolução com um detector de raios ultravioletas de comprimentos de onda variáveis e um injector de 10 µl.

5.3. Coluna analítica: coluna de aço inoxidável de 250 mm × 4,6 mm, cheia de 5 µm de Spherisorb ODS ou equivalente.

5.4. Banho-maria.

5.5. Banho de ultra-sons.

5.6. Centrifugadora.

5.7. Tubos de centrifugação com capacidade de 15 ml.

6. *Técnica*

6.1. Preparação da amostra

6.1.1. Pesar cuidadosamente cerca de 0,1 g (m grama) de amostra num tubo de centrifugação (5.7) e adicionar 5 ml de metanol (4.1).

6.1.2. Aquecer durante 10 minutos num banho-maria (5.4) mantido a 50 °C e, em seguida, colocar o tubo num banho de ultra-sons (5.5) até a amostra se encontrar completamente dispersa.

6.1.3. Arrefecer e, em seguida, centrifugar a 3 500 rpm durante 5 minutos.

6.1.4. Transferir o líquido sobrenadante para um balão graduado de 25 ml.

6.1.5. Extrair de novo a amostra com mais 5 ml de metanol (4.1). Combinar os extractos num balão graduado de 25 ml.

6.1.6. Transferir com uma pipeta 2,0 ml de solução-mãe do padrão interno (4.6) para um balão graduado de 25 ml (6.1.5). Completar o volume com metanol (4.1) e homogeneizar. Esta solução é utilizada na fase de cromatografia da análise descrita em 6.4.

6.2. Cromatografia

6.2.1. Regular o equipamento de cromatografia de alta resolução (5.2) da forma habitual. Ajustar o débito da fase móvel (4.4) para 2,0 ml por minuto.

6.2.2. Regular o comprimento de onda do detector de UV (5.2) para 210 nm.

6.3. Calibração

6.3.1. Injectar 10 µl de cada uma das soluções-padrão de álcool benzílico (4.7) e medir as áreas dos picos de álcool benzílico e de 4-etoxifenol.

6.3.2. Calcular, para cada concentração de solução-padrão de álcool benzílico (4.7), a relação da área do pico de álcool benzílico em 4-etoxifenol. Desenhar uma curva de calibração usando estas relações no eixo das ordenadas e as concentrações correspondentes de álcool benzílico em µg por mililitro no eixo das abcissas.

6.4. Determinação

6.4.1. Injectar 10 µl da solução da amostra (6.1.6) e medir as áreas dos picos de álcool benzílico e de 4-etoxifenol. Calcular a relação da área do pico de álcool benzílico em 4-etoxifenol. Repetir este processo com fracções de 10 µl de solução da amostra até obter resultados sistemáticos.

6.4.2. A partir da curva de calibração (6.3.2), ler a concentração de álcool benzílico correspondente à relação da área do pico de álcool benzílico em 4-etoxifenol.

7. *Cálculos*

Calcular o teor de álcool benzílico na amostra, em percentagem em massa, utilizando a fórmula :

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

em que :

m = massa, em gramas, da amostra recolhida para análise (6.1.1), e

c = concentração de álcool benzílico na solução da amostra (6.1.6), em microgramas por mililitro, obtida a partir da curva de calibração.

8. *Repetibilidade*(1)

Para um teor de álcool benzílico de 1 % (m/m), a diferença entre os resultados de duas determinações paralelas da mesma amostra não deve ultrapassar 0,10 %.

(1) ISO 5725.

IDENTIFICAÇÃO DO ZIRCÓNIO E DETERMINAÇÃO DO ZIRCÓNIO, DO ALUMÍNIO E DO CLORO EM ANTITRANSPIRANTES NÃO AEROSSÓLICOS

O método inclui cinco fases:

A. Identificação do zircónio

B. Determinação do zircónio

C. Determinação do alumínio

D. Determinação do cloro

E. Cálculo das razões de átomos de alumínio para átomos de zircónio e de átomos de alumínio mais zircónio para átomos de cloro

A. **Identificação do zircónio**

1. *Objecto e âmbito de aplicação*

O método descreve a identificação do zircónio em produtos cosméticos antitranspirantes não aerossólicos. Não foram feitas tentativas para descrever métodos adequados de identificação do complexo hidróxido de cloreto de alumínio e zircónio [$Al_xZr(OH)_yCl_z.nH_2O$].

