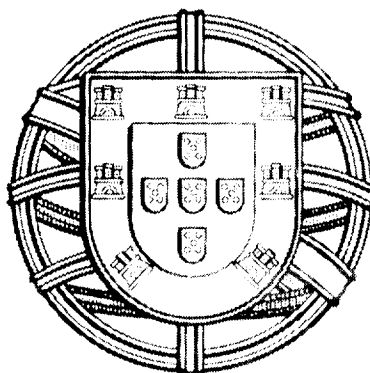




I - B

S É R I E

Esta 1.ª série do *Diário da República* é apenas constituída pela parte B

DIÁRIO DA REPÚBLICA

S U M Á R I O

Ministério das Finanças

Portaria n.º 498/94:

Altera o quadro de pessoal do Gabinete dos Assuntos Europeus 3562

Despacho Normativo n.º 470/94:

Altera o Despacho Normativo n.º 342/93, de 30 de Outubro (estabelece normas relativas aos reembolsos solicitados pelos sujeitos passivos através da declaração periódica prevista no artigo 40.º do Código do IVA)..... 3562

Ministérios das Finanças e do Planeamento e da Administração do Território

Despacho Normativo n.º 471/94:

Cria no quadro de pessoal da Comissão de Coordenação da Região do Alentejo um lugar de assessor principal da carreira técnica superior, a extinguir quando vagar ... 3563

Ministérios das Finanças e dos Negócios Estrangeiros

Despacho Normativo n.º 472/94:

Cria no quadro de pessoal da Direcção-Geral dos Assuntos Comunitários nove lugares de assessor principal, a extinguir quando vagarem 3564

Ministérios das Finanças e da Saúde

Despacho Normativo n.º 473/94:

Cria no quadro de pessoal da Direcção-Geral da Saúde um lugar de assessor principal da carreira técnica superior, a extinguir quando vagar 3564

Ministérios das Finanças e do Mar

Despacho Normativo n.º 474/94:

Cria no quadro de pessoal da Direcção-Geral das Pescas um lugar de assessor principal, a extinguir quando vagar 3564

Ministério do Planeamento e da Administração do Território

Portaria n.º 499/94:

Aprova o logótipo da Inspeção-Geral da Administração do Território 3564

Ministério da Agricultura

Portaria n.º 500/94:

Estabelece que no município de Lisboa não haja áreas a integrar na Reserva Agrícola Nacional (RAN) 3565

Portaria n.º 501/94:

Sujeita ao regime cinegético especial vários prédios rústicos sítos nas freguesias de Valado dos Frades e Nazaré, município da Nazaré 3565

Portaria n.º 502/94:

Sujeita ao regime cinegético especial vários prédios rústicos sítos na freguesia de Colmeal, município de Figueira de Castelo Rodrigo 3566

Ministérios da Indústria e Energia, da Saúde e do Comércio e Turismo

Portaria n.º 503/94:

Estabelece os métodos de análise necessários ao controlo da composição dos produtos cosméticos e de higiene corporal e respectivas matérias-primas 3567

Ministério da Educação

Portaria n.º 504/94:

Divulga e aprova os pares estabelecimento/curso abrangidos pelos concursos locais de candidatura à matrícula e inscrição no ensino superior em 1994-1995 e as respectivas vagas 3598

Ministério do Emprego e da Segurança Social

Decreto Regulamentar n.º 15/94:

Define o regime jurídico dos apoios ao emprego e à formação profissional a conceder no âmbito da vertente Fundo Social Europeu do Quadro Comunitário de Apoio 3599

MINISTÉRIO DAS FINANÇAS**Portaria n.º 498/94**

de 6 de Julho

O quadro de pessoal do Gabinete dos Assuntos Europeus foi ajustado aos princípios informadores do Decreto-Lei n.º 248/85, de 15 de Julho, através da Portaria n.º 96/87, de 11 de Fevereiro.

Sem prejuízo da futura reestruturação do Gabinete, e atendendo à experiência desde a sua criação em 1986, torna-se necessário introduzir algumas adaptações nas dotações relativas às categorias da carreira técnica superior, justificadas pela especificidade de funções que lhe estão atribuídas, reduzindo, na medida do possível, o total dos efectivos.

Considerada a vantagem de concentrar na única secção existente, por economia de meios, as funções de

coordenação e chefia nas áreas administrativas e de tratamento e coordenação da vasta documentação comunitária:

Ao abrigo do n.º 2 do artigo 1.º do Decreto-Lei n.º 59/76, de 23 de Janeiro:

Manda o Governo, pelo Ministro das Finanças, que o quadro de pessoal do Gabinete dos Assuntos Europeus, constante do mapa anexo à Portaria n.º 96/87, de 11 de Fevereiro, com a alteração introduzida pela Portaria n.º 315/87, de 16 de Abril, seja alterado nos termos do mapa anexo à presente portaria e que dela faz parte integrante.

Ministério das Finanças.

Assinada em 25 de Maio de 1994.

Pelo Ministro das Finanças, *Norberto Emílio Sequeira da Rosa*, Secretário de Estado do Orçamento.

Mapa anexo à Portaria n.º 498/94

Grupo de pessoal	Área funcional	Carreira	Categoria	Número de lugares
Técnico superior	Consultadoria jurídica	Técnica superior	Assessor principal	1
	Estudos, análise e pareceres no âmbito das suas especializações em matéria orçamental e de questões europeias.		Assessor	
			Técnico superior principal	
			Técnico superior de 1.ª classe	
			Técnico superior de 2.ª classe (a)	
			Assessor principal	(b) 5
Assessor	(c) 5			
			Técnico superior principal	(c) 8
			Técnico superior de 1.ª classe	
			Técnico superior de 2.ª classe	
Administrativo	Coordenação e chefia	—	Chefe de secção (d)	1

(a) Exerce funções de mera consultadoria jurídica.

(b) Um lugar a extinguir quando vagar após o primeiro provimento.

(c) Um lugar a extinguir quando vagar.

(d) Exerce funções de coordenação e chefia nas áreas administrativa e de tratamento e codificação de documentação comunitária.

Despacho Normativo n.º 470/94

Com a publicação do Despacho Normativo n.º 342/93, de 30 de Outubro, veio regulamentar-se em novos moldes o mecanismo dos reembolsos do imposto sobre o valor acrescentado no sentido de o tornar mais adequado à realidade tributária actual, nomeadamente quanto à clarificação dos pressupostos do direito ao reembolso e à necessidade de diminuir os encargos financeiros das empresas para verem satisfeitos os seus legítimos interesses.

A experiência entretanto adquirida ao longo dos meses de vigência daquele despacho normativo aconselha a que se proceda a ajustamentos ao texto inicial, tendo em vista simplificar alguns dos seus procedimentos e facilitar a demonstração da legitimidade do reembolso.

Assim, nos termos do n.º 9 do artigo 22.º e do n.º 1 do artigo 77.º do Código do IVA, aprovado pelo

Decreto-Lei n.º 394-B/84, de 26 de Dezembro, determina-se o seguinte:

1 — Os n.ºs 2, 3 e 6 do Despacho Normativo n.º 342/93, de 30 de Outubro, passam a ter a seguinte redacção:

2 —

a)

b) Nota justificativa do reembolso, designadamente das regularizações dos campos 40 e 41, quadro 6, da declaração periódica por período de imposto a que corresponde o total do crédito, devendo ainda a referida nota conter o tipo de operação a que se refere, a identificação do sujeito passivo (NIF e denominação social) e, bem assim, o valor da regularização de IVA e respectiva base de incidência.

A nota justificativa poderá não incluir as regularizações de imposto inferior a 50 contos por documento, no total de 500 contos;

- c) Extracto conforme modelo em anexo ao presente despacho e respectivas instruções, com identificação dos seus fornecedores e do valor total de fornecimentos por cada um deles, relativamente aos períodos a que corresponde o crédito a reembolsar.

Deste extracto poderão ser excluídos os fornecedores a quem tenham sido feitas aquisições de montante inferior a 300 contos, no máximo de 5% do total das aquisições do requerente.

Tratando-se de importações (fornecimentos provenientes de países terceiros), deverão as mesmas ser comprovadas através da junção da cópia do competente documento aduaneiro (IL);

- d) Cópia do balancete sintético do Razão, relativo ao período cujo reembolso se solicita.

3 — Sem prejuízo do disposto no n.º 1, os contribuintes que solicitem reembolsos de montante superior a 1500 contos e igual ou inferior a 10 000 contos deverão remeter, nos mesmos termos do número anterior, apenas os elementos previstos nas alíneas a), b) e d).

6 — Em alternativa à garantia referida nas alíneas b) e c) do número anterior do presente despacho, podem os contribuintes:

- a) No caso de transmissões intracomunitárias, remeter declaração, conforme modelo em anexo ao presente despacho, passada pela instituição de crédito que intervém na transferência respectiva, comprovando que o montante do preço de venda foi ou vai ser liquidado através da mesma instituição;
- b) No caso de exportação para países terceiros, remeter fotocópia do documento comprovativo da exportação, passado pela competente estância aduaneira ou declaração emitida nos termos da anterior alínea a);
- c) Poderá, todavia, e a título provisório, ser aceite que, em alternativa aos documentos previstos nas alíneas a) e b), sejam remetidas fotocópias do documento de transporte ou do documento de seguro de transporte da mercadoria emitido pela empresa seguradora, acompanhadas de declaração da empresa, contendo o número das facturas, datas e valores relativos à operação praticada. Até ao final do segundo mês seguinte ao da apresentação da declaração referida no artigo 40.º do Código do IVA, deverão tais documentos ser substituídos pela declaração referida na alínea a) ou pelo documento alfandegário mencionado na alínea b);

- d) Relativamente às operações referidas nas alíneas a) e b), poderá ser aceite como razoável um diferencial entre o total daquelas operações e o valor comprovado através das declarações referidas nas mesmas alíneas, até ao limite de 10% do valor total das operações declaradas, no máximo de 10 000 contos.

2 — As presentes alterações produzem efeitos à data da sua publicação.

Ministério das Finanças, 26 de Maio de 1994. —
O Secretário de Estado dos Assuntos Fiscais, *Vasco Jorge Valdez Ferreira Matias*.

Anexo ao Despacho Normativo n.º 470/94

DECLARAÇÃO

Para efeitos do disposto na alínea a) do n.º 6 do Despacho Normativo n.º 342/93, de 30 de Outubro, o Banco _____, com sede em _____, contribuinte n.º _____, declara que teve intervenção nas operações a seguir indicadas, efectuadas pela empresa _____, sediada em _____, contribuinte n.º _____, no montante de PTE _____ \$, e que o respectivo preço de venda foi ou vai ser liquidado através desta instituição.

N.º OPERACÃO	FACTURA	DATA	MONTANTE	CONTRAVALOR
--------------	---------	------	----------	-------------

Data, _____

Banco _____

Assinaturas

Selo Branco

A)

- A) Papel timbrado da Instituição e assinatura dos intervenientes com a devida identificação.

MINISTÉRIOS DAS FINANÇAS E DO PLANEAMENTO E DA ADMINISTRAÇÃO DO TERRITÓRIO

Despacho Normativo n.º 471/94

Considerando que em 31 de Dezembro de 1991 cessou a comissão de serviço da licenciada Lina Maria Branco de Freitas Jan, à data directora regional do Ambiente e Recursos Naturais, da Comissão de Coordenação da Região do Alentejo;

Considerando o disposto na alínea a) do n.º 2 do artigo 18.º do Decreto-Lei n.º 323/89, de 26 de

Setembro, e nos n.ºs 4 e 5 do mesmo artigo e diploma:

Determina-se o seguinte:

1 — É criado no quadro de pessoal da Comissão de Coordenação da Região do Alentejo, a que se refere o mapa anexo XIX ao Decreto-Lei n.º 272/91, de 7 de Agosto, um lugar de assessor principal da carreira técnica superior, a extinguir quando vagar.

2 — A criação do lugar previsto no número anterior produz efeitos a partir de 31 de Dezembro de 1991.

Ministérios das Finanças e do Planeamento e da Administração do Território, 30 de Maio de 1994. — Pelo Ministro das Finanças, *Norberto Emílio Sequeira da Rosa*, Secretário de Estado do Orçamento. — O Ministro do Planeamento e da Administração do Território, *Luís Francisco Valente de Oliveira*.

MINISTÉRIOS DAS FINANÇAS E DOS NEGÓCIOS ESTRANGEIROS

Despacho Normativo n.º 472/94

Considerando o disposto no artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 34/93, de 13 de Fevereiro, e nos n.ºs 6, 7 e 8 do artigo 18.º do Decreto-Lei n.º 323/89, de 26 de Setembro, na redacção que lhes foi conferida pelo artigo 1.º daquele diploma;

Considerando que Adelaide Maria Monteiro Sereno Seita Duarte, Rui Manuel de Carvalho Marques, Maria Benedita Pereira da Fonseca Tinoca, Luís Inês Fernandes, Maria Isabel Carreira de Vila Santa Braga Campos, Alzira da Encarnação Cabrita, Henny Adèle Val Faden da Silva, João Paulo Viana Palha da Silva e Maria Cecília Sarreira Antolin, técnicos superiores do quadro de pessoal da Direcção-Geral das Comunidades Europeias em exercício de funções dirigentes, reúnem os requisitos legais para acesso à categoria de assessor principal e requereram, ao abrigo do n.º 7 do artigo 18.º do Decreto-Lei n.º 323/89, de 26 de Setembro, na redacção que lhes foi conferida pelo artigo 1.º do Decreto-Lei n.º 34/93, de 13 de Fevereiro, a criação dos necessários lugares:

Determina-se que sejam criados no quadro de pessoal da Direcção-Geral das Comunidades Europeias, aprovado pelo Decreto-Lei n.º 344/91, de 17 de Setembro, actualmente designada «Direcção-Geral dos Assuntos Comunitários», nove lugares de assessor principal, a extinguir quando vagarem.

Ministérios das Finanças e dos Negócios Estrangeiros, 26 de Maio de 1994. — Pelo Ministro das Finanças, *Norberto Emílio Sequeira da Rosa*, Secretário de Estado do Orçamento. — Pelo Ministro dos Negócios Estrangeiros, *Vítor Ângelo da Costa Martins*, Secretário de Estado dos Assuntos Europeus.

MINISTÉRIOS DAS FINANÇAS E DA SAÚDE

Despacho Normativo n.º 473/94

Considerando que em 6 de Outubro de 1993 cessou a comissão de serviço o licenciado José Carlos Júlio

Sanches de Brito, à data chefe de divisão da Direcção-Geral dos Cuidados de Saúde Primários;

Considerando o disposto no artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 34/93, de 13 de Fevereiro, e nos n.ºs 6 e 8 do artigo 18.º do Decreto-Lei n.º 323/89, de 26 de Setembro, na redacção dada pelo artigo 1.º daquele diploma:

Determina-se o seguinte:

1 — É criado no quadro de pessoal da Direcção-Geral da Saúde, aprovado pela Portaria n.º 1105/93, de 2 de Novembro, um lugar de assessor principal da carreira técnica superior, a extinguir quando vagar.

2 — Os efeitos decorrentes da criação do lugar referido no número anterior reportam-se a 6 de Outubro de 1993.

Ministérios das Finanças e da Saúde, 17 de Maio de 1994. — Pelo Ministro das Finanças, *Norberto Emílio Sequeira da Rosa*, Secretário de Estado do Orçamento. — O Ministro da Saúde, *Adalberto Paulo da Fonseca Mendo*.

MINISTÉRIOS DAS FINANÇAS E DO MAR

Despacho Normativo n.º 474/94

Considerando que em 26 de Setembro de 1993 cessou a comissão de serviço a licenciada Maria Isabel Vassalo Fernandes Cruz, à data chefe de divisão do Desenvolvimento Empresarial da Direcção-Geral das Pescas;

Considerando o disposto no artigo 3.º do Decreto-Lei n.º 34/93, de 13 de Fevereiro, e nos n.ºs 6 e 8 do artigo 18.º do Decreto-Lei n.º 323/89, de 26 de Setembro, na redacção dada pelo artigo 1.º daquele diploma:

Determina-se o seguinte:

1 — É criado no quadro de pessoal da Direcção-Geral das Pescas, aprovado pela Portaria n.º 15/94, de 6 de Janeiro, um lugar de assessor principal, a extinguir quando vagar.

2 — Os efeitos decorrentes da criação do lugar referido no número anterior reportam-se a 26 de Setembro de 1993.

Ministérios das Finanças e do Mar, 1 de Junho de 1994. — Pelo Ministro das Finanças, *Norberto Emílio Sequeira da Rosa*, Secretário de Estado do Orçamento. — Pelo Ministro do Mar, *João Prates Bebiano*, Secretário de Estado Adjunto e das Pescas.

MINISTÉRIO DO PLANEAMENTO E DA ADMINISTRAÇÃO DO TERRITÓRIO

Portaria n.º 499/94

de 6 de Julho

Pelas suas atribuições e competências, a Inspecção-Geral da Administração do Território exerce um pa-

pel fundamental como órgão de fiscalização superior do Ministério e como órgão executivo do exercício da tutela inspectiva do Governo, competindo-lhe a função de averiguar o cumprimento das obrigações impostas por lei aos serviços centrais e regionais do Ministério, às autarquias locais, suas associações e federações e ainda fiscalizar e acompanhar a utilização dos fundos oriundos das Comunidades Europeias.

Visando a institucionalização de formas de cooperação e diálogo entre os diversos intervenientes no ordenamento, planeamento e desenvolvimento regional, considera-se conveniente criar um símbolo que possibilite facilmente a respectiva identificação.

Assim:

Manda o Governo, pelo Ministro do Planeamento e da Administração do Território, ao abrigo do disposto na alínea d) do artigo 202.º da Constituição, o seguinte:

1.º A Inspeção-Geral da Administração do Território adopta como símbolo de identificação o logótipo que se produz em anexo.

2.º Fica interdita a reprodução ou imitação, no todo ou em parte ou em acréscimo, para quaisquer fins, do símbolo referido no número anterior por quaisquer outras entidades públicas ou privadas.

3.º A presente portaria entra imediatamente em vigor.

Ministério do Planeamento e da Administração do Território.

Assinada em 27 de Maio de 1994.

O Ministro do Planeamento e da Administração do Território, *Luís Francisco Valente de Oliveira*.

Inspeção-Geral da Administração do Território

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA

Portaria n.º 500/94

de 6 de Julho

Considerando o Decreto-Lei n.º 196/89, de 14 de Junho, que estabelece o regime jurídico da Reserva Agrícola Nacional (RAN);

Considerando que toda a área do município de Lisboa foi objecto de um Plano Geral de Urbanização e que nela não existem áreas afectas à agricultura;

Ao abrigo do disposto no artigo 5.º do Decreto-Lei n.º 196/89, de 14 de Junho:

Manda o Governo, pelo Ministro da Agricultura, que no município de Lisboa não haja áreas a integrar na Reserva Agrícola Nacional.

Ministério da Agricultura.

Assinada em 15 de Junho de 1994.

Pelo Ministro da Agricultura, *Álvaro dos Santos Amaro*, Secretário de Estado da Agricultura.

Portaria n.º 501/94

de 6 de Julho

Com fundamento no disposto nos artigos 19.º, 20.º, 21.º e 26.º da Lei n.º 30/86, de 27 de Agosto, e 80.º e 81.º do Decreto-Lei n.º 251/92, de 12 de Novembro;

Ouvido o Conselho Nacional da Caça e da Conservação da Fauna:

Manda o Governo, pelo Ministro da Agricultura, o seguinte:

1.º Ficam sujeitos ao regime cinegético especial os prédios rústicos englobados pela poligonal constante da planta anexa ao presente diploma, que dele faz parte integrante, sitos nas freguesias de Valado dos Frades e Nazaré, município da Nazaré, com uma área de 2885,67 ha.

2.º Pelo presente diploma é concessionada, pelo período de 15 anos, à Associação de Caça e Pesca da Vila de Valado de Frades (registo no Instituto Florestal n.º 3.1040.91), com sede na Estrada Nacional n.º 8-5, Nazaré, a zona de caça associativa de Valado de Frades (processo n.º 1372 do Instituto Florestal).

3.º A Associação de Caça e Pesca da Vila de Valado de Frades, como entidade gestora da zona de caça associativa concedida pelo presente diploma, fica obrigada a cumprir e a fazer cumprir o plano de ordenamento e exploração cinegética aprovado e demais disposições legais e regulamentares do exercício da caça que lhe forem aplicáveis, sem prejuízo da responsabilidade pessoal dos infractores.

4.º Nesta zona de caça associativa é facultado o exercício venatório a todos os associados da Associação de Caça e Pesca da Vila de Valado de Frades, com observância das regras legais e das suas normas estatutárias e regulamentares.

5.º — 1 — A zona de caça associativa será obrigatoriamente sinalizada com tabuletas do modelo n.º 3 definido na Portaria n.º 697/88, de 17 de Outubro, conjuntamente com o sinal do modelo anexo à Portaria n.º 569/89, de 22 de Julho.

2 — A sinalização obedecerá às condições definidas nos n.ºs 6.º a 9.º da Portaria n.º 697/88, 3.º e 4.º da Portaria n.º 569/89 e 6.º e 7.º da Portaria n.º 219-A/91, de 18 de Março.

6.º Os prédios rústicos que integram esta zona de caça associativa, nos termos do disposto no artigo 66.º do Decreto-Lei n.º 251/92, para efeitos de polícia e fiscalização da caça, ficam submetidos ao regime florestal, obrigando-se a concessionária a manter dois guardas florestais auxiliares dotados de meio de transporte, com observância do disposto no n.º 7.º, n.ºs 2 e 3, da Portaria n.º 219-A/91.