2. *Princípio*

O zircónio é identificado por um precipitado vermelho-violeta característico, produzido com o vermelho de alizarina S em condições de forte acidez.

3. *Reagentes*

Os reagentes devem ser todos de pureza analítica.

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

3.2. Solução de vermelho de alizarina S (Cl. 58005): sulfonato aquoso de sódio e alizarina a 2 % (m/v).

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

5. *Procedimento*

5.1. Acrescentar 2 ml de água a cerca de 1 g de amostra num tubo de ensaio. Rolhar e agitar.

5.2. Acrescentar 3 gotas de solução de vermelho de alizarina S (3.2) e seguidamente 2 ml de ácido hidroclórico concentrado (3.1). Rolhar e agitar.

5.3. Deixar em repouso aproximadamente 2 minutos.

5.4. Um precipitado e uma solução sobrenadante de cor vermelho-violeta indicam a presença de zircónio.

B. **Determinação do zircónio**

1. *Objecto e âmbito de aplicação*

Este método é adequado à determinação do zircónio em complexos hidróxidos de cloreto de alumínio e zircónio até uma concentração máxima de 7,5 % (m/m) de zircónio em antitranspirantes não aerossólicos.

2. *Princípio*

O zircónio é extraído do produto em condições de forte acidez e determinado por espectrometria de absorção atómica de chama.

3. *Reagentes*

Os reagentes devem ser todos de pureza analítica.

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

3.2. Solução de ácido hidroclórico a 10 % (v/v): acrescentar 100 ml de ácido hidroclórico concentrado (3.1) a 500 ml de água numa proveta, agitando continuamente. Verter esta solução para um recipiente graduado de um litro, enchendo-o depois com água.

3.3. Solução-mãe padrão de zircónio, 1 000 µg/ml em solução de ácido hidroclórico a 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente).

3.4. Reagente de cloreto de alumínio (hidrato) [$AlCl_3.6H_2O$] : dissolver 22,6 g de cloreto de alumínio hexa-hidrato em 250 ml de solução de ácido hidroclórico (3.2) a 10 % (v/v).

3.5. Reagente de cloreto de amónio : dissolver 5,0 g de cloreto de amónio em 250 ml de solução de ácido hidroclórico (3.2) a 10 % (v/v).

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Aquecedor com agitador magnético

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

4.4. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com uma lâmpada de cátodo oco de zircónio

5. *Procedimento*

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Pesar com exactidão cerca de 1,0 g (gramas m) de uma amostra homogénea do produto para uma proveta de 150 ml. Acrescentar 40 ml de água e 10 ml de ácido hidroclórico concentrado (3.1).

5.1.2. Colocar a proveta num aquecedor com um agitador magnético (4.2). Começar a agitar e aquecer até atingir o ponto de fervura. Para evitar uma secagem rápida colocar um vidro de relógio no topo da proveta. Ferver durante 5 minutos, retirar a proveta do calor e deixar arrefecer à temperatura ambiente.

5.1.3. Com o papel de filtro (4.3), filtrar o conteúdo da proveta para um recipiente graduado de 100 ml. Enxaguar a proveta com duas porções de água de 10 ml e introduzir no recipiente graduado o líquido resultante dos enxaguamentos após a filtração. Encher com água e misturar. Esta solução é também utilizada para a determinação do alumínio (parte C).

5.1.4. Introduzir com uma pipeta 20,00 ml da solução-amostra (5.1.3), 5,00 ml de reagente de cloreto de alumínio (3.4) e 5,00 ml de reagente de cloreto de amónio (3.5) para um recipiente graduado de 50 ml. Encher com uma solução de ácido hidroclórico (3.2) a 10 % (v/v) e misturar.

5.2. Condições para a espectrometria de absorção atómica

Chama : óxido de azoto/acetileno

Comprimento de onda : 360,1 nm

Correcção de fundo : não

Condições da chama : rica ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibração

5.3.1. Verter com uma pipeta 5,00, 10,00, 15,00, 20,00 e 25,00 ml de solução-mãe padrão de zircónio (3.3) para uma série de recipientes graduados de 50 ml. Introduzir com uma pipeta 5,00 ml de reagente de cloreto de alumínio (3.4) e 5,00 ml de reagente de cloreto de amónio (3.5) em cada recipiente graduado. Encher com solução de ácido hidroclórico (3.2) a 10 % (v/v) e misturar. Estas soluções contêm 100, 200, 300, 400 e 500 µg de zircónio por mililitro, respectivamente.