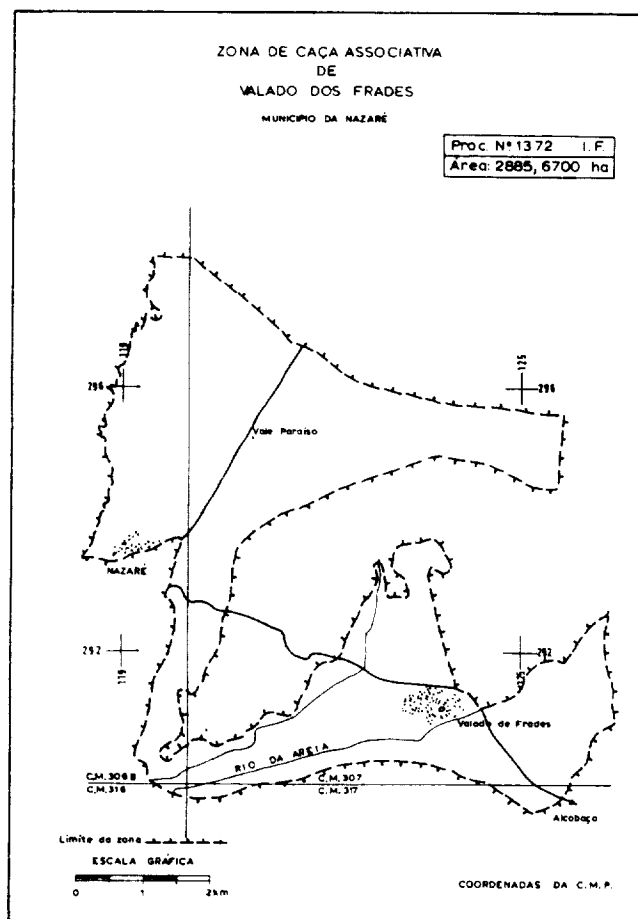
7.º O disposto no presente diploma não é aplicável às áreas consignadas no artigo 14.º, n.ºs 1 e 2, da Lei n.º 30/86, de 27 de Agosto.

8.º Esta concessão é renovável nos termos do disposto no artigo 83.º do Decreto-Lei n.º 251/92.

Ministério da Agricultura.

Assinada em 17 de Junho de 1994.

Pelo Ministro da Agricultura, *Álvaro dos Santos Amaro*, Secretário de Estado da Agricultura.



Portaria n.º 502/94

de 6 de Julho

Com fundamento no disposto nos artigos 19.º, 20.º, 21.º e 27.º da Lei n.º 30/86, de 27 de Agosto, e 80.º e 81.º do Decreto-Lei n.º 251/92, de 12 de Novembro;

Ouvido o Conselho Nacional da Caça e da Conservação da Fauna:

Manda o Governo, pelo Ministro da Agricultura, o seguinte:

1.º Ficam sujeitos ao regime cinegético especial os prédios rústicos englobados pela poligonal constante da planta anexa ao presente diploma, que dele faz parte integrante, sitos na freguesia de Colmeal, município de Figueira de Castelo Rodrigo, com uma área de 2000 ha.

2.º Pelo presente diploma é concessionada, pelo período de 15 anos, a Paulo Jorge Ramos de Meireles Pereira, entidade equiparada a pessoa colectiva com o n.º 813294762 e sede na Rua da Vigorosa, 594, 3.º, Porto, a zona de caça turística dos Luzelos (processo n.º 1555 do Instituto Florestal).

3.º Paulo Jorge Ramos de Meireles Pereira, como entidade gestora da zona de caça turística concedida pelo presente diploma, fica obrigado a cumprir e a fazer cumprir o plano de ordenamento e exploração cinegético aprovado e demais disposições legais e regulamentares do exercício da caça que lhe forem aplicáveis, sem prejuízo da responsabilidade pessoal dos infractores.

4.º Nesta zona de caça turística é facultado o exercício venatório a todos os caçadores em igualdade de

circunstâncias, quando devidamente licenciados pela entidade gestora.

5.º — 1 — A zona de caça turística será obrigatoriamente sinalizada com tabuletas do modelo n.º 4 definido na Portaria n.º 697/88, de 17 de Outubro, conjuntamente com o sinal do modelo anexo à Portaria n.º 569/89, de 22 de Julho.

2 — A sinalização obedecerá às condições definidas nos n.ºs 6.º a 9.º da Portaria n.º 697/88, 3.º e 4.º da Portaria n.º 569/89 e 6.º e 7.º da Portaria n.º 219-A/91, de 18 de Março.

6.º Os prédios rústicos que integram esta zona de caça turística, nos termos do disposto no artigo 66.º do Decreto-Lei n.º 251/92, para efeitos de polícia e fiscalização da caça, ficam submetidos ao regime florestal, obrigando-se o concessionário a manter um guarda florestal auxiliar dotado de meio de transporte, com observância do disposto no n.º 7.º, n.ºs 2 e 3, da Portaria n.º 219-A/91.

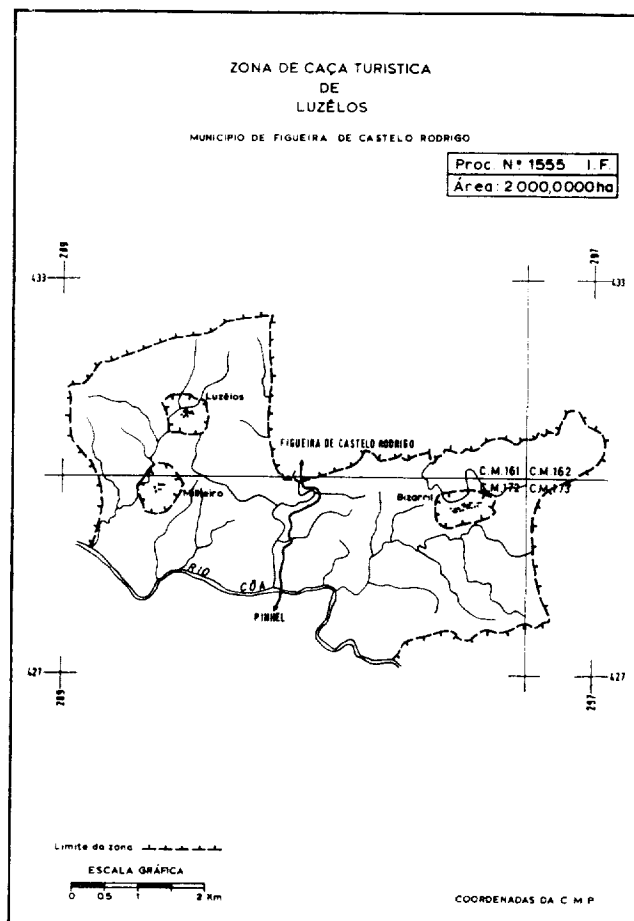
7.º O disposto no presente diploma não é aplicável às áreas consignadas no artigo 14.º, n.ºs 1 e 2, da Lei n.º 30/86, de 27 de Agosto.

8.º Esta concessão é renovável nos termos do disposto no artigo 83.º do Decreto-Lei n.º 251/92.

Ministério da Agricultura.

Assinada em 8 de Junho de 1994.

Pelo Ministro da Agricultura, *Álvaro dos Santos Amaro*, Secretário de Estado da Agricultura.



MINISTÉRIOS DA INDÚSTRIA E ENERGIA, DA SAÚDE E DO COMÉRCIO E TURISMO

Portaria n.º 503/94

de 6 de Julho

O Decreto-Lei n.º 128/86, de 3 de Junho, ao estabelecer regras que disciplinam o mercado de produtos cosméticos e de higiene corporal, prevê a adopção de um sistema de controlo de qualidade daqueles produtos.

A implementação de um tal sistema reveste-se de manifesta vantagem quer para os industriais, que vêm deste modo os seus produtos prestigiados, quer para os cidadãos, que vêm assim os seus direitos devidamente acautelados.

Pretende-se com este diploma estabelecer métodos de amostragem e de análise que permitam um controlo oficial dos produtos cosméticos e de higiene corporal, de forma a garantir que os princípios e as restrições impostos pelas sucessivas portarias de adaptação ao progresso técnico que neste domínio vêm sendo publicadas são respeitados.

Para além dos objectivos referidos, o presente diploma visa uma harmonização da legislação nacional com as seguintes directivas do Conselho das Comunidades Europeias:

Directiva n.º 80/1335/CEE, de 22 de Dezembro;
Directiva n.º 82/434/CEE, de 14 de Maio;
Directiva n.º 83/514/CEE, de 27 de Setembro;
Directiva n.º 85/490/CEE, de 11 de Outubro;
Directiva n.º 87/143/CEE, de 10 de Fevereiro;
Directiva n.º 90/207/CEE, de 4 de Abril.

Assim, nos termos do disposto na alínea *a*) do n.º 1 do artigo 10.º do Decreto-Lei n.º 128/86, de 3 de Junho:

Manda o Governo, pelos Ministros da Indústria e Energia, da Saúde e do Comércio e Turismo, que o controlo da composição dos produtos cosméticos e de higiene corporal e respectivas matérias-primas seja efectuado de acordo com os métodos de análise constantes do anexo a este diploma e que dele faz parte integrante.

Ministérios da Indústria e Energia, da Saúde e do Comércio e Turismo.

Assinada em 17 de Março de 1994.

O Ministro da Indústria e Energia, *Luís Fernando Mira Amaral*. — O Ministro da Saúde, *Adalberto Paulo da Fonseca Mendo*. — O Ministro do Comércio e Turismo, *Fernando Manuel Barbosa Faria de Oliveira*.

ANEXO

Métodos de análise necessários ao controlo da composição dos produtos cosméticos

1.ª PARTE

Amostragem dos produtos cosméticos

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O presente documento descreve as modalidades de amostragem dos produtos cosméticos, tendo em vista a sua análise nos diferentes laboratórios.

2 — Definições:

Amostra elementar: unidade levantada num lote destinado a venda.

Amostra global: conjunto de amostras elementares portadoras de um só número de lote.

Amostra de laboratório: parte representativa da amostra global destinada a um laboratório de análises.

Tomada de ensaio: parte representativa da amostra de laboratório necessária para uma análise.

Recipiente: objecto que pode conter um produto e que está em contacto directo e permanente com este produto.

3 — Amostragem:

3.1 — Os produtos cosméticos são retirados dos seus acondicionamentos de origem e enviados tal qual aos laboratórios.

3.2 — Para os produtos cosméticos a granel e em unidades que tiverem uma embalagem diferente da embalagem original serão estabelecidas prescrições especiais com vista à amostragem.

3.3 — As normas analíticas e o número de análises a efectuar por cada laboratório determinam o número de amostras elementares necessário para preparar a amostra de laboratório.

4 — Identificação de amostras:

4.1 — As amostras colhidas devem ser seladas no local da colheita e devidamente identificadas.

4.2 — Cada amostra elementar deve possuir as indicações seguintes:

Identificação do produto cosmético e de higiene corporal, com referência ao nome e número de lote;
Data, hora e local da colheita;
Nome da pessoa que efectua a colheita;
Nome da entidade que efectua o controlo.

4.3 — Deve ser lavrado um auto de amostragem de acordo com normas estabelecidas.

5 — Armazenagem das amostras:

5.1 — As amostras elementares devem ser armazenadas segundo as indicações do fabricante inscritas no rótulo.

5.2 — Na falta de indicações especiais, todas as amostras devem ser guardadas ao abrigo da luz e a temperatura compreendida entre 10°C e 25°C.

5.3 — As amostras elementares só deverão ser abertas no início da análise.

2.ª PARTE

Tratamento das amostras de laboratório

1 — Generalidades:

1.1 — A determinação analítica é efectuada em cada uma das amostras elementares ou, se a quantidade for insuficiente, num número mínimo de amostras elementares previamente homogeneizadas.

1.2 — Abrir o recipiente, sob gás inerte, se o método de análise o especificar, e tirar o número necessário de tomadas de ensaio o mais rapidamente possível. A análise deverá ser efectuada no mais curto prazo de tempo. Se a amostra tiver de ser conservada, tornar a fechar cuidadosamente o recipiente sob gás inerte.

1.3 — Os produtos cosméticos podem apresentar-se em três estados: líquido, pastoso e sólido.

Se os produtos cosméticos, em embalagem de origem, apresentarem separação de fases, devem ser previamente homogeneizados.

1.4 — Se um produto cosmético é acondicionado sob uma forma que torne impossível o seu tratamento em conformidade com as presentes directrizes e que não está prevista nos métodos de análise, pode adoptar-se uma técnica específica, que deverá ser descrita pormenorizadamente no relatório final.

2 — Estado líquido:

2.1 — Neste estado encontram-se, nomeadamente, produtos como água de *toilette*, loção, solução, óleo e leite, os quais podem ser acondicionados em frasco, garrafa, ampola ou bisnaga.

2.2 — Tomada de ensaio:

Agitar vigorosamente o recipiente antes de abrir;

Abrir de acordo com as condições especificadas;

Deitar alguns mililitros do líquido num tubo de ensaio, a fim de examinar visualmente as suas características com vista à colheita;

Fechar o recipiente; ou

Efectuar as tomadas de ensaio necessárias à análise e fechar de novo o recipiente.

3 — Estado pastoso:

3.1 — Neste estado encontram-se, nomeadamente, produtos tais como creme, emulsão e gele, os quais podem ser acondicionados em bisnaga, frasco flexível ou boião.

3.2 — Tomada de ensaio:

Dois casos são possíveis:

3.2.1 — Recipiente com abertura estreita (bisnaga, frasco flexível). — Eliminar pelo menos o primeiro centímetro do produto a analisar. Efectuar a tomada de ensaio e fechar o recipiente imediatamente.

3.2.2 — Recipiente com abertura larga (boião). — Raspar ligeiramente a superfície, a fim de eliminar a camada superficial. Efectuar a tomada de ensaio e fechar imediatamente o recipiente.

4 — Estado sólido:

4.1 — Neste estado encontram-se, nomeadamente, produtos tais como pó, pó compacto, *bâton* e bloco, que podem ser acondicionados em caixa ou estojo.

4.2 — Tomada de ensaio:

Dois casos são possíveis:

4.2.1 — Pó. — Antes de tirar a cápsula ou tampa, agitar o pó o mais vigorosamente possível. Destapar e efectuar a tomada de ensaio.

4.2.2 — Pó compacto, *bâton* ou bloco. — Eliminar, por leve raspagem, a camada superficial do sólido e efectuar a tomada de ensaio.

5 — Produtos acondicionados sob pressão de gás:

5.1 — Estes produtos são definidos no artigo 1.º do Decreto-Lei n.º 108/92, de 2 de Junho.

5.2 — Tomada de ensaio:

Após agitação vigorosa, uma parte representativa do conteúdo do recipiente é transvasada com a ajuda de um dispositivo de recolha para um frasco de vidro plastificado transparente provido de uma válvula. Este frasco não tem tubo mergulhador. Em casos particulares, o método de análise poderá prever outros dispositivos de recolha.

Quatro situações se podem apresentar:

5.2.1 — Se o conteúdo é uma solução homogénea, está pronto para análise.

5.2.2 — Se o conteúdo é constituído por duas fases líquidas, a análise de cada uma das fases pode ser efectuada após transferência da fase inferior para um segundo frasco. Esta fase é muitas vezes aquosa e já não contém gás propulsor (caso butano/água). Neste caso, aquando da transferência, o colo do frasco deve ser orientado para baixo (figura 4).

5.2.3 — Se o conteúdo é constituído por pó em suspensão, pode analisar-se a fase líquida após a separação do pó.

5.2.4 — Se o conteúdo é constituído por espuma, introduzir previamente no frasco de colheita uma quantidade conhecida, por pesagem de 2-metoxi-etanol (5 g a 10 g). Aquando da desgaseificação, o 2-metoxi-etanol impede a formação de espuma, sendo assim já possível separar os gases propulsores sem perder líquido.

5.3 — Aparelhagem:

O dispositivo de recolha (figura 1) é fabricado em duralumínio ou latão. Este dispositivo, descrito a título de exemplo, é concebido para se adaptar aos diferentes tipos de válvula, por intermédio de uma ligação em polietileno. Outros dispositivos de recolha podem ser utilizados (figuras 2 e 3).

O dispositivo de recolha é de vidro branco revestido exteriormente de uma protecção plastificada transparente. A sua capacidade é de 50 ml a 100 ml. É equipada com uma válvula e não tem tubo mergulhador (figura 4).

5.4 — Técnica:

Para transferir uma quantidade suficiente de produto, é necessário libertar o frasco de colheita do ar que contém. Para isso, e com a ajuda do dispositivo de recolha, introduzir cerca de 10 ml de diclorodifluorometano ou de butano, consoante a natureza do produto a examinar. A seguir, desgaseificar totalmente até desaparecimento da fase líquida, sendo o frasco mantido com a válvula para cima. Retirar o dispositivo de recolha e tarar o frasco de colheita (*a*) em gramas. Agitar vigorosamente o recipiente do qual se deve retirar a amostra. Adaptar o dispositivo de recolha à válvula do recipiente, colocado com a válvula para cima, adaptar o frasco da colheita, o colo para baixo, no dispositivo de recolha e carregar. Encher o frasco de colheita até cerca de dois terços.

Se a transferência parar prematuramente devido ao equilíbrio das pressões, é possível prosseguir arrefecendo o frasco de colheita. Retirar o dispositivo de recolha e pesar o frasco (*b*), em gramas, a fim de determinar a massa do produto transferido (*m*₁) (*m*₁ = *b* - *a*).

A amostra assim obtida pode ser utilizada:

Para a análise química habitual;

Para uma análise das substâncias voláteis por cromatografia em fase gasosa.

5.4.1 — Análise química:

Efectuar as operações seguintes, mantendo o frasco de colheita com o colo para cima:

Desgaseificar. Se a desgaseificação provocar a formação de espuma, utilizar um frasco de colheita contendo uma quantidade exactamente pesada de 2-metoxi-etanol (5 g a 10 g), introduzida por meio de uma seringa, por intermédio do dispositivo de recolha;

Terminar a eliminação quantitativa das substâncias voláteis, agitar num banho termostático a 40°C. Retirar o dispositivo de recolha;

Pesar (*c* gramas), a fim de determinar a massa do resíduo (*m*₂), sendo *m*₂ = *c* - *a*. Para o cálculo do peso do resíduo, ter em consideração a quantidade de 2-metoxi-etanol introduzida, se for caso disso;

Abriu o frasco, retirando-lhe a válvula;

Dissolver quantitativamente o resíduo numa quantidade conhecida de solvente apropriado;

Efectuar o doseamento considerado numa parte alíquota.

Cálculo:

$$R = \frac{r \cdot m_2}{m_1} \text{ e } Q = \frac{R \cdot P}{100}$$

em que:

*m*₁ = massa de produto transferido para o frasco de recolha;

*m*₂ = massa do resíduo após aquecimento a 40°C;

r = percentagem da substância doseada em *m*₂, determinada por método apropriado;

R = percentagem da substância doseada na totalidade do produto;

Q = quantidade total absoluta da substância doseada na totalidade do produto;

P = massa líquida do produto total acondicionado antes do início das operações.

5.4.2 — Análise das substâncias voláteis por cromatografia em fase gasosa:

5.4.2.1 — Princípio:

Do frasco de colheita, retirar a quantidade de líquido apropriada com a seringa de gases e injectar o conteúdo da seringa no cromatógrafo.

5.4.2.2 — Aparelhagem:

Seringa de gases (figura 5). *Precision sampling series A2*, ou seringa equivalente. — Esta seringa tem uma válvula corredeira na sua extremidade-agulha. A ligação da seringa ao frasco de colheita é efectuada por meio de um adaptador do lado do frasco e de um tubo em polietileno do lado da seringa com 8 mm de comprimento e 2,5 mm de diâmetro.

5.4.2.3 — Técnica:

Após ter transferido uma quantidade apropriada do produto para o frasco de colheita, por meio do dispositivo de recolha, adaptar a seringa ao frasco de colheita, tal como indicado no n.º 5.4.2.2. Com a válvula na posição aberta, aspirar uma quantidade apropriada de líquido. Eliminar as bolhas gasosas por vaivém sucessivo do pistão, arrefecendo a seringa, se necessário. Logo que o líquido contido na seringa não apresentar bolhas, fechar a válvula e puxar a seringa para fora do frasco de colheita. Adaptar uma agulha e, após introdução no injector do cromatógrafo, abrir a válvula e injectar.

5.4.2.4 — Padrão interno:

Se for necessário, utilizar um padrão interno. Este pode ser introduzido no frasco de colheita por meio de uma seringa, por intermédio do dispositivo de recolha.

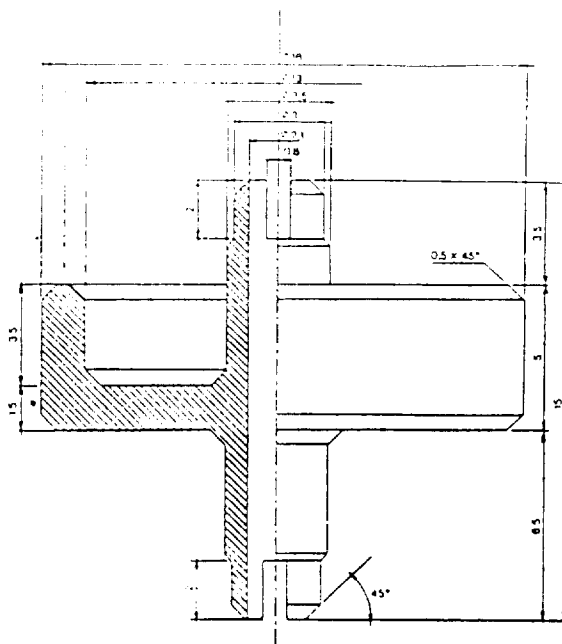


Fig. 1

Dispositivo de recolha

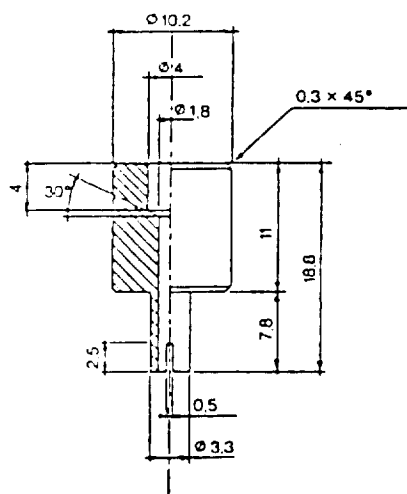


Fig. 2

Tubo de ligação M2 — Ajustado por uma válvula que apresenta uma extremidade macho e uma válvula que apresenta uma extremidade fêmea

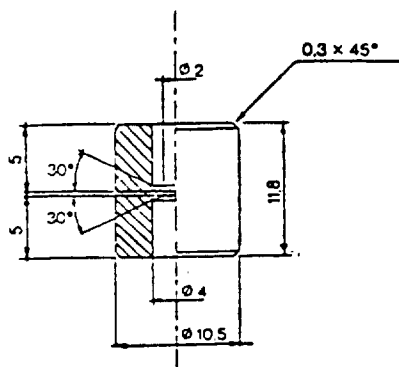


Fig. 3

Tubo de ligação M1 — Ajustado por duas válvulas que apresentam uma extremidade macho



Fig. 4

Frasco da colheita — Capacidade: 50 ml a 100 ml



Fig. 5

Seringa de gases

3.ª PARTE

Ensalos

CAPÍTULO I

Ácido fenolsulfónico — Identificação e doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve a identificação e o doseamento do ácido fenolsulfónico nos produtos cosméticos, tais como aerossóis e loções faciais.

2 — Definição:

O teor da amostra em ácido fenolsulfónico determinado segundo este método é expresso em percentagem de massa de fenolsulfonato de zinco anidro.

3 — Princípio:

A amostra destinada ao exame é concentrada, sob pressão reduzida, dissolvida em água e purificada por extracção com clorofórmio. O doseamento do ácido fenolsulfónico é efectuado por bromodimetria numa alíquota da solução aquosa filtrada.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Ácido clorídrico concentrado a 36 % ($d_{4}^{20} = 1,18$).

4.2 — Clorofórmio.

4.3 — 1-butanol.

4.4 — Ácido acético glacial.

4.5 — Iodeto de potássio.

4.6 — Brometo de potássio.

4.7 — Carbonato de sódio.

4.8 — Ácido sulfanílico.

4.9 — Nitrito de sódio.

4.10 — Solução de bromato de potássio 0,1 N.

4.11 — Solução de tiosulfato de sódio 0,1 N.

4.12 — Solução aquosa de amido a 1 % (m/v).

4.13 — Solução aquosa de carbonato de sódio a 2 % (m/v).

4.14 — Solução aquosa de nitrito de sódio a 4,5 % (m/v).

4.15 — Solução de ditizona a 0,05 % (m/v) em clorofórmio.

4.16 — Eluente: 1-butanol, ácido acético glacial, água (4:1:5, em volume). Após mistura numa ampola de decantação, elimina-se a fase inferior.

4.17 — Reagente de Pauly:

Dissolver, aquecendo, 4,5 g de ácido sulfanílico (4.8) em 45 ml de ácido clorídrico concentrado (4.1) e diluir com água até 500 ml. Deixar arrefecer 10 ml da solução num recipiente com água gelada e acrescentar 10 ml, agitando, de uma solução fria de nitrito de sódio (4.14). Deixar repousar esta mistura durante quinze minutos a 0°C (a esta temperatura, a solução é estável durante um a três dias) e acrescentar 20 ml de solução de carbonato de sódio (4.13) antes de pulverização.

4.18 — Placas de celulose já preparadas para a cromatografia em camada fina, formato 20 cm x 20 cm; espessura da camada absorvente: 0,25 mm.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Balões de fundo redondo de 100 ml.

5.2 — Ampola de decantação de 100 ml.

5.3 — Matrasses de 250 ml.

5.4 — Bureta de 25 ml.

5.5 — Pipetas com capacidades de 1 ml, 2 ml e 10 ml.

5.6 — Pipeta graduada de 5 ml.

5.7 — Seringa para injeção de 10 µl, graduada a um décimo de microlitro.

5.8 — Termómetro graduado de 0°C a 100°C.

5.9 — Banho-maria, termostático.

5.10 — Estufa bem ventilada e regulada a 80°C.

5.11 — Acessórios usuais para a cromatografia em camada fina.

6 — Preparação da amostra:

Para identificação e doseamento do ácido fenolsulfónico nos aerossóis como são descritos abaixo, utiliza-se o resíduo obtido, depois de libertar o conteúdo do aerossol dos solventes e propulsores que são voláteis sob uma pressão normal.

7 — Identificação:

7.1 — Em seis pontos da linha de partida situada a 1 cm da parte de baixo da placa de celulose (4.18) pôr sucessivamente, por meio de uma seringa para injeção (5.7), 5 µl do resíduo (6) ou da amostra.

7.2 — Colocar a placa numa tina contendo já o solvente de desenvolvimento (4.16) e esperar que a frente do solvente tenha atingido uma linha situada a 15 cm da linha de partida.

7.3 — Retirar a placa da tina e secar a 80°C até à evaporação total do ácido acético. Pulverizar a placa com solução de carbonato de sódio (4.13) e deixar secar ao ar.

7.4 — Cobrir metade da placa com uma placa de vidro e pulverizar com a solução de ditizona a 0,05 % (4.15) sobre a metade não coberta. Em presença de iões zinco, manchas vermelhas-lilás aparecem no cromatograma.

7.5 — Cobrir de seguida com uma placa de vidro a metade da placa que recebeu a pulverização de ditizona e pulverizar com o reagente de Pauly (4.17) sobre a outra metade; em presença de ácido fenol-sulfónico, aparecem no cromatograma uma mancha castanha-amarelada (ácido *p*-fenolsulfónico) com um valor de *R_f* vizinho de 0,26 e uma mancha amarela (ácido *m*-fenolsulfónico) com um valor de *R_f* vizinho de 0,45.

8 — Doseamento:

8.1 — Pesar 10 g de amostra ou de resíduo (6) num balão com fundo redondo de 100 ml e concentrar a vácuo por meio de evaporador rotativo em banho-maria a 40°C.

8.2 — Com uma pipeta, deitar 10 ml de água (*V*₁) num balão e dissolver o resíduo de evaporação (8.1) a quente.

8.3 — Transferir quantitativamente a solução para uma ampola de decantação (5.2) e extrair por duas vezes com 20 ml de clorofórmio (4.2). Após cada extracção, rejeitar a fase clorofórmica.

8.4 — Filtrar a solução aquosa através de um filtro de pregas. Em função do teor previsto em ácido fenolsulfónico, pipetar 1 ml ou 2 ml (*V*₂) do filtrado para um matrás de 250 ml (5.3) e diluir com água até obtenção de 75 ml da solução.

8.5 — Juntar 2,5 ml de ácido clorídrico a 36 % (4.1) e 2,5 g de bromato de potássio (4.6), misturar e aquecer a solução a 50°C em banho-maria.

8.6 — Por meio de uma bureta, juntar a quantidade de solução de bromato de potássio 0,1 *N* (4.10) necessária para a coloração da solução passar a amarelo, mantendo a temperatura a 50°C.

8.7 — Juntar 3 ml de solução de bromato de potássio (4.10), fechar e colocar dez minutos em banho-maria a 50°C. Se, passados estes dez minutos, a coloração desapareceu, acrescentar ainda 2 ml de solução de bromato de potássio (4.10) e colocar de novo o frasco rolhado durante dez minutos suplementares em banho-maria a 50°C. Anotar a quantidade total de solução de bromato de potássio acrescentada (*a*).

8.8 — Arrefecer a solução à temperatura ambiente, juntar 2 g de iodeto de potássio (4.5) e misturar.

8.9 — Por meio de uma solução de tiosulfato de sódio 0,1 *N* (4.11), titular o iodo libertado. No fim da titulação, juntar algumas gotas de solução de amido (4.12) como indicador. Anotar a quantidade de tiosulfato de sódio utilizada (*b*).

9 — Cálculo:

Calcular o teor em fenolsulfonato de zinco da amostra ou do resíduo (6) em percentagem de massa (m/m) por meio da fórmula:

$$\text{Percentagem (m/m) de fenolsulfonato de zinco} = \frac{(a - b) \cdot V_1 \cdot 0,00514 \cdot 100}{m \cdot V_2}$$

na qual:

a = quantidade total, em mililitros, de solução de bromato de potássio 0,1 *N* acrescentada (8.7);

b = quantidade, em mililitros, de solução de tiosulfato de sódio 0,1 *N* utilizada aquando da titulação (8.9);

m = quantidade de amostra ou de resíduo examinados (8.1) (em miligramas);

*V*₁ = volume, em mililitros, da solução obtida no n.º 8.2;

*V*₂ = volume, em mililitros, do resíduo de evaporação dissolvido utilizado para o exame (8.4).

Nota. — No caso dos aerossóis, o resultado das determinações em percentagem (m/m) do resíduo (6) deve ser convertido em percentagem do produto de origem.

10 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor de cerca de 5 % de fenolsulfonato de zinco, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,5 %.

11 — Interpretação dos resultados:

Nos termos das disposições legais relativas aos produtos cosméticos, as loções faciais e os desodorizantes podem conter, no máximo, 6 % (m/m) de fenolsulfonato de zinco. Por esta razão, é necessário determinar não só o teor em ácido fenolsulfónico, mas também o teor em zinco. Se se multiplicar pelo coeficiente 0,1588 o teor em fenolsulfonato de zinco calculado no n.º 9, obtém-se o teor mínimo em zinco do produto, em percentagem (m/m), tal como resulta do teor obtido em ácido fenolsulfónico. O teor efectivo em zinco determinado por processos gravimétricos e reportado às disposições específicas é, todavia, susceptível de ser mais elevado, pois os produtos cosméticos podem igualmente conter cloreto e sulfato de zinco.

CAPÍTULO II

Ácido oxálico e seus sais alcalinos nos produtos capilares — Doseamento e identificação

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O método abaixo indicado é adaptado ao doseamento e à identificação do ácido oxálico e dos seus sais alcalinos nos produtos capilares. Pode ser utilizado nas soluções e loções incolores aquosas ou hidroalcoólicas que contêm cerca de 5 % de ácido oxálico ou uma proporção equivalente de oxalato alcalino.

2 — Definição:

O teor da amostra em ácido oxálico e ou em sais alcalinos deste ácido, determinado segundo este método, é expresso em percentagem de massa (m/m) de ácido oxálico.

3 — Princípio:

Após ter eliminado os produtos tensoactivos aniónicos eventuais com a ajuda de cloridrato de *p*-toluidina, precipita-se o ácido oxálico e ou os oxalatos sob a forma de oxalato de cálcio e filtra-se a solução. O precipitado é de seguida dissolvido em ácido sulfúrico e titulado com permanganato de potássio.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Solução de acetato de amónio a 5 % (m/m).

4.2 — Solução de cloreto de cálcio a 10 % (m/m).

4.3 — Etanol a 95 % (v/v).

4.4 — Tetracloreto de carbono.

4.5 — Éter.

4.6 — Solução de cloridrato de *p*-toluidina a 6,8 % (m/m).

4.7 — Solução de permanganato de potássio 0,1 *N*.

4.8 — Ácido sulfúrico a 20 % (m/m).

4.9 — Ácido clorídrico a 10 % (m/m).

4.10 — Acetato de sódio 3 *H*₂O.

4.11 — Ácido acético glacial.

4.12 — Ácido sulfúrico (1:1).

4.13 — Solução saturada de hidróxido de bário.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Ampolas de decantação de 500 ml.

5.2 — Copos de vidro de 50 ml e 600 ml.

5.3 — Cadinhos filtrantes de vidro G-4.

5.4 — Provetas graduadas de 25 ml e 100 ml.

5.5 — Pipetas de 10 ml.

5.6 — Frascos para filtração sob vácuo de 500 ml.

5.7 — Trompa de água.

5.8 — Termómetro graduado de 0°C a 100°C.

5.9 — Agitador magnético com aquecimento.

5.10 — Magnetos revestidos de *teflon*.

5.11 — Bureta de 25 ml.

5.12 — Matrasses de 250 ml.

6 — Técnica:

6.1 — Pesar 6 g a 7 g da amostra num copo de vidro de 50 ml; levar o *pH* a 3, com a ajuda de ácido clorídrico diluído (4.9). Transferir a solução, com ajuda de 100 ml de água destilada, para uma ampola de decantação. Juntar, de seguida, 25 ml de etanol (4.3), 25 ml de solução de cloridrato de *p*-toluidina (4.6) e 25 ml a 30 ml de tetracloreto de carbono (4.4) e agitar vigorosamente a mistura.

6.2 — Após separação das fases, rejeitar a camada inferior (fase orgânica); repetir a extracção com a ajuda dos reagentes utilizados no n.º 6.1 e rejeitar de novo a fase orgânica.

6.3 — Transferir a solução aquosa para um copo de vidro de 600 ml e eliminar o tetracloreto de carbono residual, levando a solução à ebulição.

6.4 — Juntar 50 ml de solução de acetato de amónio (4.1), levar a solução à ebulição (5.9) e juntar 10 ml de solução quente de cloreto de cálcio (4.2) à solução fervente, continuando a agitar, a fim de formar o precipitado.

6.5 — Verificar se a precipitação é completa, juntando algumas gotas de solução de cloreto de cálcio (4.2). Deixar arrefecer à temperatura ambiente. Juntar, agitando (5.10), 200 ml de etanol (4.3) e deixar repousar durante trinta minutos.

6.6 — Filtrar o líquido por cadinho filtrante de vidro (5.3). Transferir o precipitado para o cadinho filtrante com uma pequena quantidade de água quente (50°C a 60°C) e lavar o precipitado com água fria.

6.7 — Lavar o precipitado cinco vezes seguidas com um pouco de etanol (4.3) e de éter (4.5). Dissolver o precipitado em 50 ml de ácido sulfúrico quente (4.8), aspirando este último através do cadinho filtrante.

6.8 — Transferir quantitativamente a solução para um matrás (5.12) e titular com a ajuda de uma solução de permanganato de potássio (4.7) até à obtenção de uma fraca coloração rósea.

7 — Cálculo:

O teor da amostra expresso em ácido oxálico, em percentagem de massa (m/m), é calculado pela fórmula:

$$\text{Percentagem (m/m) de ácido oxálico} = \frac{A \cdot 4,50179 \cdot 100}{E \cdot 1000}$$

na qual:

A = volume (em mililitros) de permanganato de potássio 0,1 N gastos no n.º 6.8;

E = quantidade da amostra utilizada no n.º 6.1, em gramas (8.9);

4,50179 = coeficiente de conversão para o ácido oxálico.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em ácido oxálico da ordem dos 5 % (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,15 %.

9 — Identificação:

9.1 — Princípio:

O ácido oxálico e ou os oxalatos são precipitados sob a forma de oxalato de cálcio e dissolvidos em ácido sulfúrico. Junta-se de seguida um pouco de solução de permanganato de potássio; este descora e forma-se dióxido de carbono. O dióxido de carbono formado em contacto com uma solução de barita provoca a formação de um precipitado branco opaco de carbonato de bário.

9.2 — Técnica:

9.2.1 — Submeter uma parte da amostra a examinar ao tratamento indicado nos n.ºs 6.1 a 6.3, a fim de eliminar os produtos tensoactivos que possa conter.

9.2.2 — A cerca de 10 ml da solução obtida no n.º 9.2.1 juntar um pouco de acetato de sódio (4.10) na ponta da espátula e acidificar a solução com algumas gotas de ácido acético glacial (4.11).

9.2.3 — Juntar à solução de cloreto de cálcio a 10 % (4.2) e filtrar a solução obtida. Dissolver o precipitado de oxalato de cálcio em 2 ml de ácido sulfúrico (1:1) (4.12).

9.2.4 — Transferir a solução para um tubo de ensaio e acrescentar gota a gota cerca de 0,5 ml de solução de permanganato de potássio 0,1 N (4.7). Na presença de oxalato, a solução descora, primeiro lentamente, depois rapidamente.

9.2.5 — Logo após a adição do permanganato de potássio, colocar em cima do tubo de ensaio um pequeno tubo de vidro de dimensão adequada e provido de uma rolha; aquecer ligeiramente o conteúdo e recolher o anidrido carbónico formado numa solução saturada de hidróxido de bário (4.1.3). A formação de uma nuvem leitosa de carbonato de bário, passados três a quatro minutos, indica a presença de ácido oxálico.

CAPÍTULO III

Ácido tioglicólico nos produtos para a frisão ou a desfrisão dos cabelos e nos depilatórios — Identificação e doseamento.

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve a identificação e o doseamento do ácido tioglicólico nos produtos para a frisão ou desfrisão 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 fina. 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 qualidade analítica.

4.1.1.1 — Papel de acetato de chumbo (II).

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 acetato de chumbo (II). Aplicar uma gota da amostra a analisar sobre papel de acetato de chumbo (II) (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_2S após reacção em meio ácido:

Num tubo de ensaio introduzir alguns miligramas da amostra a estudar. Juntar 2 ml de água destilada e 1 ml de HCl 1:1 (4.1.1.2).

Verifica-se uma libertação de H_2S , que se reconhece pelo seu cheiro e pela formação de precipitado negro de PbS sobre um papel de acetato de chumbo (II) (4.1.1.1).

Sensibilidade: 50 ppm.

4.1.2.3 — Caracterização dos sulfitos por formação de SO_2 após reacção em meio ácido. Proceder como no n.º 4.1.2.2. Levar à ebulição. O SO_2 reconhece-se pelo cheiro e pelas propriedades redutoras sobre o MnO_4 , por exemplo.

4.2 — Identificação por cromatografia em camada fina.

4.2.1 — Reagentes:

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

4.2.1.1 — Ácido tioglicólico controlado iodometricamente; pureza: ≥ 98 % (ATG).

4.2.1.2 — Ácido ditioglicólico; pureza: ≥ 99 % (ADTG).

4.2.1.3 — Ácido tioláctico; pureza: ≥ 95 % (ATL).

4.2.1.4 — Ácido 3-mercaptopropiónico; pureza: ≥ 98 % (AMP).

4.2.1.5 — 1-tioglicerol; pureza: ≥ 98 % (TG).

4.2.1.6 — Gele de sílica GHR ou placas pré-preparadas correspondentes, de 0,25 mm de espessura, activadas a 110°C durante trinta 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 ($d_{20}^{20} = 1,19$).

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 volume).

4.2.1.16.2 — Clorofórmio, ácido acético glacial (90:20, em volume).

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 CCl_4 (4.2.1.12).

4.2.1.17.3 — Solução de fluoresceína a 0,1 % (m/v):

Dissolver 100 mg de fluoresceína em 100 ml de etanol a 95 %.

4.2.1.17.4 — Solução aquosa de heptamolíbido de hexa-amónio a 10 % (m/v).

4.2.1.18 — Soluções padrão:

4.2.1.18.1 — Solução aquosa de ácido tioglicólico a 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.2 — Solução aquosa de ácido ditioglicólico a 0,4 % (m/v).

4.2.1.18.3 — Solução aquosa de ácido tioláctico a 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 fina.

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 for 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 cinco 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 for 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 for pulverizada com o reagente 4.2.1.17.4, a revelação apenas será apropriada se o tempo de secagem da camada não ultrapassar meia hora.

4.2.3.4 — Leitura:

Comparar os valores dos R_f e a cor das soluções padrão com os da solução da amostra. Os R_f 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

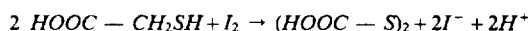
	Eluentes	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Ácido tioglicólico	0,25	0,80
Ácido tioláctico	0,40	0,95
Ácido ditiodiglicólico	0,00	0,35
Ácido 3-mercaptopropiónico	0,45	0,95
1-tioglicerol	0,45	0,35

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_2 em meio ácido, segundo a equação:

5.1.2 — Reagentes:

Solução aferida de iodo 0,1 N.

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 g 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 0,1 N (5.1.2) até ao aparecimento de uma coloração amarela. Pode utilizar-se um indicador, nomeadamente amido.

5.1.5 — Cálculo:

O teor em ácido tioglicólico é calculado segundo a fórmula:

$$\text{Porcentagem (m/m) de ácido tioglicólico} = \frac{92 \cdot n \cdot 100}{1000 \cdot 10 \cdot m} = \frac{0,92 \cdot n}{m}$$

em que:

 m = a massa, em gramas, da tomada de ensaio; n = o volume de iodo 0,1 N gasto.

5.1.6 — Nota. — Se o resultado, calculado em ácido tioglicólico, for inferior em 0,1 % às concentrações máximas autorizadas, não é necessário 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 acetato de cádmio (II). 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 caprilato de metilo como padrão interno.

5.2.2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade 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 acetato de cádmio (II) di-hidratado 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 de acetato de pH 5:Acetato de sódio, 3 H_2O : 77 g;

Ácido acético glacial: 27,5 ml;

Água desmineralizada q. b. p.: 1 l.

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

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

5.2.2.9 — Solução de hidróxido de sódio 5 N.

5.2.2.10 — Solução titulada de iodo 0,1 N.

5.2.2.11 — Óxido de dietilo.

5.2.2.12 — Solução de diazometano preparada a partir de *N*-metil-*N*-nitroso-*p*-tolueno-sulfonamida 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 evitar a utilização de aparelhos que tenham as juntas esmerilhadas.

5.2.3 — Aparelhagem:

5.2.3.1 — Material corrente de laboratório:

5.2.3.2 — Aparelho para preparação extemporânea de diazometano (*An. chem.*, 1973, 45,2302).