De igual modo, preparar uma solução sem a solução padrão de zircónio.

5.3.2. Medir a absorvência da solução obtida (5.3.1) e utilizar o valor obtido como concentração nula de zircónio para a curva de calibração. Medir a absorvência de cada padrão de calibração de zircónio (5.3.1). Desenhar uma curva de calibração relacionando os valores de absorvência com a concentração de zircónio.

5.4. Determinação

Medir a absorvência da solução-amostra (5.1.4). A partir da curva de calibração verificar a concentração de zircónio correspondente ao valor de absorvência obtido para a solução-amostra.

6. *Cálculo*

Calcular o teor de zircónio da amostra em percentagem por massa por meio da seguinte fórmula :

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

em que :

m = massa em gramas da amostra para análise (5.1.1), e

c = concentração de zircónio na solução amostra (5.1.4), em microgramas por mililitro, obtida na curva de calibração.

7. *Repetibilidade*(1)

Para um teor de zircónio de 3,00 % (m/m) a diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas em paralelo sobre a mesma amostra não deverá ser superior a 0,10 % (m/m).

8. *Observação*

Pode-se utilizar a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente como alternativa à espectrometria de absorção atómica de chama.

C. Determinação do alumínio

1. *Objecto e âmbito de aplicação*

Este método é adequado para a determinação do alumínio presente em complexos hidróxido de cloreto de alumínio e de zircónio até uma concentração máxima de 12 % (m/m) de alumínio em antitranspirantes não aerossólicos.

2. *Princípio*

O alumínio é extraído do produto em condições de acidez e determinado por espectrometria de absorção atómica de chama.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

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

3.2. Solução de ácido hidroclórico, 1 % (v/v) : acrescentar 10 ml de ácido hidroclórico concentrado (3.1) a 500 ml de água numa proveta, agitando continuamente. Verter esta solução para um recipiente graduado de um litro e encher com água.

3.3. Solução-mãe padrão de alumínio, 1 000 µg/ml em solução de ácido azótico a 0,5 M (« Spectrosol » ou equivalente).

3.4. Reagente de cloreto de potássio : dissolver 10,0 g de cloreto de potássio em 250 ml de solução de ácido hidroclórico (3.2) a 1 % (v/v).

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Espectrofotómetro de absorção atómica equipado com lâmpada de cátodo oco de alumínio.

5. *Procedimento*

5.1. Preparação da amostra

A solução preparada em B.5.1.3 é utilizada para determinar o teor de alumínio.

5.1.1. Verter com uma pipeta 5,00 ml da solução amostra (B.5.1.3) e 10,00 ml de reagente de cloreto de potássio (3.4) para um recipiente graduado de 100 ml. Encher com uma solução de ácido hidroclórico (3.2) a 1 % (v/v) e misturar.

5.2. Condições para a espectrometria de absorção atómica

Chama : óxido de azoto/acetileno

Comprimento de onda : 309,3 nm

Correcção de fundo : não

Condições da chama : rica ; para uma absorvência máxima serão necessárias uma optimização da altura da chama e das características do combustível.

5.3. Calibração

5.3.1. Verter com uma pipeta 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 e 5,00 ml de solução-mãe padrão de alumínio (3.3) para uma série de recipientes graduados de 100 ml. Verter com uma pipeta 10,00 ml de reagente de cloreto de potássio (3.4) para cada recipiente graduado e encher com solução de ácido hidroclórico (3.2) a 1 % (v/v) e misturar. Estas soluções contêm 10, 20, 30, 40 e 50 µg de alumínio por mililitro.

De igual modo, preparar uma solução sem solução padrão de alumínio.

(1) ISO 5725.

5.3.2. Medir a absorvência da solução assim obtida (5.3.1) e utilizar o valor obtido como concentração nula de alumínio na curva de calibração. Medir a absorvência de cada padrão de calibração de alumínio. Desenhar uma curva de calibração relacionando os valores de absorvência com a concentração de alumínio.

5.4. Determinação

Medir a absorvência da solução amostra (5.1.1). A partir da curva de calibração verificar a concentração de alumínio correspondente ao valor de absorvência obtido para a solução amostra.

6. *Cálculo*

Calcular o teor de alumínio da amostra, em percentagem por massa, por meio da seguinte fórmula :

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

em que :

m = massa em gramas da amostra para análise (B.5.1.1), e

c = concentração de alumínio na solução amostra (5.1.1), em microgramas por mililitro, obtida na curva de calibração.

7. *Repetibilidade*(1)

Para um teor de alumínio de 3,5 % (m/m) a diferença entre os resultados das duas determinações efectuadas em paralelo sobre a mesma amostra não deverá ser superior a 0,10 % (m/m).

8. *Observação*

Pode-se utilizar a espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado indutivamente como alternativa à espectrometria de absorção atómica de chama.

D. **Determinação do cloro**

1. *Objecto e âmbito da determinação*

Este método é adequado para a determinação do cloro presente na sua forma iónica em complexos hidróxido de cloreto de alumínio e zircónio presentes em antitranspirantes não aerossólicos.

2. *Princípio*

O cloreto do produto é determinado por titulação potenciométrica contra uma solução padrão de nitrato de prata.

3. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica.

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

3.2. Solução de ácido azótico, 5 % (v/v) : acrescentar 25 ml de ácido azótico concentrado (3.1) a 250 ml de água numa proveta, agitando continuamente. Verter esta solução para um recipiente graduado de 500 ml e encher com água.

3.3. Acetona

3.4. Nitrato de prata, solução volumétrica de 0,1 M (AnalaR ou equivalente)

4. *Material*

4.1. Equipamento normal de laboratório

4.2. Aquecedor com agitador magnético

4.3. Eléctrodo de prata

4.4. Eléctrodo de referência de calomelanos

4.5. Multímetro pH/milivolt adequado a uma titulação potenciométrica

(1) ISO 5725.

5. *Procedimento*

5.1. Preparação da amostra

5.1.1. Pesar com exactidão cerca de 1,0 g (gramas m) de uma amostra homogénea do produto e introduzi-la numa proveta de 250 ml. Acrescentar 80 ml de água e 20 ml de solução de ácido azótico (3.2) a 5 % (v/v).

5.1.2. Colocar a proveta no aquecedor com um agitador magnético (4.2). Começar a agitar e aquecer até atingir o ponto de fervura. Para evitar uma secagem rápida, colocar um vidro de relógio no topo da proveta. Deixar ferver durante 5 minutos, retirar a proveta do aquecedor e deixar arrefecer à temperatura ambiente.

5.1.3. Acrescentar 10 ml de acetona (3.3), mergulhar os eléctrodos (4.3 e 4.4) abaixo da superfície da solução e começar a agitar. Titular potenciometricamente contra uma solução de nitrato de prata (3.4) a 0,1 M e desenhar uma curva diferencial para determinar o ponto final (Vml).

6. *Cálculo*

Calcular o teor em cloro da amostra, em percentagem por massa, por meio da seguinte fórmula :

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

em que :

m = massa em gramas da amostra tomada para análise (5.1.1), e

V = volume de nitrato de prata a 0,1 M, em mililitros, titulado no ponto final (5.1.3).

7, *Repetibilidade*(1)

Para um teor de cloro de 4 % (m/m) a diferença entre os resultados de duas determinações efectuadas em paralelo sobre a mesma amostra não deverá ser superior a 0,10 % (m/m).

E. Cálculo das razões de átomos de alumínio para átomos de zircónio e de átomos de alumínio mais átomos de zircónio para átomos de cloro

1. *Cálculo da razão de átomos de alumínio para átomos de zircónio*

Calcular a razão Al : Zr por meio da seguinte fórmula :

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

2. *Cálculo da razão de átomos de alumínio mais átomos de zircónio para átomos de cloro*

Calcular a razão (Al + Zr) : Cl por meio da seguinte fórmula :

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

IDENTIFICAÇÃO E DETERMINAÇÃO DE HEXAMIDINA, DIBROMOHEXAMIDINA, DIBROMOPROPAMIDINA E CLOROHEXIDINA

1. *Objectivo e campo de aplicação*

O método descreve a determinação qualitativa e quantitativa de :

— hexamidina e respectivos sais, incluindo o isotionato e o 4-hidroxibenzoato,

— dibromohexamidina e respectivos sais, incluindo o isotionato,

— dibromopropamidina e respectivos sais, incluindo o isotionato,

— diacetato, digluconato e dicloridrato de clorohexidina,

nos produtos cosméticos.