5.2.3.3 — Aparelho para 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 mg a 70 mg. Acidificar com algumas gotas de HCl concentrado (5.2.2.2), até à obtenção de um pH próximo de 3.

Juntar 5 ml de água desmineralizada e 10 ml de solução tampão de acetato (5.2.2.6). Verificar, por meio de um papel indicador, se o pH está próximo de 5. De seguida juntar 5 ml de solução de acetato de cádmio (II) (5.2.2.4).

Esperar dez minutos e centrifugar pelo menos durante quinze minutos a 4000 rpm. Separar o produto sobrenadante. Pode acontecer que este contenha uma gordura insolúvel, nomeadamente no caso de um creme, e esta última não pode ser confundida com mercaptido 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 acetato de cádmio (II) (5.2.2.4).

Quando as identificações precedentes tenham demonstrado a ausência de agentes redutores além dos tióis, verificar, por iodometria, se a presença de tióis no produto sobrenadante não excede 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 de uma vareta e centrifugar de novo durante, pelo menos, quinze minutos a 4000 rpm.

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 mercaptido (pode acontecer que permaneça um ligeiro resíduo insolúvel devido ao excipiente). Obém-se a solução S. Sobre uma alíquota da solução S, verificar iodometricamente o teor em tióis, que deve ser pelo menos igual a 90 % do que foi obtido no n.º 5.1.

5.2.5 — Metilação:

A metilação é efectuada ou extemporaneamente, segundo o processo descrito no n.º 5.2.5.1, ou com a ajuda de uma solução de diazometano, previamente preparada segundo o n.º 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 no n.º 5.2.3.2, com 300 mg de *N*-metil-*N*-nitroso-*N'*-nitroguanidina (5.2.2.8). Passados quinze minutos, verificar se a solução contém um excesso de diazometano (solução amarela) e transferir para um balão de 2 ml fechado hermeticamente. Colocar este no 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 no 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. Obém-se a solução E. Efectuar a precipitação, os doseamentos e a metilação como indicado nos n.ºs 5.2.4 e 5.2.5.

5.2.7 — Condições da cromatografia em fase gasosa:

5.2.7.1 — Coluna:

Natureza: ácido inoxidável;

Comprimento: 2 m;

Diâmetro: 3 mm.

5.2.7.2 — Enchimento:

Ftato de dodecilo a 20 %/Chrom. WAW 80-100 mesh.

5.2.7.3 — Detector:

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

5.2.7.4 — Gás:

Gás de arrastamento: azoto.

Pressão: 2,2 b.

Débito: 35 ml/min.

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

Gás auxiliar: hidrogénio.

Pressão: 1,8 b.

Débito: 15 ml/min.

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/min.

5.2.7.7 — Quantidade injectada: 3 µl.

Fazer cinco ensaios com cada amostra metilada.

5.2.7.8 — As condições da cromatografia são dadas a título indicativo, podendo ser adaptadas de modo que a resolução para o pico do ácido tioglicólico seja $R \geq 1,5$, entendendo-se que:

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

r_1 e r_2 = tempo de retenção em minutos;

W_1 e W_2 = largura dos picos a meia altura em milímetros;

d' = velocidade de desenrolamento do papel em milímetros/minuto.

É aconselhável terminar a cromatografia, com programação de temperatura de 90°C a 150°C, a 10°C/min., a fim de eliminar as substâncias que podem interferir nos ensaios 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 miligramas) na mistura;

S'_t = a área do seu pico;

c = o caprilato de metilo;

m'_c = a sua massa (em miligramas) na mistura;

S'_c = a área do seu pico;

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

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 área do seu pico;

c = o caprilato de metilo;

m'_c = a área do seu pico;

M = a massa (em miligramas) de tomada de ensaio inicial.

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

$$\text{Percentagem (m/m) de ácido tioglicólico} = \frac{m_c}{M} \cdot \frac{k_t \cdot S_t}{S'_c} \cdot 100$$

6 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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 %.

CAPÍTULO IV

Agentes de oxidação e peróxido de hidrogénio nos produtos capilares — Identificação e doseamento, respectivamente.

Objectivo e campo de aplicação:

O doseamento iodométrico do peróxido de hidrogénio nos produtos cosméticos é possível na ausência de qualquer outro agente de oxidação que reaja com iodetos para tomar o iodo. Antes de iniciar o doseamento iodométrico do peróxido de hidrogénio, é, pois, indispensável detectar e identificar outros agentes de oxidação eventualmente presentes. Esta identificação efectua-se em duas operações, a primeira dizendo respeito aos persulfatos, bromatos e peróxido de hidrogénio e a segunda ao peróxido de bário.

A — Identificação de persulfatos, bromatos e peróxido de hidrogénio

1 — Princípio:

Os persulfatos de sódio, de potássio e de amónio, o bromato de potássio e de sódio e o peróxido de hidrogénio, quer seja ou não proveniente do peróxido de bário, são identificados por cromatografia descendente em papel, com a ajuda de dois eluentes.

2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

2.1 — Soluções aquosas de referência a 0,5 % (m/v) dos compostos seguintes:

2.1.1 — Persulfato de sódio.

2.1.2 — Persulfato de potássio.

2.1.3 — Persulfato de amónio.

2.1.4 — Bromato de potássio.

2.1.5 — Bromato de sódio.

2.1.6 — Peróxido de hidrogénio.

2.2 — Eluente A: etanol a 80 % (v/v).

2.3 — Eluente B: benzeno, metanol, álcool isoamílico, água (34:38:18:10, em volume).

2.4 — Reagente A: solução aquosa de iodeto de potássio a 10 % (m/v).

2.5 — Reagente B: solução aquosa de amido a 1 % (m/v).

2.6 — Reagente C: ácido clorídrico a 10 % (m/m).

2.7 — Ácido clorídrico 4 N.

3 — Aparelhagem:

3.1 — Papel para cromatografia (Whatman n.ºs 3 e 4, ou equivalente).

3.2 — Micropipeta de 1 µl.

3.3 — Balões aferidos de 100 ml.

3.4 — Filtros de pregas.

3.5 — Material corrente para cromatografia descendente em papel.

4 — Preparação da amostra:

4.1 — Produtos solúveis na água:

Preparar duas soluções de amostra, dissolvendo, respectivamente, 1 g e 5 g do produto em 100 ml de água. Para efectuar a cromatografia sobre papel descrita no n.º 5, utilizar 1 µl de cada uma destas duas soluções.

4.2 — Produtos parcialmente solúveis na água:

4.2.1 — Pesar 1 g a 5 g de amostra, suspender em 50 ml de água, completar a 100 ml e misturar. Filtrar as duas suspensões por um filtro de pregas (3.4) e utilizar 1 µl de cada um dos dois filtrados para efectuar a cromatografia em papel descrita no n.º 5.

4.2.2 — Preparar duas novas suspensões de 1 g a 5 g de amostra em 50 ml de água, acidificar com ácido clorídrico diluído (2.7), completar a 100 ml com água e misturar. Filtrar as suspensões por um filtro de pregas (3.4) e utilizar 1 µl de cada um dos dois filtrados para efectuar a cromatografia em papel descrita no n.º 5.

4.3 — Cremes:

Homogeneizar separadamente 5 g e 20 g do produto com 100 ml de água e utilizar as dispersões para efectuar a cromatografia em papel descrita no n.º 5.

5 — Técnica:

5.1 — Em duas tinas para cromatografia descendente em papel, colocar uma certa quantidade de eluentes A (2.2) e B (2.3). Saturar as tinas com vapores dos eluentes durante vinte e quatro horas, pelo menos.

5.2 — Numa tira de papel para cromatografia (Whatman n.º 3, ou equivalente) de 40 cm de comprimento e 20 cm de largura (3.1), ou de outro formato adequado, colocar em cada ponto de partida 1 µl de uma das soluções ou suspensões filtradas de amostra e de produto de referência preparadas de acordo com os n.ºs 4 e 2.1 e evaporar o solvente ao ar.

5.3 — Colocar a tira (5.2) na tina cheia de eluente A (5.1) e cromatografar até que este tenha percorrido 35 cm (cerca de quinze horas).

5.4 — Repetir as operações descritas nos n.ºs 5.2 e 5.3 com papel para cromatografia (Whatman n.º 4, ou equivalente) (3.1) e o eluente B (2.3). Cromatografar até que este tenha percorrido 35 cm (cerca de cinco horas).

5.5 — Após desenvolvimento, tirar as tiras de papel das tinas e secá-las ao ar.

5.6 — Revelar as manchas pulverizando:

5.6.1 — O reagente A (2.4) e logo a seguir o reagente B (2.5). As manchas de persulfatos aparecem em primeiro lugar no cromatograma, seguidas de manchas de peróxido de hidrogénio. Marcar estas manchas com um lápis.

5.6.2 — O reagente C (2.6) sobre cromatogramas obtidos no n.º 5.6.1. Aparecem manchas cinzentas-azuladas, que indicam a presença de bromatos.

5.7 — Nas condições indicadas para os eluentes A (2.2) e B (2.3), os valores Rf das soluções de referência (2.1) são os seguintes:

	Solvente A (2.2)	Solvente B (2.3)
Persulfato de sódio	0,40	0,10
Persulfato de potássio	0,40	0,02 + 0,05
Persulfato de amónio	0,50	0,10 + 0,20
Bromato de sódio	0,40	0,20
Bromato de potássio	0,40	0,10 + 0,20
Peróxido de hidrogénio	0,80	0,80

B — Identificação do peróxido de bário

1 — Princípio:

A presença de peróxido de bário é posta em evidência:

Por um lado, pela formação de peróxido de hidrogénio após acidificação da amostra (título A, n.º 4.2);

Por outro, pela identificação dos iões bário.

Na ausência de persulfatos (título A), junta-se ácido sulfúrico diluído a uma parte da solução amostra ácida (4.1), o que desencadeia a formação de precipitado branco do sulfato de bário. A presença de iões bário na solução amostra (4.1) é confirmada por cromatografia em papel como se indica no n.º 5. No caso de presença simultânea de persulfato e de peróxido de bário (título B, n.º 4.2) depois da fusão alcalina do insolúvel e dissolução em ácido clorídrico, detecta-se a presença do ião bário por cromatografia e ou por precipitação sob a forma de sulfato.

2 — Reagentes:

2.1 — Metanol.

2.2 — Ácido clorídrico concentrado a 36% (m/m).

2.3 — Ácido clorídrico 6 N.

2.4 — Ácido sulfúrico 4 N.

2.5 — Rodizonato dissódico.

2.6 — Cloreto de bário ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$).

2.7 — Carbonato de sódio anidro.

2.8 — Solução aquosa de cloreto de bário a 1% (m/v).

2.9 — Eluente: metanol, ácido clorídrico concentrado a 36%, água (80:10:10, em volume).

2.10 — Reagente, solução aquosa de rodizonato dissódico a 0,1% (m/v); preparar a solução imediatamente antes da utilização.

3 — Aparelhagem:

3.1 — Micropipeta de 5 µl.

3.2 — Cadinhos de platina.

3.3 — Balões aferidos de 100 ml.

3.4 — Papel para cromatografia (Schleicher *et* Schull 2043 b, ou equivalente). Colocar durante uma noite na tina para cromatografia (título A, n.º 3.5) contendo o eluente (título B, n.º 2.9) e secar.

3.5 — Filtros de pregas.

3.6 — Material corrente para a cromatografia ascendente em papel.

4 — Preparação da amostra:

4.1 — Produtos que não contenham persulfatos:

4.1.1 — Homogeneizar ou dissolver 2 g do produto em 50 ml de água e, por meio de ácido clorídrico (2.3), levar o pH da solução a 1, aproximadamente.

4.1.2 — Transferir a solução ou suspensão para balão aferido de 100 ml. Completar o volume com água e misturar. Utilizar esta solução para efectuar a cromatografia em papel descrita no n.º 5 e para identificar o bário por precipitação do sulfato.

4.2 — Produtos que contenham persulfatos:

4.2.1 — Homogeneizar ou dissolver 2 g do produto em 100 ml de água e filtrar.

4.2.2 — Adicionar ao resíduo seco 7 a 10 vezes o seu peso de carbonato de sódio (título B, n.º 2.7), misturar e fundir a mistura num cadinho de platina (título B, 3.2) durante cerca de meia hora.

4.2.3 — Arrefecer à temperatura ambiente, colocar o produto da fusão em suspensão em 50 ml de água e filtrar (título B, n.º 3.5).

4.2.4 — Dissolver no ácido clorídrico 6 N (título B, n.º 2.3) e completar a 100 ml com água. Utilizar esta solução para efectuar a cromatografia em papel descrita no n.º 5 e para identificar o bário por precipitação do sulfato.

5 — Técnica:

5.1 — Numa tina para cromatografia ascendente em papel colocar uma certa quantidade de eluente (2.9) e saturar a tina durante quinze horas, pelo menos.

5.2 — Numa folha de papel para cromatografia, anteriormente tratada como indicado (3.4), aplicar, respectivamente, em três pontos, 5 µl de cada uma das soluções preparadas (4.1.2 e 4.2.4) e da solução de referência (2.8).

5.3 — Evaporar o solvente ao ar e cromatografar na vertical até que o eluente tenha percorrido 30 cm.

5.4 — Tirar o papel da tina e secá-lo ao ar.

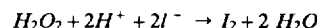
5.5 — Revelar as manchas no cromatograma pulverizando com reagente (2.10).

Em presença do bário, aparecem manchas vermelhas com Rf 0,10, aproximadamente.

C — Doseamento do peróxido de hidrogénio

1 — Princípio:

O doseamento iodométrico do peróxido de hidrogénio baseia-se na reacção seguinte:



Trata-se de uma reacção lenta, mas é possível acelerá-la, adicionando molibdato de amónio. O iodo formado, doseado por processos titrimétricos com uma solução de tiosulfato de sódio, permite calcular o teor em peróxido de hidrogénio.

2 — Definição:

O teor da amostra em peróxido de hidrogénio determinado segundo este método é expresso em percentagem do produto (m/m).

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Ácido sulfúrico 2 N.

3.2 — Iodeto de potássio.

3.3 — Molibdato de amónio.

3.4 — Solução de tiosulfato de sódio 0,1 N.

3.5 — Solução de iodeto de potássio a 10% (m/v). Preparar a solução extemporaneamente.

3.6 — Solução de molibdato de amónio a 20% (m/v).

3.7 — Solução de amido a 1% (m/v).

4 — Aparelhagem:

4.1 — Copos de vidro de 100 ml.

4.2 — Bureta de 50 ml.

4.3 — Balão aferido de 250 ml.

4.4 — Provetas graduadas de 25 ml e 100 ml.

4.5 — Pipetas aferidas de 10 ml.

4.6 — Matrasses de 250 ml.

5 — Técnica:

5.1 — Num copo de 100 ml pesar uma quantidade (em gramas) do produto equivalente a 0,6 g, aproximadamente, de peróxido de hidrogénio; transferir quantitativamente para um balão aferido de 250 ml com a ajuda de uma pequena quantidade de água, completar o volume com água e misturar.

5.2 — Pipetar 10 ml da solução da amostra (5.1) para um balão de 250 ml (4.6) e adicionar sucessivamente 100 ml de ácido sulfúrico 2 N (3.1), 20 ml de solução de iodeto de potássio (3.5) e três gotas de solução de molibdato de amónio (3.6).

5.3 — Titular imediatamente o iodo formado com a solução de tiosulfato de sódio 0,1 N (3.4) e, na proximidade do ponto de equivalência, juntar alguns mililitros de solução de amido como indicador. Anotar a quantidade, em mililitros, de tiosulfato de sódio 0,1 N utilizada (V).

5.4 — Conforme o processo indicado nos n.ºs 5.1 e 5.3, efectuar um ensaio em branco, substituindo os 10 ml da solução da amostra por 10 ml de água. Anotar a quantidade em mililitros de tiosulfato de sódio 0,1 N utilizada (V_0).

6 — Cálculo:

Calcular o teor do produto em peróxido de hidrogénio, em percentagem de massa (m/m), pela fórmula:

$$\text{Percentagem de peróxido de hidrogénio} = \frac{(V - V_0) \cdot 1,7008 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot 10 \cdot 1000}$$

$$\text{Percentagem de peróxido de hidrogénio} = \frac{(V - V_0) \cdot 4,252}{m}$$

em que:

m = a quantidade, em gramas, de produto examinado (5.1);

V_0 = a quantidade, em mililitros, de solução de tiosulfato 0,1 N consumida no doseamento do ensaio em branco (5.4);

V = a quantidade, em mililitros, de solução de tiosulfato 0,1 N consumida no doseamento da solução de amostra (5.3).

7 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor de peróxido de hidrogénio da ordem dos 6% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,2%.

CAPÍTULO V

Amoníaco — Doseamento

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 NH_3 (m/m).

3 — Princípio:

Uma solução de cloreto de bário é adicionada ao produto cosmético em meio metanol-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 de 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 di-hidratado 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 — Antiespuma líquido.

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

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

5 — Aparelhagem:

5.1 — Material corrente de laboratório.

5.2 — Centrifuga com tubos fechados.

5.3 — Aparelho de arrastamento pelo vapor.

5.4 — Potenciómetro.

5.5 — Electrodo de vidro e electrodo de referência de dicloreto de dimercúrio (calomelanos).

6 — Técnica:

6.1 — Num balão aferido de 100 ml pesar, com aproximação de 1 mg, uma quantidade da amostra (m), correspondente, no máximo, a 150 mg de NH_3 .

6.2 — Adicionar:

Água: 10 ml;

Metanol (4.1): 10 ml;

Solução de cloreto de bário (4.2): 10 ml.

Completar o volume com metanol (4.1).

6.3 — Homogeneizar e deixar uma noite no frigorífico (5°C).

6.4 — A solução, ainda fria, é filtrada ou centrifugada em tubos fechados, durante dez 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 antiespuma (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 de um 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 ácido sulfúrico 0,5 N (4.4).

7 — Expressão dos resultados:

7.1 — Doseamento por retorno com o indicador.

Seja:

V_1 (ml) = o volume da solução de hidróxido de sódio 0,5 N (4.6) utilizado;

T_1 = o título exacto da solução de hidróxido de sódio 0,5 N (4.6);

T_2 = o título exacto da solução de ácido sulfúrico 0,5 N (4.4);

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

$$\text{Percentagem (m/m) de } NH_3 = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \cdot 17 \cdot 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \cdot 4250}{m}$$

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).

$$\text{Percentagem (n/n) de } NH_3 = \frac{V_2 \cdot T_2 \cdot 17 \cdot 100}{0,4 m} = \frac{V_2 \cdot T_2 \cdot 4250}{m}$$

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para o teor em 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 %.

CAPÍTULO VI

1-(4-aminobenzoato) de glicerol
Identificação e doseamento

A — Identificação

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método destina-se a pôr em evidência o 1-(4-aminobenzoato) de glicerol ou 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo. Permite igualmente identificar o 4-aminobenzoato de etilo (benzocaina DCI) eventualmente presente como impureza.

2 — Princípio:

A identificação faz-se por cromatografia em camada fina de gele de sílica com indicador de fluorescência e caracterização da função amina primária livre por formação sobre a placa de um corante diazótico.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Mistura solvente: ciclo-hexano, isopropanol e diclorometano estabilizado (48:64:9, em volume).

3.2 — Eluente: éter de petróleo, benzeno, acetona e amónia (mínimo 25 % NH_3): (35:35:35:1, em volume).

3.3 — Revelador:

Solução a): nitrito de sódio: 1,0 g em 100 ml de HCl 1 M, a preparar extemporaneamente;

Solução b): 2-naftol: 0,2 g em 100 ml de KOH 1 M.

3.4 — Soluções padrão:

4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: 0,050 g em 100 ml da mistura solvente (3.1);

4-aminobenzoato de etilo: 0,050 g em 100 ml da mistura solvente (3.1).

3.5 — Placa de gele de sílica 60 F_{254} , com espessura de 0,25 mm e formato de 20 cm $\times$ 20 cm.

4 — Aparelhagem:

4.1 — Equipamento corrente de cromatografia em camada fina.

4.2 — Aparelho vibrador de ultra-sons.

4.3 — Filtro *Millipore FH* 0,5 μm , ou equivalente.

5 — Técnica:

5.1 — Preparação da amostra:

Pesar 1,5 g da amostra num balão aferido de rolha esmerilhada de 10 ml. Completar a 10 ml com a mistura solvente (3.1). Tapar e deixar durante uma hora à temperatura ambiente num aparelho vibrador de ultra-sons (4.2). Filtrar por um filtro *Millipore* (4.3). Utilizar o filtrado para a cromatografia.

5.2 — Cromatografia em camada fina:

Aplicar sobre a placa (3.5) 10 μl do filtrado (5.1) e 10 μl de cada solução padrão (3.4). Desenvolver o cromatograma no percurso de 15 cm numa tina previamente saturada com o solvente (3.2). Deixar secar à temperatura ambiente.

5.3 — Revelação:

5.3.1 — Observar a placa a luz ultravioleta a 254 nm.

5.3.2 — Sobre a placa perfeitamente seca, vaporizar com a solução 3.3, a). Deixar à temperatura ambiente durante um minuto e vaporizar imediatamente com a solução 3.3, b). Secar a placa na estufa a 60°C. As manchas aparecem coradas de alaranjado, com os valores de R_f seguintes: 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: 0,07; 4-aminobenzoato de etilo: 0,55.

B — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento do 1-(4-aminobenzoato) de glicerol (4-aminobenzoato de α -monoglicerilo). Permite igualmente o dosamento do 4-aminobenzoato de etilo. É o adequado para dosear, no máximo, 5 % (m/m) de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo e 1 % (m/m) de 4-aminobenzoato de etilo.

2 — Definição:

O teor em 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo e em 4-aminobenzoato de etilo avaliado por este método e expresso em percentagem de massa [% (m/m)] do produto.

3 — Princípio:

O produto a analisar é posto em suspensão em metanol e, após tratamento adequado, o doseamento é efectuado por cromatografia líquida a alta pressão (HPLC).