2. *Definição*

As concentrações de hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina e clorohexidina determinadas por este método são expressas em percentagem em massa (% m/m).

3. *Princípio*

A identificação e a determinação são efectuadas por cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) de emparelhamento de iões em fase invertida, seguida de detecção por espectrofotometria UV. A hexamidina, a dibromohexamidina, a dibromopropamidina e a clorohexidina são identificadas pelos seus tempos de retenção na coluna cromatográfica.

(1) ISO 5725.

4. *Reagentes*

Todos os reagentes devem ser de pureza analítica e adequados para a HPLC, quando necessário.

4.1. Metanol

4.2. Sal de sódio monohidratado do ácido 1-heptanossulfónico

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

4.4. Cloreto de sódio

4.5. Fases móveis

4.5.1. Solvente I : solução metanólica (4.1) a 0,005 M do sal de sódio monohidratado do ácido 1-heptanossulfónico (4.2) ajustada ao pH aparente de 3,5 com ácido acético glacial (4.3).

4.5.2. Solvente II : solução aquosa a 0,005 M do sal de sódio monohidratado do ácido 1-heptanossulfónico (4.2) ajustada ao pH 3,5 com ácido acético glacial (4.3).

Nota : caso seja necessário melhorar a forma dos picos, as fases móveis podem ser alteradas e preparadas da seguinte forma :

— solvente I : dissolver 5,84 g de cloreto de sódio (4.4) e 1,1013 g de sal de sódio monohidratado do ácido 1-heptanossulfónico (4.2) em 100 ml de água. Adicionar 900 ml de metanol (4.1) e ajustar ao pH aparente de 3,5 com ácido acético glacial (4.3),

— solvente II : dissolver 5,84 g de cloreto de sódio (4.4) e 1,1013 g de sal de sódio monohidratado do ácido 1-heptanossulfónico (4.2) em um litro de água e ajustar ao pH de 3,5 com ácido acético glacial (4.3).

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

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

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

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

4.10. Soluções de referência : preparar soluções a 0,05 % (m/v) de cada um dos quatro conservantes (4.6 a 4.9) no solvente I (4.5.1).

4.11. Tricloro, 3,4,4'-carbanilida (triclorocarbano)

4.12. Dicloro, 4,4'-(trifluorometil)-3 carbanilida (halocarbano)

5. *Aparelhos e utensílios*

5.1. Equipamento normal de laboratório.

5.2. Cromatógrafo em fase líquida de alta resolução com detector de UV de comprimentos de onda variáveis.

5.3. Coluna analítica : em aço inoxidável ; comprimento : 30 cm ; diâmetro interno : 4 mm, cheia de μ-Bondapack C_{18}, 10 μm, ou equivalente.

5.4. Banho de ultra-sons.

6. *Identificação*

6.1. Preparação da amostra

Pesar aproximadamente 0,5 g da amostra num balão volumétrico de 10 ml. Encher até ao traço com o solvente I (4.5.1). Colocar o balão volumétrico num banho de ultra-sons (5.4) durante 10 minutos. Filtrar ou centrifugar a solução. Recolher o filtrado ou o líquido sobrenadante para proceder à identificação por HPLC.

6.2. Cromatografia

6.2.1. Gradiente de fase móvel

Tempo (min)	Solvente I (% v/v) (4.5.1)	Solvente II (% v/v) (4.5.2)
0	50	50
15	65	35
30	65	35
45	50	50

6.2.2. Regular o débito da fase móvel (6.2.1) para 1,5 ml/min e fixar a temperatura da coluna a 35 °C.

6.2.3. Regular o detector de comprimento de onda para 264 nm.

6.2.4. Injectar 10 µl de cada uma das soluções de referência (4.10) e anotar os respectivos cromatogramas.

6.2.5. Injectar 10 µl de solução da amostra (6.1) e anotar o seu cromatograma.

6.3. Verificar se estão presentes hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina ou clorohexidina comparando o(s) tempo(s) de retenção do(s) pico(s) anotados em 6.2.5 com os obtidos com as as soluções de referência em 6.2.4.