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e, nomeadamente, ser próprios para a cromatografia líquida a alta pressão.

- 4.1 — Metanol.
 4.2 — Di-hidrogeno-ortofosfato de potássio KH_2PO_4 .
 4.3 — Acetato de zinco (II) $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2 H_2O$.
 4.4 — Ácido acético: ($d_4^{20} = 1,05$).
 4.5 — Ferrocianeto de tetrapotássio: $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3 H_2O$.
 4.6 — 4-hidroxibenzoato de etilo.
 4.7 — 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo.
 4.8 — 4-aminobenzoato de etilo (benzocafina).
 4.9 — Solução tampão (0,02 M): dissolver 2,72 g de di-hidrogeno-ortofosfato de potássio (4.2) em 1 l de água.
 4.10 — Eluente: solução tampão (4.9) e metanol (4.1) (61:39, em volume). A composição desta fase móvel pode ser modificada de tal modo que o factor de resolução R seja igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R_1 e R_2 = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos;
 W_1 e W_2 = largura, expressa em milímetros, dos mesmos picos a meia altura;
 d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

4.11 — Solução mãe de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo: pesar com precisão cerca de 40 mg de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo. Introduzi-los num balão aferido de 100 ml. Dissolver em 40 ml de metanol (4.1). Completar o volume com a solução tampão (4.9) e misturar.

4.12 — Solução mãe de 4-aminobenzoato de etilo: pesar com precisão cerca de 40 mg de 4-aminobenzoato de etilo. Introduzi-los num balão aferido de 100 ml. Dissolver em 40 ml de metanol (4.1). Completar o volume com a solução tampão (4.9) e misturar.

4.13 — Solução do padrão interno: pesar com precisão cerca de 50 mg de 4-hidroxibenzoato de etilo (4.6) e dissolvê-los em 40 ml de metanol (4.1). Introduzir a solução num balão aferido de 100 ml, completar o volume com a solução tampão (4.9) e misturar.

4.14 — Soluções padrão: por dissolução em 100 ml de eluente (4.10), preparar quatro soluções padrão conforme o quadro seguinte:

Solução padrão	4-aminobenzoato de α -monoglicerilo		4-aminobenzoato de etilo		4-hidroxibenzoato de etilo	
	ml (4.11)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.12)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.13)	$\mu\text{g/ml}$ (*)
I	2	8	2	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(*) Estes valores são dados a título indicativo e correspondem a uma pesagem exacta das soluções 4.11, 4.12 e 4.13.

4.15 — Solução de Carrez I: dissolver 26,5 g de ferrocianeto tetrapotássico (4.5) em água e completar o volume a 250 ml.

4.16 — Solução de Carrez II: dissolver 54,9 g de acetato de zinco (II) (4.3) e 7,5 ml de ácido acético (4.4) em água e completar a 250 ml.

4.17 — Lichrosorb RP-18, ou equivalente, de 5 μm .

Nota. — Estas soluções podem ser obtidas de modo diferente.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Material corrente de laboratório.

5.2 — Cromatógrafo em fase líquida, a alta pressão, com detector no ultravioleta, com comprimento de onda variável e câmara termostada a 45°C.

5.3 — Coluna em ácido inoxidável: comprimento, 250 mm, diâmetro interior, 4,6 mm. A coluna é cheia com Lichrosorb RP-18 (4.17).

5.4 — Banho de ultra-sons.

6 — Técnica:

6.1 — Preparação da amostra:

6.1.1 — Pesar com precisão cerca de 1 g de amostra num copo de 100 ml e juntar 10 ml de metanol (4.1).

6.1.2 — Colocar o copo durante vinte minutos num banho de ultra-sons (5.4). Transferir quantitativamente a suspensão assim obtida para um balão aferido de 100 ml com 75 ml de eluente (4.10), no máximo. Juntar sucessivamente 1 ml de solução de Carrez I (4.15) e 1 ml de solução de Carrez II (4.16), misturando após cada operação. Completar o volume com eluente (4.10), misturar de novo e filtrar por filtro de pregas.

6.1.3 — Com uma pipeta introduzir, num balão aferido de 50 ml, 3,0 ml do filtrado obtido no n.º 6.1.2 e 5,0 ml da solução do pa-

drão interno (4.13). Completar o volume com eluente (4.10) e misturar. Utilizar a solução assim obtida para proceder à análise cromatográfica descrita no n.º 6.2.

6.2 — Cromatografia:

6.2.1 — Regular o débito da fase móvel (4.10) para 1,2 ml/min. e fixar a temperatura da coluna em 45°C.

6.2.2 — Regular o detector (5.2) em 274 nm.

6.2.3 — Por meio de uma microseringa, fazer pelo menos duas injecções de 20 μl da solução 6.1.3 e medir a área dos picos.

6.3 — Curvas de calibração:

6.3.1 — Injectar 20 μl de cada uma das soluções padrão (4.14) e medir a área dos picos.

6.3.2 — Para cada concentração, calcular a relação entre a área do pico de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo e a área do pico do padrão interno. Traçar a curva de calibração colocando esta relação em ordenada e a relação das massas correspondentes em abscissa.

6.3.3 — Proceder do mesmo modo para o 4-aminobenzoato de etilo.

7 — Cálculo:

7.1 — Sobre as curvas da calibração obtidas no n.º 6.3, ler as relações de massa RP_1 e RP_2 correspondentes às relações entre as áreas dos picos calculados no n.º 6.2.3, em que:

RP_1 = relação das massas de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo e 4-hidroxibenzoato de etilo;

RP_2 = relação das massas de 4-aminobenzoato de etilo e 4-hidroxibenzoato de etilo.

7.2 — A partir das relações de massa assim obtidas, calcular o teor em 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo e em 4-aminobenzoato de etilo, em percentagem de massa (m/m), por meio das fórmulas:

Percentagem (m/m) de 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo = $RP_1 \cdot \frac{q}{6p}$

Percentagem (m/m) de 4-aminobenzoato de etilo = $RP_2 \cdot \frac{q}{6p}$

em que:

q = quantidade, em miligramas, de 4-hidroxibenzoato de etilo (padrão interno) pesada no n.º 4.13.

p = quantidade, em gramas, da amostra pesada no n.º 6.1.1.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

8.1 — Para um teor de 5% (m/m) em 4-aminobenzoato de α -monoglicerilo, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,25%.

8.2 — Para um teor de 1% (m/m) de 4-aminobenzoato de etilo, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,10%.

9 — Notas:

9.1 — Antes de efectuar a análise propriamente dita, é conveniente determinar se a amostra não contém um composto susceptível de coincidir com o pico do padrão interno (4-aminobenzoato de etilo) sobre o cromatograma.

9.2 — Para verificar a ausência de eventuais interferências, repetir o doseamento, modificando em mais ou menos 10% a proporção de metanol na fase móvel.

CAPÍTULO VII

Cloratos de metais alcalinos — Identificação e doseamento

Objectivo e campo de aplicação:

O método descreve a identificação e o doseamento dos cloratos nos dentífricos e outros produtos cosméticos.

A — Identificação

1 — Princípio:

Os cloratos são separados dos outros halogenatos por cromatografia em camada fina e detectados por formação de iodo obtido por oxidação do iodeto de potássio.

2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

2.1 — Solução de referência: soluções aquosas de clorato, bromato e iodato de potássio (0,2% m/v) preparadas recentemente.

2.2 — Eluente: solução de amoníaco (28% m/v), acetona e butanol (60:130:30, em volume).

2.3 — Solução aquosa de iodeto de potássio (5% m/v).

2.4 — Solução de amido (1% a 5% m/v).

2.5 — Ácido clorídrico 1 M.

2.6 — Placas de cromatografia em camada fina pré-preparadas revestidas de celulose (espessura: 0,25 mm).

3 — Aparelhagem:

Material corrente de laboratório para cromatografia em camada fina.

4 — Técnica:

4.1 — Extrair cerca de 1 g da amostra com água, filtrar e diluir até cerca de 25 ml.

4.2 — Aplicar sobre a placa (2.6) 2 µl da solução 4.1 e 2 µl de cada uma das três soluções de referência (2.1).

4.3 — Introduzir a placa numa tina e desenvolver por cromatografia ascendente no percurso de cerca de três quartos do comprimento da placa com a ajuda do eluente (2.2).

4.4 — Retirar a placa da tina e deixar evaporar o eluente (duas horas, aproximadamente).

4.5 — Pulverizar a placa com a solução de iodeto de potássio (2.3) e deixar secar durante cerca de cinco minutos.

4.6 — Pulverizar a placa com a solução de amido (2.4) e deixar secar durante cerca de cinco minutos.

4.7 — Pulverizar a placa com ácido clorídrico (2.5).

5 — Avaliação:

Em presença de clorato, aparece uma mancha azul (eventualmente castanha) passada meia hora.

Os valores de Rf são os seguintes:

	Rf
Iodato	0 — 0,2
Bromato	0,5 — 0,6
Clorato	0,7 — 0,8

Como os bromatos e os iodatos produzem reacções imediatas, procurar-se-á não confundir as manchas de bromato e de clorato.

B — Doseamento

1 — Definição:

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

2 — Princípio:

O clorato é reduzido por zinco em pó em meio ácido. O cloreto formado é titulado potenciometricamente pelo nitrato de prata. Um doseamento análogo antes da redução permite revelar a presença eventual de halogenetos.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Ácido acético a 80 % (m/m).

3.2 — Zinco em pó.

3.3 — Solução titulada de nitrato de prata 0,1 M.

4 — Aparelhagem:

4.1 — Material corrente de laboratório.

4.2 — Potenciómetro equipado com um eléctrodo indicador de prata.

5 — Técnica:

5.1 — Preparação da amostra:

Pesar com precisão uma quantidade (m) de cerca de 2 g num tubo de centrífuga. Juntar cerca de 15 ml de ácido acético (3.1) e misturar cuidadosamente. Esperar trinta minutos e centrifugar durante quinze minutos a 2000 rpm. Transferir a solução sobrenadante para um balão aferido de 50 ml. Repetir duas vezes a centrifugação, juntando 15 ml de ácido acético (3.1) ao resíduo. Recolher as soluções que contêm o clorato no mesmo balão aferido. Completar o volume com ácido acético (3.1).

5.2 — Redução do clorato:

A 20 ml da solução 5.1 juntar 0,6 g de zinco em pó (3.2). Aquecer à ebulição num balão munido de um refrigerante de refluxo. Após trinta minutos de ebulição, deixar arrefecer e filtrar. Lavar o balão com água, filtrar e reunir o filtrado e as águas de lavagem.

5.3 — Doseamento de cloreto:

Titular a solução 5.2 com nitrato de prata (3.3) por meio de potenciómetro (4.2). Titular do mesmo modo 20 ml de solução 5.1 com nitrato de prata (3.3).

Se o produto contiver derivados de bromo ou de iodo susceptíveis de libertar brometos de iodeto após redução, a curva de titulação apresenta vários pontos de inflexão. Neste caso, o volume da solução titulada (3.3) correspondente ao cloreto é representado pela diferença entre os volumes correspondentes aos último e antepenúltimo pontos de inflexão.

6 — Cálculo:

O teor em clorato da amostra é calculado segundo a fórmula:

$$\text{Percentagem (m/m) de clorato} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

em que:

V = volume, em mililitros, da solução de nitrato de prata (3.3) utilizada para a titulação da solução 5.2;

V' = volume, em mililitros, da solução de nitrato de prata (3.3) utilizada para a titulação da solução 5.1;

M = molaridade da solução de nitrato de prata (3.3);

m = massa, em gramas, da amostra 5.1.

7 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em clorato de 3 % a 5 % (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,07 % (m/m).

CAPÍTULO VIII

Clorobutanol — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O presente método é o adequado para o doseamento do clorobutanol na concentração máxima de 0,5 % (m/m) para todos os produtos cosméticos, com excepção dos aerossóis.

2 — Definição:

O teor em clorobutanol avaliado por este método é expresso em percentagem de massa (m/m) do produto.

3 — Princípio:

Após tratamento adequado do produto a analisar, o doseamento é efectuado por cromatografia em fase gasosa, utilizando o 2,2,2-tricloroetanol como padrão interno.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Clorobutanol (1,1,1-tricloro-2-metilpropanol-2).

4.2 — 2,2,2-tricloroetanol.

4.3 — Etanol absoluto.

4.4 — Solução padrão de clorobutanol: 0,025 g em 100 ml de etanol (4.3) (m/v).

4.5 — Solução padrão de 2,2,2-tricloroetanol: 0,004 g em 100 ml de etanol (4.3) (m/v).

5 — Aparelhagem:

5.1 — Material corrente de laboratório.

5.2 — Cromatógrafo em fase gasosa com detector de captura de electrões 63 Ni.

6 — Técnica:

6.1 — Preparação da amostra:

Pesar com precisão de 0,1 g a 0,3 g de amostra. Introduzi-la num balão aferido de 100 ml, dissolver em etanol (4.3), juntar 1 ml da solução do padrão interno (4.5) e completar o volume com etanol (4.3).

6.2 — Condições da cromatografia em fase gasosa:

6.2.1 — As condições do ensaio devem ser de modo que o factor de resolução R da coluna seja igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R₁ e R₂ = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos consecutivos;

W₁ e W₂ = largura dos picos a meia altura, expressa em milímetros;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

6.2.2 — A título de exemplo, as seguintes condições do ensaio permitem o resultado procurado:

Coluna	I	II
Natureza	Vidro	Aço inoxidável.
Comprimento	1,80 m	3 m.
Diâmetro	3 mm	3 mm.
Enchimento	10 % carbowax 20 MTPA Gas- chrom Q 80-100 mesh.	5 % OV 17 sobre Chromosorb WAW DMCS 80-100 mesh.
Acondicionamento	Dois a três dias a 190°C.	—
Temperaturas:		
Injector	200°C	150°C.
Coluna	150°C	100°C.
Detector	200°C	150°C.
Gás de arrastamento	Azoto	Argon/metano (95/5,v/v).
Débito	35 ml/min.	32 ml/min.

6.3 — Curva de calibração:

Em cinco balões aferidos de 100 ml, juntar a 1 ml da solução do padrão interno (4.5) respectivamente 0,20 ml, 0,30 ml, 0,40 ml, 0,50 ml e 0,60 ml da solução 4.4 e completar a 100 ml com etanol (4.3). Injectar 1 µl de cada uma destas soluções no cromatógrafo, segundo a técnica descrita no n.º 6.2.2, e traçar a curva de calibração, indicando em abcissa a relação das massas do clorobutanol e do 2,2,2-tricloroetano e em ordenada a relação das áreas correspondentes.

6.4 — Injectar 1 µl da solução obtida no n.º 6.1 e proceder conforme descrito no n.º 6.2.2.

7 — Cálculo:

7.1 — Calcular a partir da curva de calibração (6.3) a quantidade (a) expressa em microgramas de clorobutanol da solução 6.1.

7.2 — O teor em clorobutanol da amostra em percentagem de massa (m/m) é calculado segundo a fórmula:

$$\text{Percentagem (m/m) de clorobutanol} = \frac{a \cdot 10^2}{p \cdot 10^4} = \frac{a}{p \cdot 10^2}$$

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em clorobutanol de 0,5% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,01%.

Nota. — Se o resultado for igual ou superior à concentração máxima autorizada, é conveniente verificar a ausência de interferências.

CAPÍTULO IX

Clorofórmio nas pastas dentífricas — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento, por cromatografia em fase gasosa, de clorofórmio nas pastas dentífricas. O limite de quantificação do método é de 5% de clorofórmio.

2 — Definição:

O clorofórmio doseado segundo este método é expresso em percentagem de massa do produto.

3 — Princípio:

Coloca-se a pasta dentífrica em suspensão numa mistura de dimetilformamida e de metanol e junta-se uma certa quantidade de acetoneitrilo como padrão interno. Após centrifugação, examina-se uma parte da fase líquida por cromatografia em fase gasosa e calcula-se o teor em clorofórmio.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Porapak Q, ou Chromosorb 101, ou equivalente (80-100 mesh).

4.2 — Acetonitrilo.

4.3 — Clorofórmio.

4.4 — Dimetilformamida.

4.5 — Metanol.

4.6 — Solução de padrão interno:

Pipetar 5 ml de dimetilformamida (4.4) num balão graduado de 50 ml e acrescentar cerca de 300 mg (M_i), exactamente pesados, de acetoneitrilo. Completar até ao traço com a dimetilformamida e misturar.

4.7 — Solução para determinar o factor de resposta relativo:

Pipetar 5 ml de solução de padrão interno (4.6) num balão graduado de 10 ml e acrescentar cerca de 300 mg (M_i) de clorofórmio (4.3) exactamente pesados. Completar até ao traço com dimetilformamida e misturar.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Balança analítica.

5.2 — Cromatógrafo de fase gasosa, provido de um detector de ionização de chama.

5.3 — Seringa para injeção de 5 µl ou 10 µl, graduada a um décimo.

5.4 — Pipetas aferidas de 1,4 ml e 5 ml.

5.5 — Balões aferidos de 10 ml e 50 ml.

5.6 — Tubos de ensaio de cerca de 20 ml com tampa de rosca. O interior da tampa é provido de uma placa em matéria plástica com uma das faces revestida a teflon.

5.7 — Centrifuga.

6 — Modo operativo:

6.1 — Condições da cromatografia em fase gasosa:

6.1.1 — Tipo de coluna:

Vidro espiralado;

Comprimento: 150 cm;

Diâmetro interno: 4 mm;

Diâmetro externo: 6 mm.

6.1.2 — Enchimento: Porapak Q, ou Chromosorb 101, ou equivalente (80-100 mesh) (4.1).

6.1.3 — Detector: ionização de chama:

Regular a sua sensibilidade de modo que, após a injeção de 3 µl da solução 4.7, a altura do pico do acetoneitrilo atinja cerca de três quartos da totalidade da escala.

6.1.4 — Gás vector: azoto; débito: 65 ml/min.:

Regular o débito dos gases ao nível do detector de ionização de chama, de modo que o débito do ar ou do oxigénio seja 5 a 10 vezes o do hidrogénio.

6.1.5 — Temperaturas:

Injector: 210°C;

Detector: 210°C;

Coluna: 175°C.

6.1.6 — Registador:

Velocidade do papel: cerca de 100 cm/h.

6.2 — Preparação da amostra:

Efectuar a tomada de ensaio a partir de um tubo ainda não aberto. Eliminar um terço do conteúdo, fechar de novo o tubo, misturar cuidadosamente no tubo e colher então a amostra para análise.

6.3 — Doseamento:

6.3.1 — Pesagem, com uma precisão de 10 mg, 6 g ou 7 g (M_o) de pasta dentífrica, tratada conforme o n.º 6.2, num tubo com tampa rosca (5.6) e juntar algumas pérolas de vidro.

6.3.2 — Com um pipeta deitar 5,0 ml da solução de padrão interno (4.6), 4 ml de dimetilformamida (4.4) e 1 ml de metanol (4.5) no tubo. Fechar a tampa e homogeneizar.

6.3.3 — Agitar durante meia hora com um agitador mecânico e centrifugar durante quinze minutos o tubo fechado, a uma tal velocidade que se obtenha uma separação nítida das fases.

Nota. — Acontece às vezes que a fase líquida é ainda turva após centrifugação. Neste caso acrescentar 1 g a 2 g de cloreto de sódio à fase líquida e centrifugar de novo.

6.3.4 — Injectar 3 µl desta solução (6.3.3.) nas condições descritas no n.º 6.1. Repetir esta operação.

Nas condições referidas, podemos dar como orientação os seguintes tempos de retenção:

Metanol: cerca de um minuto;

Acetonitrilo: cerca de dois minutos e meio;

Clorofórmio: cerca de seis minutos;

Dimetilformamida: > quinze minutos.

6.3.5 — Determinação do factor de resposta relativo:

Injectar 3 µl de solução 4.7 para determinar o factor de resposta relativo. Repetir esta operação e determinar diariamente o factor de resposta relativo.

7 — Cálculo:

7.1 — Cálculo da resposta relativa:

7.1.1 — Medir as alturas e a largura a meia altura dos picos de acetoneitrilo e clorofórmio e calcular a área dos dois picos pela fórmula: altura × largura a meia altura.

7.1.2 — Determinar a área dos picos do acetoneitrilo e do clorofórmio nos cromatogramas obtidos no n.º 6.3.5 e calcular a resposta relativa (f_s) através da fórmula:

$$f_s = \frac{A_i \cdot M_i}{M_i \cdot A_i} = \frac{A_i \cdot 1/10 M}{A_i \cdot M_i}$$

na qual:

f_s = factor de resposta relativa para o clorofórmio;

A_i = área do pico do clorofórmio (6.3.5);

A_i = área do pico de acetoneitrilo (6.3.5);

M_i = quantidade de clorofórmio, em miligramas, por 10 ml da solução utilizada no n.º 6.3.5 (M_i);

M_i = quantidade de acetoneitrilo, em miligramas, por 10 ml da solução utilizada no n.º 6.3.5 (= 1/10 M).

Calcular a média dos valores encontrados.

7.2 — Cálculo do teor em clorofórmio:

7.2.1 — Calcular da maneira descrita no n.º 7.1.1 a área dos picos de clorofórmio e acetoneitrilo dos cromatogramas obtidos no n.º 6.3.4.

7.2.2 — Calcular o teor em clorofórmio das pastas dentífricas pela fórmula:

$$\text{Percentagem } X = \frac{A_i \cdot M_i}{f_s \cdot M_{ix} \cdot A_i} \cdot 100 \% = \frac{A_i \cdot M}{f_s \cdot A_i \cdot M_o \cdot 100}$$

na qual:

Percentagem X = teor em clorofórmio em percentagem de massa da pasta dentífrica;

A_i = área do pico de clorofórmio (6.3.4);

A_i = área do pico de acetoneitrilo (6.3.4);

M_{ix} = peso, em miligramas, da amostra examinada no n.º 6.3.1 (= 1000 M_o);

M_i = quantidade de acetoneitrilo, em miligramas, para 10 ml da solução obtida no n.º 6.3.2 (1/10 M).

Calcular a média dos teores obtidos e expressar o resultado com aproximação às décimas.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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

CAPÍTULO X

Compostos de flúor nas pastas dentífricas — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento 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 de massa (m/m).

3 — Princípio:

O flúor do composto fluorado é transformado em trietilfluorsilano (TEFS) por reacção directa com trietilclorosilano (TECS) em meio ácido e, simultaneamente, extraído com a ajuda de xileno contendo ciclo-hexano 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 seco 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 — Ciclo-hexano (CH).

4.5 — Xileno que não dê origem a picos interferentes quando cromatografado nas mesmas condições que as da amostra 6.1. Em caso de necessidade, purificar por destilação (5.8).

4.6 — Trietilclorosilano (TECS Merck, ou equivalente).

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 dissolver 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 de uma 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 padrão interno:

Misturar 1 ml de ciclo-hexano (4.4) e 5 ml de xileno (4.5).

4.9 — Solução padrão interno de trietilclorosilano:

Transferir, com a ajuda de uma 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 a 70 % (m/v).

4.11 — Ácido perclórico a 20 % (m/v) em água (4.2).

5 — Aparelhagem:

5.1 — Material corrente de laboratório.

5.2 — Cromatógrafo de fase gasosa munido de um detector de ionização de chama.

5.3 — Homogeneizador Vortex, ou equivalente.

5.4 — Agitador Buhler, tipo SMB1, ou equivalente.

5.5 — Balões aferidos de 100 ml a 250 ml, em polipropileno.

5.6 — Tubos de centrifuga de 20 ml de vidro com tampas de rosca recobertas de teflon Sovirel tipo 611-56, ou equivalente. Limpar os tubos e as tampas da maneira seguinte: mergulhar 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 μ l a 200 μ l, com extremidade plástica de utilização única.

5.8 — Aparelho de destilação munido de uma coluna Schneider de três bolas ou de uma 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 centrifuga (5.6), juntar 5 ml de água (4.2) e homogeneizar (5.3).

6.1.3 — Juntar 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 de uma pipeta, 0,5 ml de solução do padrão interno de trietilclorosilano (4.9) no tubo de centrifuga (5.6).

6.1.6 — Fechar o tubo de centrifuga por meio da tampa de rosca e misturar cuidadosamente durante quarenta e cinco minutos com a ajuda do agitador (5.4) regulado a 150 vibrações/min.

6.1.7 — Centrifugar durante dez minutos a uma velocidade tal que se obtenha uma separação nítida das fases. Desrolhar o tubo, recolher a fase orgânica e injectar 3 μ l na coluna do cromatógrafo de fase gasosa (5.2).

São necessários cerca de vinte minutos para que todos os componentes estejam eluídos.

6.1.8 — Repetir a injeção, calcular a razão média da área dos picos A_{TEFS}/A_{CH} e ler sobre a curva de calibração (6.3) a quantidade de fluoreto correspondente em miligramas (m_1).

6.1.9 — Calcular o teor em fluoreto total da amostra em percentagem de massa (m/m) de fluoreto como indicado no n.º 7.

6.2 — Condições cromatográficas:

6.2.1 — Coluna:

Natureza: ácido inoxidável;

Comprimento: 180 cm;

Diâmetro: 3 mm;

Enchimento: Gaschrom 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 gás de arrastamento de 25 ml/min. de azoto. Esta operação é repetida todas as noites. Para todas as quatro ou cinco injeções, reestabilizar a coluna por aquecimento durante cerca de meia hora a 100°C.

Temperatura:

Coluna: 70°C;

Injector: 150°C;

Detector: 250°C;

Gás vector: azoto a 135 ml/min.

6.3 — Curva de calibração:

6.3.1 — Introduzir, com uma pipeta, numa série de seis tubos de centrifuga (5.6), 0 ml, 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml e 5 ml da solução padrão de fluoreto diluído (4.7.2). Completar o volume de cada tubo até 5 ml com água (4.2).

6.3.2 — Proceder como indicado nos n.ºs 6.1.3 a 6.1.6, inclusive.

6.3.3 — Injectar 3 μ l de fase orgânica na coluna do cromatógrafo em fase gasosa (5.2).

6.3.4 — Repetir a injeção e calcular a razão média das áreas dos picos A_{TEFS}/A_{CH} .

6.3.5 — Construir uma curva de calibração relacionando a massa de fluoreto (miligramas) nas soluções padrão (6.3.1) e a razão das áreas dos picos A_{TEFS}/A_{CH} medidas no n.º 6.3.4. Traçar a curva de calibração.

7 — Cálculo:

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

$$\text{Percentagem (m/m) de fluoreto} = \frac{m_1}{m} \cdot 100$$

em que:

m = tomada da amostra, em miligramas (6.1.2);

m_1 = quantidade de flúor na curva de calibração, em miligramas (6.1.8).

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor de 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 %.

CAPÍTULO XI

Compostos organomercuriais — Identificação e doseamento

Objectivo e campo de aplicação:

Este método permite a identificação, nos produtos cosméticos para os olhos, dos derivados organomercuriais 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 organomercuriais são complexados sob a forma de ditizonatos. Após extracção dos ditizonatos pelo tetracloreto de carbono, procede-se a uma cromatografia em camada fina em gele de sílica. As manchas de ditizonatos aparecem com cor 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.

2.4 — Tetracloreto de carbono.

2.5 — Eluente: hexano e acetona (90:10, em volume).

2.6 — Soluções padrão a 0,001 % em água de:

2-(etilmercuriotio) benzoato;

Cloreto de etilmercúrio ou cloreto de metilmercúrio;

Nitrato ou acetato de fenilmercúrio;

Cloreto de mercúrio (II) ou acetato de mercúrio (II).

2.7 — Placas de sílica G prontas para 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 fina.

3.3 — Filtro separador de fases.

4 — Técnica:

4.1 — Extração:

4.1.1 — Num tubo de centrífuga, diluir, por trituração, 1 g 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 — Centrifugar pelo menos durante vinte minutos, a 4500 rpm, de modo a separar a maior parte da fase sólida. Filtrar para uma ampola de decantação e juntar 0,25 ml da solução de ácido sulfúrico (2.1).

4.1.3 — Extrair várias vezes 2 ml 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 fases (3.3) cada fase orgânica.

4.1.5 — Evaporar à secura sob corrente de azoto (2.3).

4.1.6 — Retomar por 0,5 ml de tetracloreto de carbono (2.4). Aplicar imediatamente esta solução como indicado no n.º 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 no n.º 4.1.6.

Tratar simultaneamente, como indicado no n.º 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 organomercuriais aparecem sob a 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	Cor
Tiomersal	0,33	Laranja.
Cloreto de etilmercúrio	0,29	Laranja.
Cloreto de metilmercúrio	0,29	Laranja.
Fenilmercúrio e seus sais	0,21	Laranja.
Cloreto de mercúrio (II)	0,10	Laranja.
Acetato de mercúrio (II)	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 massa (m/m) de mercúrio.

2 — Princípio:

O método consiste num doseamento de mercúrio total. É, pois, necessário ter verificado previamente 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 qualidade 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 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 três horas, em banho-maria a 55°C num frasco 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 trinta 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 de uma solução de permanganato de potássio (3.4), até coloração permanente. Colocar durante mais quinze minutos em banho-maria a 55°C.

5.1.5 — Juntar 4 ml de peroxodissulfato de dipotássio (3.6) e continuar o aquecimento em banho-maria a 55°C durante trinta minutos.

5.1.6 — Arrefecer e transferir o conteúdo do balão para balão aferido de 100 ml. Lavar com 5 ml de cloreto de hidroxilamónio (3.5) e com quatro vezes 10 ml de água (3.3). O meio deve ser incolor. 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 de vidro usado para 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 trinta segundos. Os iões Hg++ são reduzidos a mercúrio metálico. Efectuar a determinação. Seja n o número observado.

5.2.2 — Colocar lã 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 zero, a mineralização está incompleta e deve recomençar-se a análise.

6 — Cálculos:

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

$$\text{Percentagem (m/m) de mercúrio} = \frac{n}{m}$$

em que:

n = quantidade de mercúrio, em microgramas, lida no aparelho;
 m = massa, em miligramas, 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 absorção sobre o substrato, será necessário efectuar um doseamento por adição de um padrão.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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.

CAPÍTULO XII

Corantes de oxidação nas tintas para cabelos
Identificação e doseamento semiquantitativo

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método permite a identificação e o doseamento semiquantitativo das substâncias seguintes nas tintas para cabelos, sob a forma de cremes e líquidos:

Denominação das substâncias	Símbolos
Diaminobenzenos:	
1,2 diaminobenzeno (<i>o</i> -fenilenodiamina)	(OFD)
1,3 diaminobenzeno (<i>m</i> -fenilenodiamina)	(MFD)
1,4 diaminobenzeno (<i>p</i> -fenilenodiamina)	(PFD)

Denominação das substâncias	Símbolos
Diaminotoluenos:	
3,4 diaminotolueno (<i>o</i> -toluilenodiamina)	(OTD)
2,4 diaminotolueno (<i>m</i> -toluilenodiamina)	(MTD)
2,5 diaminotolueno (<i>p</i> -toluilenodiamina)	(PTD)
Diaminofenóis:	
2,4 diaminofenol	(DAF)
Hidroxiquinona:	
1,4 di-hidroxibenzeno	(H)
α -naftol	(α -N)
Pirogalhol:	
1,2,3 di-hidroxibenzeno	(P)
Resorcina:	
1,3 di-hidroxibenzeno	(R)

2 — Princípio:

Os corantes de oxidação são extraídos das tintas, a *pH* 10, na forma de creme ou de líquido, com etanol a 96°, e identificados por cromatografia em camada fina monodimensional (5) e ou bidimensional (6).

A fim de efectuar o doseamento semiquantitativo das substâncias, comparam-se os cromatogramas das amostras, obtidas através de quatro sistemas de desenvolvimento, com o das soluções dos produtos de referência.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Etanol absoluto.

3.2 — Acetona.

3.3 — Etanol a 96° (v/v).

3.4 — Amónia a 25% ($d_4^{20} = 0,91$).

3.5 — *L* (+) ácido ascórbico.

3.6 — Clorofórmio.

3.7 — Ciclo-hexano.

3.8 — Azoto técnico.

3.9 — Tolueno.

3.10 — Benzeno.

3.11 — 1-butanol.

3.12 — 2-butanol.

3.13 — Ácido hipofosforoso a 50%.

3.14 — Reagente diazótico: poder-se-á utilizar:

Um sal de 4-nitro-1-benzenodiazónio estabilizado pelo ião clorobenzeno-sulfonato, por exemplo (vermelho 2 JN de Francolor, ou equivalente); ou

Um sal de 2-cloro-4-nitro-1-benzenodiazónio estabilizado pelo ião naftalenbenzoato, por exemplo (NNCD Reagent — Ref. n.º 74 150 da Fluka, ou equivalente).

3.15 — Nitrato de prata.

3.16 — *P*-dimetilaminobenzaldeído.

3.17 — 2,5-dimetilfenol.

3.18 — Cloreto férrico · 6H₂O.

3.19 — Ácido clorídrico a 10% (m/v).

3.20 — Substâncias de referência:

As substâncias de referência são as indicadas no título 1, «Objetivo e campo de aplicação».

No caso de compostos aaminados, a substância de referência deve ser constituída exclusivamente pelo cloridrato (mono ou di) ou pela própria base.

3.21 — Soluções de referência a 0,5% (m/v):

Preparar uma solução a 0,5% (m/v) de cada uma das substâncias de referência (3.20).

Pesar 50 mg ± 1 mg de substância de referência num balão aferido de 10 ml.

Juntar 5 ml de etanol a 96° (3.3).

Juntar 250 mg de ácido ascórbico (3.5).

Alcalinizar com a solução amoniacal (3.4) até *pH* 10 aparente.

Completar a 10 ml com etanol a 96° e misturar.

Notas. — As soluções podem ser conservadas durante uma semana, num local fresco, ao abrigo da luz.

Em certos casos, quando da adição do ácido ascórbico e da amónia, pode produzir-se um precipitado. Convém então deixar depositar antes de efectuar a tomada de ensaio.

3.22 — Eluentes:

3.22.1 — Acetona, clorofórmio e tolueno (35:25:40, em volume).

3.22.2 — Clorofórmio, ciclo-hexano, etanol absoluto e amónia a 25% (80:10:10:1, em volume).

3.22.3 — Benzeno, butanol secundário e água (50:25:25, em volume). Agitar bem a mistura e tomar a fase superior após decantação à temperatura do laboratório (entre 20°C e 25°C).

3.22.4 — 1-butanol, clorofórmio e reagente *M* (7:70:23, em volume). Deixar decantar cuidadosamente a 20°C-25°C e tomar a fase inferior.

Preparação do reagente *M*:

NH₄OH a 25% (v/v) (3.4): 24 volumes;

Ácido hipofosforoso a 50% (3.13): 1 volume;

H₂O: 75 volumes.

Nota. — Os eluentes que contêm amoníaco devem ser bem agitados imediatamente antes da utilização.

3.23 — Reveladores:

3.23.1 — Reagente diazótico:

Preparar uma solução aquosa a 5% (m/v) do reagente (3.14) escolhido. Esta solução deve ser preparada no momento da utilização.

3.23.2 — Reagente de Ehrlich:

Dissolver 2 g de *p*-dimetilaminobenzaldeído (3.16) em 100 ml de ácido clorídrico aquoso a 10% (m/v) (3.19).

3.23.3 — 2,5-dimetilfenol-cloreto férrico · 6H₂O:

Solução 1: dissolver 1 g de dimetilfenol (3.17) em 100 ml de etanol a 96° (3.3).

Solução 2: dissolver 4 g de cloreto férrico · 6H₂O (3.18) em 100 ml de etanol a 96° (3.3).

Aquando da revelação pulveriza-se, separadamente, em primeiro lugar a solução 1 e depois a solução 2.

3.23.4 — Nitrato de prata amoniacal:

A uma solução aquosa a 5% (m/v) de nitrato de prata (3.15) juntar amónia a 25% (3.4) até à dissolução do precipitado.

Este reagente deverá ser preparado no momento da sua utilização. Não conservar.

4 — Aparelhagem:

4.1 — Equipamento de laboratório para cromatografia em camada fina.

4.1.1 — Recipiente de plástico ou de vidro permitindo manter a placa de cromatografia em atmosfera de azoto durante a aplicação e até ao desenvolvimento. Esta precaução é necessária, em virtude da grande oxidabilidade de certos corantes.

4.1.2 — Seringa de 10 µl, graduada de 0,2 µl em 0,2 µl, com uma agulha de secção recta ou, melhor, um *repeating dispenser* de 50 µl, montado num sistema que permita manter a placa em atmosfera de azoto.

4.1.3 — Placas de sílica pré-preparadas, com a espessura de 0,25 mm e as dimensões de 20 cm × 20 cm (Macherey e Nagel Silice G-HR, ou equivalente).

4.2 — Centrífuga permitindo 4000 rpm.

4.3 — Tubos de centrífuga de 10 ml, com rolha de enroscar.

5 — Técnica:

5.1 — Tratamento das amostras:

Ao abrir o tubo, eliminar os primeiros 2 cm ou 3 cm de creme. Num tubo de centrífuga (4.3), previamente purgado com azoto, introduzir:

300 mg de ácido ascórbico;

3 g de creme ou 3 g de líquido homogeneizado.

Juntar algumas gotas de amónia (3.4), se o *pH* for inferior a 10, e completar a 10 ml com etanol a 96° (3.3). Homogeneizar em atmosfera de azoto, tapar e centrifugar a 4000 rpm durante dez minutos. Utilizar a solução sobrenadante.

5.2 — Cromatografia:

5.2.1 — Aplicação:

Aplicar em atmosfera de azoto, sobre uma placa de sílica (4.1.3) e em 9 pontos separados, 1 µl de cada uma das 11 soluções de referência. Estas soluções de referências são referenciadas da seguinte forma:

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PFD	DAF	PTD	OFD	OTD	MFD
MTD	α N							

Por outro lado, colocar sobre cada um dos 10.º e 11.º pontos 2 µl das soluções das amostras obtidas no n.º 5.1.

Conservar a placa em atmosfera de azoto até ao momento em que a mesma for cromatografada.

5.2.2 — Desenvolvimento:

Introduzir a placa numa tina previamente purgada com azoto, saturada com um dos quatro eluentes adequados (3.22), e deixar desenvolver à temperatura ambiente (20°C a 25°C) e na obscuridade no percurso de 15 cm.

Tirar a placa e secá-la em atmosfera de azoto à temperatura ambiente.

5.2.3 — Revelação:

Pulverizar imediatamente a placa com um dos quatro reveladores referidos no n.º 3.23.

5.2.4 — Identificação:

Comparam-se os Rf e as colorações obtidas para a amostra com as das substâncias de referência aplicadas. O quadro I dá, a

título informativo, os valores de Rf e as colorações obtidas para cada substância de referência, em função do eluente e dos reveladores.

Em caso de identificação duvidosa, pode obter-se, por vezes, uma confirmação, juntando à amostra a substância de referência correspondente.

5.2.5 — Doseamento semiquantitativo:

Comparar visualmente a intensidade das manchas correspondentes a cada substância identificada no n.º 5.2.4 com uma gama padrão de concentrações conhecidas e adequadas, obtidas a partir da substância de referência correspondente.

Quando a concentração do componente da amostra é demasiado alta, diluir a solução a aplicar e efectuar um novo doseamento.

QUADRO I

Valores de Rf e colorações obtidas imediatamente após a revelação

Produto de referência (3.20)	Eluentes				Reveladores			
	Rf				Colorações			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Reagente diazóico (3.23.1)	Reagente de Ehrlich (3.23.2)	Reagente de dimetilfenol-cloreto férrico (3.23.3)	Reagente de nitrato de prata (3.23.4)
OFD	0,62	0,60	0,30	0,57	Castanho-claro	—	—	Castanho-claro.
MFD	0,40	0,60	0,47	0,48	Castanho-violáceo (*)	Amarelo	Castanho-claro	Castanho-claro.
PFD	0,20	0,50	0,30	0,46	Castanho	Vermelho-vivo	Violeta	Cinzento.
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	Castanho (*)	Laranja-claro	Castanho-claro	Castanho-acinzentado.
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	Castanho-avermelhado (*)	Amarelo	Castanho	Negro.
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	Castanho	Alaranjado	Violeta (*)	Cinzento.
DAF	0,07	—	0	0,05	Castanho (*)	Alaranjado	Violeta	Castanho.
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	Alaranjado	Violeta	Negro (*).
α-N	0,90	0,80	0,90	0,75	Castanho-alaranjado	—	Violeta (*)	Negro.
P	0,37	—	0,67	0,05	Castanho	Violeta-muito-claro	Castanho-muito-claro	Castanho (*).
R	0,50	0,37	0,80	0,17	Alaranjado (*)	Violeta-claro	Castanho-muito-claro	Castanho-claro.

(*) Indica a melhor revelação.

Nota. — Se o OFD é fracamente revelado, deve utilizar-se o eluente 3.22.3 para o separar nitidamente do OTD.

6 — Exame por cromatografia em camada fina bidimensional: A cromatografia em camada fina bidimensional descrita necessita dos seguintes reagentes:

6.1 — Substâncias e soluções da referência:

6.1.1 — β-naftol (β-N).

6.1.2 — 2-aminofenol (OAF).

6.1.3 — 3-aminofenol (MAF).

6.1.4 — 4-aminofenol (PAF).

6.1.5 — 2-nitro-*p*-fenilenodiamina (2-NPFD).

6.1.6 — 4-nitro-*o*-fenilenodiamina (4-NOFD):

Preparar uma solução a 0,5% (m/v) de cada uma das substâncias de referências suplementares como se indica no n.º 3.2.1.

6.2 — Eluente:

6.2.1 — Acetato de etilo, ciclo-hexano e amónia a 25% (65:35:0,5, em volume).

6.3 — Revelador:

Colocar um recipiente de vidro numa tina de desenvolvimento para cromatografia em camada fina com 2 g de iodo cristalizado e fechar a tina.

6.4 — Cromatografar:

6.4.1 — Traçar, como se indica na figura 1, duas linhas sobre a camada absorvente de uma placa de cromatografia em camada fina (4.1.3).

6.4.2 — Depositar, sob corrente de azoto, no ponto de partida 1 (figura 1), 1 µl a 4 µl do extracto 5.1. A quantidade depende da intensidade das manchas obtidas no cromatograma (5.2).

6.4.3 — Depositar, entre os pontos 2 e 3 (figura 1), os corantes de oxidação identificados (ou supostamente identificados) no n.º 5.2. Distância entre os pontos: 1,5 cm. Depositar 2 µl de cada uma das soluções de referência, à excepção do DAF, de que é necessário depositar 6 µl. A operação é executada em atmosfera de azoto.

6.4.4 — Recomeçar a operação descrita no n.º 6.4.3 para os pontos de partida 4 e 5 (figura 1) e conservar a placa em atmosfera de azoto até à cromatografia.

6.4.5 — Purgar uma tina de cromatografia com azoto e introduzir uma quantidade adequada de eluente (3.22.2). Colocar a placa (6.4.4) na tina e cromatografar na primeira direcção de eluição (figura 1) na obscuridade. Cromatografar no percurso de, pelo menos, 13 cm.

6.4.6 — Retirar a placa da tina e colocá-la na tina purgada com azoto (4.1), para evaporar os restos de eluente (durante, pelo menos, sessenta minutos).