7. *Determinação*

7.1. Preparação das soluções-padrão

Utilizar um dos conservantes (4.6 a 4.9) não presente na amostra como padrão interno. Caso não exista, utilizar o triclorocarbano (4.11) ou o halocarbano (4.12).

7.1.1. Solução-mãe do conservante identificado em 6.3 a 0,05% (m/v) no solvente I (4.5.1).

7.1.2. Solução-mãe do conservante escolhido como padrão interno a 0,05 % (m/v) no solvente I (4.5.1).

7.1.3. Preparar quatro soluções-padrão para cada conservante identificado, transferindo para uma série de balões graduados de 10 ml quantidades da solução-mãe do conservante identificado (7.1.1) e quantidades apropriadas da solução-mãe do padrão interno (7.1.2), de acordo com o quadro abaixo indicado. Completar o volume de cada balão com solvente I (4.5.1) e homogeneizar.

Solução padrão	Solução-mãe do padrão interno	Solução-mãe do conservante identificado	
	ml (7.1.2) adicionados	ml (7.1.1) adicionados	µg/ml (*)
I	1,0	0,5	25
II	1,0	1,0	50
III	1,0	1,5	75
IV	1,0	2,0	100

(*) Estes valores são fornecidos a título indicativo e correspondem às concentrações do conservante identificado nas soluções-padrão preparadas com a solução-mãe, que contém exactamente 0,05 % do conservante identificado.

7.2. Preparação da amostra

7.2.1. Pesar com precisão cerca de 0,5 g (p grama) de amostra num balão graduado de 10 ml, adicionar 1,0 ml da solução-padrão interna (7.1.2) e 6 ml de solvente I (4.5.1) e homogeneizar.

7.2.2. Colocar o balão graduado, durante 10 minutos, num banho de ultra-sons (5.4). Depois de arrefecido, completar com o solvente I até ao traço e homogeneizar. Filtrar com um filtro de pregas ou centrifugar. Recolher o fluido sobrenadante ou o filtrado, consoante o caso, para proceder à análise cromatográfica.

7.3. Cromatografia

7.3.1. Regular o gradiente de fase móvel, o seu débito, a temperatura da coluna e o comprimento de onda do detector do equipamento de HPLC (5.2) de acordo com as condições exigidas na fase de identificação (6.2.1 a 6.2.3).

7.3.2. Injectar 10 µl da solução da amostra (7.2.2) e medir as áreas dos picos. Repetir duas vezes este processo com fracções de 10 µl da solução da amostra até obter resultados sistemáticos. Calcular a relação entre a área do pico do composto a analisar e a área do pico do padrão interno.

7.4. Calibração

7.4.1. Injectar 10 µl de cada uma das soluções-padrão (7.1.3) e medir as áreas dos picos.

7.4.2. Para cada solução-padrão (7.1.3), calcular a relação entre a área do pico da hexamidina, da dibromohexamidina, da dibromopropamidina ou da clorexidina e a área do pico do padrão interno. Traçar uma curva de calibração colocando estas relações em ordenada e as concentrações correspondentes do conservante identificado nas soluções-padrão, em microgramas por mililitro, em abcissa.

7.4.3. A partir da curva de calibração (7.4.2), ler a concentração do conservante identificado correspondente à relação da área do pico calculada em 7.3.2.

8. *Cálculos*

Calcular o teor de hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina ou clorexidina da amostra, em percentagem em massa, utilizando a fórmula :

$$\% \quad (m/m) = \frac{c}{1000 \times p} \times \frac{MW_1}{MW_2}$$

em que :

p = massa, em gramas, da amostra recolhida para análise (7.2.1),

c = concentração do conservante na solução da amostra, em microgramas por mililitro, obtida a partir da curva de calibração,

MW_1 = peso molecular da forma básica do conservante presente,

MW_2 = peso molecular do sal correspondente (ver ponto 10).

9. *Repetibilidade* (1)

Para uma concentração de 0,1 % (m/m) de hexamidina, dibromohexamidina, dibromopropamidina ou clorexidina, a diferença entre os resultados de duas determinações paralelas, efectuadas na mesma amostra, não pode ser superior a 0,005 %.

10. *Quadro de pesos de fórmula*

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

(1) ISO 5725.