6.4.7 — Introduzir, com uma proveta graduada, uma quantidade adequada de eluente (6.2.1) numa tina purgada com azoto, colocando a placa rodada de 90° relativamente à primeira direcção de eluição (6.4.6) na tina e cromatografar nesta segunda direcção na obscuridade até que a frente do solvente tenha atingido a linha traçada previamente sobre a camada absorvente. Tirar a placa da tina e evaporar o eluente ao ar.

6.4.8 — Expor a placa durante dez minutos, na tina de cromatografia, aos vapores de iodo (6.3) e interpretar o cromatograma bidimensional com a ajuda das substâncias de referência cromatografadas ao mesmo tempo (quadro II).

Nota. — Para obter uma coloração máxima das manchas, deixar o cromatograma ao ar durante meia hora após a revelação.

6.4.9 — A presença dos corantes de oxidação encontrados no n.º 6.4.8 pode ser confirmada de modo indubitável, recomeçando as operações descritas nos n.ºs 6.4.1 a 6.4.8, inclusive, admitindo a adição no ponto de partida 1, além da quantidade de extracto indicado no n.º 6.4.2, de 1 µl das substâncias de referência identificadas no n.º 6.4.8.

Se não for encontrada qualquer outra mancha, confirma-se a interpretação do primeiro cromatograma.

QUADRO II

Cor das substâncias de referência após cromatografia e revelação pelos vapores de iodo

Substâncias de referência	Cor após revelação pelos vapores de iodo
R	Bege.
P	Castanho.
α-N	Violeta.
β-N	Castanho-claro.

Substâncias de referência	Cor após revelação pelos vapores de iodo
H	Violeta-acastanhado.
MFD	Amarelo-acastanhado.
PFD	Violeta-acastanhado.
MTD	Castanho-escuro.
PTD	Amarelo-acastanhado.
DAF	Castanho-escuro.
OAF	Laranja.
MAF	Amarelo-acastanhado.
PAF	Violeta-acastanhado.
2-NPFD	Castanho.
4-NOFD	Laranja.

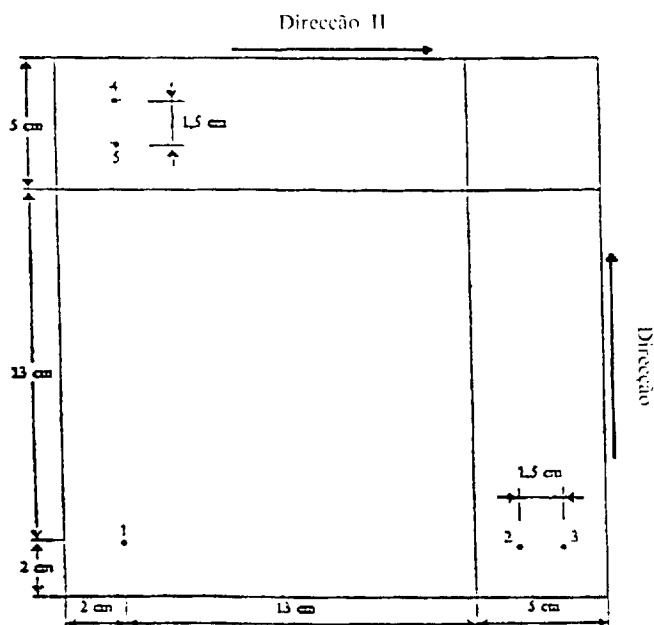


Fig. 1

CAPÍTULO XIII

Diclorometano e 1,1,1-tricloroetano — Doseamento

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 aos produtos cosméticos susceptíveis de conter estes produtos.

2 — Definição:

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

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 ($CHCl_3$).

4.2 — Tetracloroeto de carbono (CCl_4).

4.3 — Diclorometano (CH_2Cl_2).

4.4 — 1,1,1-tricloroetano (CH_2Cl_2).

4.5 — Acetona.

4.6 — Azoto.

5 — Aparelhagem:

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

5.2 — Cromatógrafo munido de um detector catarmétrico.

5.3 — Dispositivo de recolha de 50 ml-100 ml (v. em «Tratamento das amostras para laboratório», n.º 5.3).

5.4 — Seringa para gases, sob pressão (v. em «Tratamento das amostras para laboratório», n.º 5.4.22).

6 — Técnica:

6.1 — Amostra não pressurizada: pesar exactamente a amostra num matrás com rolha. Introduzir uma quantidade, pesada com exacti-

dão, de $CHCl_3$ (4.1) equivalente à quantidade pressuposta de CH_2Cl_2 e CH_3CCl_3 contida na amostra e homogeneizar.

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 dispositivo de recolha (5.3) uma quantidade de padrão interno (4.1) equivalente à quantidade pressuposta de CH_2Cl_2 e ou CH_3CCl_3 contida na amostra. Homogeneizar. Lavar o «volume morto» da válvula do dispositivo de recolha (5.3) com 0,5 ml de CCl_4 (4.2), que se deixa evaporar. Determinar a massa do padrão interno por pesagem diferencial do dispositivo de recolha (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 qualquer resíduo da amostra.

6.2.3 — Após cada aplicação, a ponta da válvula ou 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 dispositivos de recolha (5.3) diferentes, efectuando cinco medições por dispositivo.

7 — Condições cromatográficas:

7.1 — Pré-coluna:

Tubo inoxidável;

Comprimento: 30 cm;

Diâmetro: 3 mm ou 6 mm;

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

7.2 — Coluna:

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

$$R = 2 \cdot \frac{d' r_2 - d' r_1}{w_1 + w_2}$$

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 milímetros;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

7.3 — A título de exemplo, indicam-se as seguintes condições operatórias:

Coluna	I	II
Natureza	Tubo inoxidável ...	Tubo inoxidável.
Comprimento	350 cm	400 cm.
Diâmetro	3 mm	6 mm.
Enchimento:		
Chromosorb	WAW	WAW-DMCS-HP.
Granulometria	100-120 mesh	60-80 mesh.
Fase estacionária	Halicomid M 18 a 10 %	Halicomid M 18 a 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 b.	2,0 b.
Injecção	15 µl	15 µl.

8 — Determinação dos coeficientes de proporcionalidade:

Preparar num matrás a mistura seguinte, pesada com exactidão:

CH_2Cl_2 (4.3): 30 % (m/m) de diclorometano;

CH_3CCl_3 (4.4): 35 % (m/m) de tricloroetano;

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

Serve para estabelecer os coeficientes de proporcionalidade.

9 — Cálculos:

9.1 — Cálculo de um coeficiente de proporcionalidade de uma substância p em relação a uma substância a escolhida como padrão interno.

Considerando a substância p :

k_p = o seu coeficiente de proporcionalidade;
 m_p = a sua massa na mistura;
 A_p = a área do seu pico.

Considerando a substância a :

k_a = o seu coeficiente de proporcionalidade, considerado igual a 1;
 m_a = a sua massa na mistura;
 A_a = a área do seu pico.

$$k_p = \frac{m_p \cdot A_a}{m_a \cdot A_p}$$

A título de exemplo, foram obtidos os coeficientes de proporcionalidade seguintes (para CH_2Cl_2 : $k=1$):

$$CH_2Cl_2: k_1 = 0,78 \pm 0,03$$

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

9.2 — Cálculo das percentagens de CH_2Cl_2 e CH_3CCl_3 presentes na amostra a analisar, em que:

k_1 = o coeficiente de proporcionalidade de CH_2Cl_2 ;
 k_2 = o coeficiente de proporcionalidade de CH_3CCl_3 ;
 m_a = a massa de CH_2Cl_2 ;
 m_e = a massa da amostra a analisar;
 A_a = a área do pico de CH_2Cl_2 ;
 A_1 = a área do pico de CH_2Cl_2 ;
 A_2 = a área do pico de CH_3CCl_3 .

Teremos:

$$\text{Percentagem (m/m) de diclorometano} = \frac{m_e \cdot A_1 \cdot k_1 \cdot 100}{A_a \cdot m_e}$$

$$\text{Percentagem (m/m) de triclorometano} = \frac{m_e \cdot A_2 \cdot k_2 \cdot 100}{A_a \cdot m_e}$$

10 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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 %.

CAPÍTULO XIV

Formaldeído livre — Identificação e doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O método compreende uma identificação e dois doseamentos, consoante estejam ou não presentes libertadores de formaldeído. É aplicável a todos os produtos cosméticos.

1.1 — Identificação:

1.2 — Doseamento global por colorimetria com acetilacetona: Este método aplica-se quando o formaldeído é utilizado isolado ou com outros conservantes não libertadores de formaldeído.

Em caso contrário, e se o resultado ultrapassar a concentração máxima autorizada no produto acabado, utiliza-se o método de confirmação seguinte.

1.3 — Doseamento em presença de libertadores de formaldeído:

No método precedente, durante a derivação os libertadores de formaldeído são clivados e conduzem a resultados demasiado elevados (formaldeído livre e combinado).

É imperioso separar o formaldeído livre por cromatografia líquida.

2 — Definição:

O teor da amostra em formaldeído livre determinado por este método é expresso em percentagem de massa (m/m) de formaldeído.

3 — Identificação:

3.1 — Princípio:

O formaldeído livre e combinado, em meio sulfúrico, confere uma coloração rosa ou malva em presença do reagente de Schiff.

3.2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água desmineralizada.

3.2.1 — Fucsina.

3.2.2 — Sulfito de sódio hepta-hidratado.

3.2.3 — Ácido clorídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$).

3.2.4 — Ácido sulfúrico 1 M, aproximadamente.

3.2.5 — Reagente de Schiff:

Num copo, pesar 100 mg de fucsina (3.2.1) e dissolver em 75 ml de água a 80°C.

Após arrefecimento, acrescentar 2,5 g de sulfito de sódio (3.2.2) e 1,5 ml de ácido clorídrico (3.2.3).

Completar até 100 ml.

Duração de conservação: duas semanas.

3.3 — Técnica:

3.3.1 — Num copo de 10 ml introduzir cerca de 2 g de amostra.

3.3.2 — Juntar duas gotas de H_2SO_4 (3.2.4) e 2 ml de reagente de Schiff (3.2.5).

Este reagente deve estar rigorosamente incolor no momento da utilização. Agitar e deixar em contacto cinco minutos.

3.3.3 — Se em cinco minutos se observar uma coloração rosa ou malva, a quantidade de formaldeído presente é superior a 0,01 %. Efectuar então o doseamento do formaldeído livre e combinado segundo o n.º 4 e, se necessário, o n.º 5.

4 — Doseamento global por colorimetria com acetilacetona:

4.1 — Princípio:

O formaldeído reage com acetilacetona em presença do acetato de amónio para formar a 3-5-diacetil-1-4-di-hidrolutidina. Esta é extraída com 1-butanol. A absorvência do extracto é determinada a 410 nm.

4.2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água desmineralizada.

4.2.1 — Acetato de amónio anidro.

4.2.2 — Ácido acético concentrado ($d_4^{20} = 1,05$).

4.2.3 — Acetilacetona recentemente destilada a pressão reduzida (25 mm Hg 25°C) e que não deve apresentar qualquer absorção a 410 nm.

4.2.4 — 1-butanol.

4.2.5 — Ácido clorídrico 1 M.

4.2.6 — Ácido clorídrico 0,1 M, aproximadamente.

4.2.7 — Hidróxido de sódio 1 M.

4.2.8 — Cozimento de amido recentemente preparado de acordo com a *Farmacopeia Portuguesa*, 5.ª ed., 1986, parte I (1 g/50 ml de água).

4.2.9 — Formaldeído a 37 %-40 %.

4.2.10 — Solução titulada de iodo 0,05 M.

4.2.11 — Solução titulada de tiosulfato de sódio 0,1 M.

4.2.12 — Reagente de acetilacetona:

Num balão aferido de 1000 ml dissolver:

150 g de acetato de amónio (4.2.1);

2 ml de acetilacetona (4.2.3);

3 ml de ácido acético (4.2.2).

Completar até 1000 ml com água (pH da solução: 6,4 aproximadamente).

Este reagente deve ser preparado na altura.

4.2.13 — Reagente (4.2.12) sem acetilacetona.

4.2.14 — Formaldeído padrão: solução mãe:

Num balão aferido de 1000 ml introduzir 5 g de formaldeído (4.2.9) e completar com água até 1000 ml.

Determinação do título da solução mãe:

Tomar 10,00 ml, adicionar 25,00 ml de solução titulada de iodo (4.2.10) e 10 ml de solução de hidróxido de sódio (4.2.7). Deixar repousar durante cinco minutos. Acidificar com 11 ml de HCl (4.2.5) e dosear o iodo em excesso com uma solução titulada de tiosulfato de sódio (4.2.11), em presença de cozimento de amido como indicador.

1 ml desta solução de iodo (4.2.10) consumida corresponde a 1,5 mg de formaldeído.

4.2.15 — Formaldeído padrão — solução diluída:

Efectuar sucessivamente uma diluição $1/20$ e depois uma diluição $1/100$ da solução mãe em água.

1 ml desta solução mãe contém cerca de $1\mu g$ de formaldeído. Calcular o seu teor exacto.

4.3 — Aparelhos e utensílios:

4.3.1 — Material corrente de laboratório:

4.3.2 — Filtro separador de fase, ref. Whatman 1 PS (ou equivalente).

4.3.3 — Centrifugadora.

4.3.4 — Banho-maria regulado a 60°C.

4.3.5 — Espectrofotómetro.

4.3.6 — Tinas de vidro de 1 cm de percurso óptico.

4.4 — Técnica:

4.4.1 — Solução amostra:

Pesar com a precisão de 0,001 g uma quantidade de amostra correspondente a cerca de 150 μg de formaldeído. Transferir para um balão aferido de 100 ml. Completar até 100 ml com água e misturar (solução S). Verificar se o pH é próximo de 6; caso contrário, efectuar a diluição na solução de ácido clorídrico (4.2.6).

Num balão de Erlenmeyer de 50 ml juntar:

10,0 ml de solução S;

5,0 ml de reagente de acetilacetona (4.2.12) e água, até um volume de 30 ml.

4.4.2 — Solução testemunha:

A interferência eventual de uma coloração de fundo na amostra de ensaio é eliminada da seguinte forma:

Num balão de Erlenmeyer de 50 ml juntar:

10,0 ml da solução S;

5,0 ml de reagente (4.2.13) e água, até um volume de 30 ml.

4.4.3 — Ensaio a branco:

Num balão de Erlenmeyer de 50 ml juntar 5,0 ml de reagente de acetilacetona (4.2.12) e água, até um volume de 30 ml.

4.4.4 — Doseamento:

4.4.4.1 — Agitar as misturas preparadas nos n.ºs 4.4.1, 4.4.2 e 4.4.3. Mergulhar os balões em banho-maria a 60°C durante exactamente dez minutos. Arrefecer durante dois minutos num banho de água gelada.

4.4.4.2 — Transferir para uma ampola de decantação de 50 ml contendo exactamente 10 ml de 1-butanol (4.2.4). Lavar com 3 ml a 5 ml de água. Agitar fortemente a mistura durante trinta segundos exactos. Deixar decantar.

4.4.4.3 — Filtrar a fase butanólica por filtro separador de fase (4.3.2) para tintas do espectrofotómetro.

Pode também recorrer-se a uma centrifugação (300 rpm durante cinco minutos).

4.4.4.4 — Determinar a absorvência A_1 a 410 nm do extracto da solução amostra obtida no n.º 4.4.1 em relação ao extracto da solução testemunha (4.4.2).

4.4.4.5 — Da mesma forma, determinar a absorvência A_2 do extracto do ensaio em branco obtido no n.º 4.4.3 em relação a 1-butanol.

N. B. — Todas estas operações devem ser executadas num período de vinte e cinco minutos a partir do momento em que o balão é colocado em banho-maria a 60°C.

4.4.5 — Curva de calibração:

4.4.5.1 — Num balão de Erlenmeyer de 50 ml juntar:

5,0 ml de solução padrão diluída (4.2.15);

5,0 ml de reagente de acetilacetona (4.2.12) e água, até um volume final de 30 ml.

4.4.5.2 — Continuar segundo as indicações (4.4.4) e determinar a absorvência em relação ao 1-butanol (4.2.4).

4.4.5.3 — Repetir o processo com 10 ml, 15 ml, 20 ml e 25 ml de solução padrão diluída (4.2.15).

4.4.5.4 — Para obter o valor do ponto 0 (correspondente a coloração dos reagentes), proceder como no n.º 4.4.4.5.

4.4.5.5 — Construir a curva de calibração após subtração do valor do ponto 0 de cada uma das absorvências obtidas nos n.ºs 4.4.5.1 e 4.4.5.3.

A lei de Beer aplica-se até 30 µg de formaldeído.

4.5 — Cálculos:

4.5.1 — Subtrair A_2 de A_1 e ler sobre a curva de calibração (4.4.5.5) a quantidade C , expressa em microgramas, de formaldeído contido na solução 4.4.1.

4.5.2 — O teor em formaldeído da amostra em percentagem de massa (m/m) é calculado segundo a fórmula:

$$\text{Formaldeído (\%)} = \frac{C}{10^3 \cdot m}$$

m = massa, em gramas, da tomada de ensaio.

4.6 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em formaldeído de 0,2%, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não dever ultrapassar 0,005% para o doseamento colorimétrico com acetilacetona.

Se o doseamento do formaldeído conduzir a resultados superiores aos previstos na Portaria n.º 613/87, de 16 de Julho, a saber:

- Compreendidos entre 0,05% e 0,2%, quando não indicado no rótulo;
- Superiores a 0,2%, quando indicado ou não no rótulo;

é obrigatório proceder segundo o método descrito n.º 5.

5 — Doseamento em presença de libertadores de formaldeído:

5.1 — Princípio:

O formaldeído separado é transformado em derivado lutidínico amarelo por reacção com a acetilacetona num reactor pós-coluna. O derivado formado é doseado por espectrofotometria a 420 nm.

5.2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica e a água desmineralizada.

5.2.1 — Água de qualidade HPLC.

5.2.2 — Acetato de amónio anidro.

5.2.3 — Ácido acético ($d_4^{20} = 1,05$).

5.2.4 — Acetilacetona (conservada a 4°C).

5.2.5 — Fosfato disódico anidro.

5.2.6 — Ácido ortofosfórico a 85% ($d_4^{20} = 1,7$).

5.2.7 — Metanol.

5.2.8 — Diclorometano.

5.2.9 — Formaldeído a 37%-40%.

5.2.10 — Hidróxido de sódio 1 M.

5.2.11 — Ácido clorídrico 1 M.

5.2.12 — Ácido clorídrico 0,002 M.

5.2.13 — Cozimento de amido recentemente preparado de acordo com a *Farmacopeia Portuguesa*.

5.2.14 — Solução titulada de iodo 0,05 M.

5.2.15 — Solução titulada de tiosulfato de sódio 0,1 M.

5.2.16 — Fase móvel:

Solução aquosa de fosfato dissódico (5.2.5) 0,006 M ajustado a um pH 2,1 com ácido ortofosfórico (5.2.6).

5.2.17 — Reagente pós-coluna:

Dissolver num balão aferido de 1000 ml:

62,5 g de acetato de amónio (5.2.2);

7,5 ml de ácido acético (5.2.3);

5 ml de acetilacetona (5.2.4).

Completar até 1000 ml com água (5.2.1). Manter o reagente ao abrigo da luz. Conservação: máximo de três dias a 25°C. Não deve verificar-se alteração da cor.

5.2.18 — Formaldeído padrão — solução mãe:

Num balão aferido de 1000 ml introduzir 10 g de formaldeído (5.2.9) e completar com água até 1000 ml.

Determinação do título da solução mãe:

Tomar 5,0 ml, adicionar 25,0 ml da solução titulada de iodo (5.2.14) e 10 ml de solução de hidróxido de sódio (5.2.10). Deixar repousar durante cinco minutos. Acidificar com 11,0 ml de HCl (5.2.11) e dosar o iodo em excesso com uma solução titulada de tiosulfato de sódio (5.2.15), em presença de cozimento de amido (5.2.13) como indicador.

1 ml de solução de iodo (5.2.14) consumida corresponde a 1,5 mg de formaldeído.

5.2.19 — Formaldeído padrão — solução diluída:

Efectuar uma diluição a $1/100$ da solução-mãe na fase móvel (5.2.16).

1 ml desta solução contém cerca de 37 µg de formaldeído; calcular o seu teor exacto.

5.3 — Aparelhos:

5.3.1 — Material corrente de laboratório.

5.3.2 — Uma bomba HPLC sem pulsações.

5.3.3 — Uma bomba de baixa pressão sem pulsações para o reagente (ou uma segunda bomba HPLC com as mesmas características da primeira).

5.3.4 — Uma válvula de injeção munida de uma ansa de 10 µl.

5.3.5 — Reactor pós-coluna com os seguintes elementos:

Um balão de três tubuladuras de 1 l;

Um aquecedor de balões de 1 l;

Duas colunas Vigreux com um mínimo de 10 patamares (refrigerante a ar);

Um tubo inox (para permuta térmica) — Ø ext.: 1,6 mm; Ø int.: 0,23 mm; comprimento: 400 mm;

Tubo de teflon — Ø ext.: 1,6 mm; Ø int.: 0,30 mm; comprimento: 5 m (*tricotin*) (v. anexo 1);

Um «T» sem volume morto (Valco, ou equivalente);

Três junções *Union* sem volume morto, ou um módulo pós-coluna do tipo Applied Biosystems PCRS 520, ou equivalente, munido de um reactor de 1 ml.

5.3.6 — Membrana filtrante de 0,45 µ.

5.3.7 — Cartucho *Seppak* RC₁₈ (ou equivalente).

5.3.8 — Colunas prontas para uso:

Bischoff *hypersil* RP 18 (tipo NC, ref. C 25.46 1805) (5 µ; comprimento: 250 mm; Ø int.: 4,6 mm), ou Dupont, Zorbax ODS (5 µ; comprimento: 250 mm; Ø int.: 4,6 mm), ou Phase SEP, spherisorb ODS 2 (5 µ; comprimento: 250 mm; Ø int.: 4,0 mm).

5.3.9 — Pré-coluna:

Bischoff K1 *hypersil* RP 18 (ref. K1 G 6301 1805), ou equivalente (5 µ; comprimento: 10 mm).

5.3.10 — A coluna e a pré-coluna são ligadas por um sistema Eco-tube (ref. A 15020508 Bischoff), ou equivalente.

5.3.11 — Efectuar a montagem (5.3.5) segundo o esquema do anexo 2.

As ligações a seguir à válvula de injeção devem ser o mais curtas possível. Neste caso, o tubo inox colocado entre a saída do reactor e a entrada do detector tem por objectivo arrefecer a mistura antes da detecção. A temperatura dentro do detector não é conhecida, mas é constante.

- 5.3.12 — Detector de UV/visível.
 5.3.13 — Registador.
 5.3.14 — Centrifugadora.
 5.3.15 — Banho de ultra-sons.
 5.3.16 — Agitador (tipo Vortex, ou equivalente).
 5.4 — Técnica:

5.4.1 — Curva de calibração:

Obtém-se medindo a altura dos picos em função da concentração. As soluções padrão obtêm-se por diluição da solução diluída de formaldeído padrão (5.2.19) na fase móvel (5.2.16):

- 1,0 ml de solução padrão (5.2.19) diluída a 20,0 ml: cerca de 185 µg/100 ml;
 2,0 ml de solução padrão (5.2.19) diluída a 20,0 ml: cerca de 370 µg/100 ml;
 5,0 ml de solução padrão (5.2.19) diluída a 25,0 ml: cerca de 740 µg/100 ml;
 5,0 ml de solução padrão (5.2.19) diluída a 20,0 ml: cerca de 925 µg/100 ml.

As soluções padrão são guardadas durante uma hora à temperatura do laboratório e devem ser preparadas no momento. A linearidade da curva de calibração é adequada para concentrações de 1,00 µg/ml a 15,00 µg/ml.

5.4.2 — Preparação de amostras:

5.4.2.1 — Emulsões (cremes, bases, eyeliners):

Pesar, com a precisão de 0,001 g, uma quantidade de amostra correspondente a cerca de 100 µg de formaldeído. Transferir para tubo de centrifuga de 100 ml. Juntar 20 ml de diclorometano (5.2.8) e 20,0 ml de ácido clorídrico (5.2.12). Misturar utilizando o agitador (5.3.16) e ultra-sons (5.3.15). Separar as duas fases por centrifugação (3000 rpm durante dois minutos). À parte, lavar um cartucho (5.3.7) com 2 ml de metanol (5.2.7) e condicioná-lo com 5 ml de água (5.2.1). Fazer passar 4 ml da fase aquosa do extracto através do cartucho condicionado, eliminar os primeiros 2 ml e recuperar a fracção seguinte.

5.4.2.2 — Loções e champôs:

Pesar, com a precisão de 0,001 g, uma quantidade de amostra correspondente a cerca de 100 µg de formaldeído. Transferir para um balão volumétrico de 100 ml. Completar até 100 ml com a fase móvel (5.2.16). A solução é filtrada através da membrana filtrante (5.3.6) e injectada ou passada através de um cartucho (5.3.7) condicionado como no n.º 5.4.2.1.

Todas as soluções devem ser injectadas imediatamente.

5.4.3 — Condições cromatográficas:

- Débito da fase móvel: 1 ml/min.;
 Débito do reagente: 0,5 ml/min.;
 Débito total à saída do detector: 1,5 ml/min.;
 Volume injectado: 10 µl;
 Temperatura de eluição: nas separações difíceis, a coluna é imersa num banho de gelo em fusão — aguardar que as temperaturas se equilibrem (quinze a vinte minutos);
 Temperatura de reacção pós-coluna: 100°C;
 Detecção: 420 nm.

N. B. — O conjunto do sistema cromatográfico e pós-coluna deve ser lavado com água (5.2.1) depois da utilização. No caso de uma interrupção superior a dois dias, esta lavagem deve ser seguida de uma lavagem com metanol. Antes de recondicionar o sistema, passá-lo por água, para evitar recristalizações.

5.5 — Cálculos:

Emulsões (5.4.2.1):

Teor em formaldeído em percentagem de massa (m/m):

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{5 \text{ m}} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{5 \text{ m}}$$

Loções e champôs (5.4.2.2):

Teor em formaldeído:

$$\frac{C \cdot 10^{-6} \cdot 100}{m} = \frac{C \cdot 10^{-4}}{m}$$

em que:

m = massa, em gramas, da amostra submetida a análise;

C = concentração, em microgramas/100 ml, de formaldeído lida na curva da calibração (5.4.1).

5.6 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em formaldeído de 0,05 %, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados com a mesma amostra não deve ultrapassar 0,001 %.

Para um teor em formaldeído de 0,2 %, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados com a mesma amostra não deve ultrapassar 0,005 %.

ANEXO 1

Construção de um *tricotin*

Acessórios utilizados para construção do *tricotin*:

Um cilindro de madeira:

Diâmetro externo de 5 cm; no meio do cilindro é feito um furo de 1,5 cm. Pregam-se quatro puas de aço de forma a ficarem equidistantes (v. o esquema do cilindro — figuras 1 e 2). Distância entre duas puas: 1,8 cm. Distância entre uma pua e o furo central: 0,5 cm;

Uma haste rígida (de tipo agulha de *crochet*) para fazer as laçadas a partir do tubo de *teflon*;

Tubo de *teflon* — Ø ext.: 1,6 mm; Ø int.: 0,3 mm; comprimento: 5 m.

Funcionamento do *tricotin*:

Para fazer funcionar o *tricotin* é necessário enfiar o tubo de *teflon* de cima para baixo através do tubo central do cilindro (deixando sair pela face inferior cerca de 10 cm de tubo, o que permitirá puxar ligeiramente o cordão que vai sendo confeccionado) e enrolar o tubo à volta de cada uma das quatro puas para efectuar a primeira volta (v. figura 3).

A entrada e a saída do *tricotin* são providas de casquilho e parafusos de pressão: é necessário ter cuidado para não esmagar o *teflon* durante a montagem.

A partir da segunda volta fazer passar o tubo pelo exterior de cada pua, para em seguida formar uma laçada da seguinte forma: fazer passar o tubo da volta inferior sobre o tubo da volta superior com a ajuda da haste rígida (v. figura 4).

Este trabalho deve ser repetido para cada uma das puas respeitando a ordem 1-2-3-4, até se obterem os 5 m ou o comprimento desejado. Deixar cerca de 10 cm de tubo para fechar o cordão. Passar o tubo por dentro de cada uma das quatro laçadas e puxar ligeiramente, fechando, assim, o cordão.

N. B. — Existem no mercado *tricotins* fabricados para reacções pós-coluna (SUPELCO).

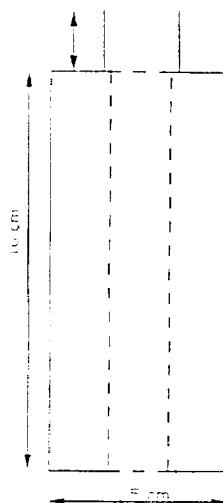


Fig. 1

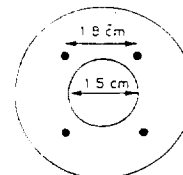
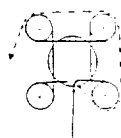


Fig. 2



1.ª volta
Fig. 3



2.ª volta

Para formar a laçada passar o tubo inferior (a cheio) por cima do 2.º tubo (a tracejado).

Fig. 4

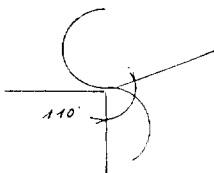
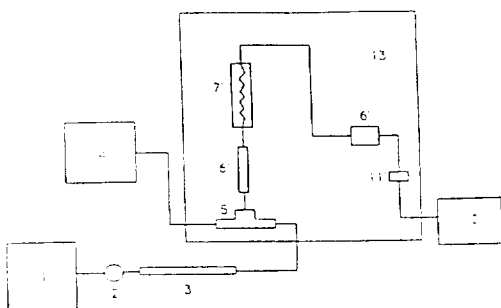


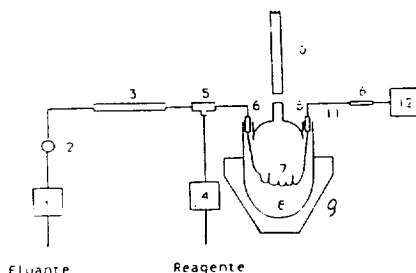
Fig. 5

ANEXO 2

5.3.5:



5.3.6:



- 1 — Bomba HPLC (5.3.2).
- 2 — Válvula de injeção (5.3.4).
- 3 — Coluna com pré-coluna.
- 4 — Bomba do reagente.
- 5 — «T» sem volume morto.
- 5' — «T» (Vortex).
- 6-6' — Junção Union sem volume morto.
- 7 — Tricotin.
- 7' — Reator.
- 8 — Balão de três tubuladuras com água a ferver.
- 9 — Aquecedor de balões.
- 10 — Refrigerante.
- 11 — Tubo inox de troca térmica.
- 11' — Dispositivo de troca térmica.
- 12 — Detector de UV/visível.
- 13 — Módulo pós-coluna PCRS 520.

CAPÍTULO XV

Hexaclorofeno — Identificação

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 fina.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade 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.º 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.º 2:

Solução de 2,6-dibromo-4-(cloroimino) ciclo-hexa-2,5-dienona: dissolver 400 mg de 2,6-dibromo-4-(cloroimino) ciclo-hexa-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 para cromatografia em camada fina de sílica F_{254} de 20 cm x 20 cm.

4.2 — Material corrente de laboratório para cromatografia em camada fina.

4.3 — Banho termostático 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 duas 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 o 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 (4.1).

6.2 — Saturar a tina termostática a 26°C com eluente (3.4).

6.3 — Colocar a placa de cromatografia em camada fina na tina 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 nos n.ºs 6.5.1 ou 6.5.2.

6.5.1 — Pulverizar o revelador n.º 1 (3.5) de modo uniforme sobre a placa. Passados trinta minutos, examinar a placa com luz UV de 254 nm.

6.5.2 — Pulverizar o revelador n.º 2 (3.6) utilizando sucessivamente a solução de 2,6-dibromo-4-(cloroimino) ciclo-hexa-2,5-dienona e em seguida a solução de carbonato de sódio. Examinar a placa à luz do dia após dez minutos de secagem à temperatura ambiente.

7 — Interpretação dos resultados:

7.1 — Revelador n.º 1 (3.5):

O hexaclorofeno é revelado sob forma de manchas azuladas sobre fundo amarelo-laranja, fluorescente e apresenta um R_f de 0,5, aproximadamente.

7.2 — Revelador n.º 2 (3.6):

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

CAPÍTULO XVI

Hidróxidos de sódio e de potássio livres
Identificação e doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O método descreve o procedimento que permite identificar os produtos cosméticos contendo quantidades importantes de hidróxidos de sódio e ou de potássio livres e dosear estes hidróxidos nos produtos de desfrisagem dos cabelos e nos solventes da cutícula das unhas.

2 — Definição:

O hidróxido de sódio e de potássio livre define-se como sendo o volume de ácido de referência necessário para neutralizar o produto em condições determinadas e exprime-se sob a forma de hidróxido de sódio livre.

3 — Princípio:

A amostra é dissolvida ou dispersa em água e titulada com o ácido de referência. Regista-se a variação do valor do pH ao mesmo tempo que se acrescenta o ácido: para uma solução simples de hidróxidos de sódio ou potássio, o fim da titulação corresponde a uma variação precisa do valor do pH registado.

A curva de titulação normal pode ser modificada pela presença de:

- a) Amónia e outras bases orgânicas fracas, que apresentam, elas próprias, uma curva de titulação bastante plana. Neste caso, a amónia é eliminada por evaporação sob pressão reduzida, à temperatura ambiente;
- b) Sais de ácidos fracos, o que pode originar uma curva de titulação apresentando vários pontos de inflexão. Neste caso, só a primeira parte da curva, até ao primeiro destes pontos de inflexão, corresponde à neutralização do ião hidróxido proveniente do hidróxido de sódio e de potássio livre.

Preconiza-se um outro procedimento de titulação, no álcool, quando é indicado que existe uma interferência excessiva dos sais de ácidos inorgânicos fracos. Se bem que seja teoricamente possível encontrar outras bases fortes solúveis, tais como hidróxido de lítio ou hidróxido de amónio quaternário, que dão um *pH* elevado, a sua presença neste tipo de produtos cosméticos é altamente improvável.

4 — Identificação:

4.1 — Reagentes:

4.1.1 — Solução tampão alcalina de referência de *pH* 9,18 a 25°C: solução 0,05 *M* de tetraborato de sódio.

4.2 — Aparelhagem:

4.2.1 — Material corrente de laboratório.

4.2.2 — Potenciómetro.

4.2.3 — Eléctrodo de vidro.

4.2.4 — Eléctrodo de referência de calomelanos.

4.3 — Técnica:

Aferir o aparelho de medida por meio da solução tampão de referência (4.1.1). Preparar uma solução ou dispersão a 10% do produto a analisar em água e filtrar. Determinar o *pH*. Se for igual ou superior a 12, é necessário efectuar um doseamento.

5 — Doseamento:

5.1 — Titulação em meio aquoso:

5.1.1 — Reagentes:

5.1.1.1 — Solução 0,1 *N* de ácido clorídrico titulada.

5.1.2 — Aparelhagem:

5.1.2.1 — Material corrente de laboratório.

5.1.2.2 — Potenciómetro, de preferência com registador.

5.1.2.3 — Eléctrodo de vidro.

5.1.2.4 — Eléctrodo de referência de calomelanos.

5.1.3 — Técnica:

Pesar com precisão, num copo de 150 ml, uma tomada de ensaio de 0,5 g a 1 g. Na presença de amoníaco, juntar algumas bolas de vidro, colocar o copo num exsiccador para vácuo, proceder ao vácuo até que o cheiro de amoníaco desapareça (cerca de três horas). Dissolver ou dispersar o resíduo em 100 ml de água. Titular com uma solução de ácido clorídrico 0,1 *N* (5.1.1.1), registando a variação do *pH* (5.1.2.2).

5.1.4 — Cálculos:

Determinar os pontos de inflexão da curva de titulação. Quando o primeiro ponto de inflexão aparece a um *pH* inferior a 7, a amostra não contém hidróxido de sódio ou de potássio. Quando se formam dois ou vários pontos de inflexão na curva, só o primeiro é tomado em consideração. Anotar o volume da solução de titulação neste primeiro ponto de inflexão.

Seja:

V = o volume da solução de titulação, em mililitros;

M = a massa da tomada de ensaio, em gramas.

A concentração em hidróxidos de sódio e, ou de potássio é expressa em percentagem (m/m) de hidróxido de sódio pela fórmula:

$$\text{Percentagem de hidróxido de sódio} = 0,4 \frac{V}{M}$$

Pode acontecer que, apesar da indicação da presença de uma quantidade bastante importante de hidróxidos de sódio e ou potássio, a curva de titulação não apresente ponto de inflexão distinto. Neste caso, convém proceder a um novo doseamento em isopropanol.

5.2 — Titulação em isopropanol:

5.2.1 — Reagentes:

5.2.1.1 — Isopropanol.

5.2.1.2 — Solução aquosa titulada 1,0 *N* de ácido clorídrico.

5.2.1.3 — A solução 0,1 *N* de ácido clorídrico no isopropanol é preparada imediatamente antes da utilização por diluição da solução aquosa de ácido clorídrico 1,0 *N*, com isopropanol.

5.2.2 — Aparelhagem:

5.2.2.1 — Material corrente de laboratório.

5.2.2.2 — Potenciómetro, de preferência com registador.

5.2.2.3 — Eléctrodo de vidro.

5.2.2.4 — Eléctrodo de referência de calomelanos.

5.2.3 — Técnica:

Pesar com precisão, num copo de 150 ml, uma tomada de ensaio entre 0,5 g e 1 g. Na presença de amoníaco, juntar algumas bolas de vidro, colocar o copo num exsiccador para vácuo e proceder ao vácuo até que o cheiro de amoníaco desapareça (cerca de três horas). Dissolver ou dispersar o resíduo em 100 ml de isopropanol. Titular com a solução 0,1 *N* de ácido clorídrico no isopropanol (5.2.1.3) registando a variação do *pH* aparente (5.2.2.2).

5.2.4 — Cálculos:

O mesmo método que no n.º 5.1.4. O primeiro ponto de inflexão é visível a um *pH* aparente de cerca de 9.

5.3 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para teores da ordem dos 5% (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ultrapassar 0,25%.

CAPÍTULO XVII

8-hidroxiquinoleína e seu sulfato

Identificação e dosamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

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

2 — Definição:

O teor da amostra em 8-hidroxiquinoleína determinado segundo este método é expresso em percentagem de massa (m/m) de 8-hidroxiquinoleína.

3 — Princípio:

3.1 — Identificação:

É efectuada por cromatografia em camada fina.

3.2 — Doseamento:

É efectuada por espectrofotometria em 410 nm de um 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 padrão:

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, para um balão aferido de 100 ml, pipetar 10 ml de solução A e 10 ml de solução B. Completar o volume com água e misturar.

4.17 — Eluentes:

Eluente I: 1-butanol, ácido acético e água (80:20:20, em volume).

Eluente II: clorofórmio e ácido acético (95:5, em volume).

4.18 — Solução a 1% de 2,6-dicloro-4-(cloroimino) ciclo-hexa-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 di-hidrogenoetilenodiaminatetra-acetato dissódico a 5% (m/v).

4.22 — Solução tampão de *pH* 7:

Pesar 27 g de KH_2PO_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 para cromatografia em camada fina de sílica prontas para utilização, com a espessura de 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 ml e 5 ml.

5.4 — Pipetas aferidas de 20 ml, 15 ml, 10 ml e 5 ml.

5.5 — Ampolas de decantação de 100 ml, 50 ml e 25 ml.

5.6 — Filtros de pregas de 9 cm de diâmetro.

5.7 — Evaporador rotativo.

5.8 — Refrigerante de refluxo esmerilhado.

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 tampão de lã de vidro e cuja parte superior é adaptada à 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* de uma fracção de amostras a analisar, aplica-se 5 µl e 10 µl em cada um dos pontos da linha de partida de uma placa recoberta de uma camada delgada de gele de sílica, tratada previamente como referido no n.º 4.23.

6.1.1.2 — Sobre dois outros pontos da linha de partida, aplicam-se 10 µl 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 quinze minutos. 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 µl e 30 µl da solução obtida numa placa de gele de sílica, procedendo como foi indicado no n.º 6.1.1.1.

6.1.2.2 — Após ter aplicado 10 µl e 30 µl da solução padrão (4.15.2), procede-se como indicado nos n.ºs 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 esmerilhado de fundo redondo de 100 ml pesar 5 g da amostra. Juntar 1 ml de ácido sulfúrico 1 *N* (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 três 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 trinta minutos, agitando.

6.2.2.2 — Transferir o 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 n.º 6.2.2.4.

6.2.2.3 — Caso das emulsões que não convêm para prosseguimento da análise. Misturar 0,500 g da amostra com 2 g de celite 545 (4.14), de modo a obter um pó fluido. Colocar a mistura, em pequenas fracções, na coluna de vidro para cromatografia (5.12). Após cada adição, homogeneizar e compactar o conteúdo da coluna. Quando toda

a mistura amostra-celite for introduzida na coluna, eluir com ácido clorídrico 0,1 *N* (4.13), de modo a obter 10 ml de eluído em cerca de dez minutos. Em caso de necessidade, pode-se proceder a esta eluição, exercendo uma ligeira pressão com azoto. Durante a eluição é conveniente assegurar-se de que há sempre ácido clorídrico acima da mistura amostra-celite.

Os primeiros 10 ml de eluído são seguidamente tratados como indicado no n.º 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 ampola de decantação. 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 num 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 de uma solução aquosa de etanol a 30% (4.20), pipetar 5 ml, 10 ml, 15 ml e 20 ml da solução padrão (4.15.1) e proceder como indicado no n.º 6.2.1.

8 — Expressão dos resultados:

8.1 — Amostras líquidas:

Percentagem (m/m) de 8-hidroxiquinoleína = $\frac{a \cdot 100}{m}$

em que:

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

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

8.2 — Amostras sólidas e cremes:

Percentagem (m/m) de 8-hidroxiquinoleína = $\frac{2 \cdot a \cdot 100}{m}$

em que:

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

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

9 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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%.

CAPÍTULO XVIII

Iodato de sódio — Identificação e doseamento

Objectivo e campo de aplicação:

O método é adequado para a identificação e doseamento do iodato de sódio nos produtos cosméticos sujeitos a lavagem após utilização.

A — Identificação

1 — Princípio:

O iodato de sódio é separado dos outros halogenatos por cromatografia em camada fina e identificado por oxidação do iodeto em iodo.

2 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

2.1 — Soluções de referência: soluções aquosas de clorato, bromato e iodato de potássio a 0,01% (m/v) preparadas recentemente.

2.2 — Eluente: solução de amoníaco a 28% (m/v), acetona e butanol (60:130:30, em volume).

2.3 — Solução aquosa de iodeto de potássio a 5% (m/v).

2.4 — Solução de amido de 1% a 5% (m/v).

2.5 — Ácido clorídrico 1 *M*.

3 — Aparelhagem:

3.1 — Placas de cromatografia em camada fina prontas para utilização, revestidas de celulose (0,25 mm).

3.2 — Material corrente de cromatografia em camada fina.

4 — Técnica:

4.1 — Extrair cerca de 1 g de amostra com água, filtrar e diluir a cerca de 10 ml.

4.2 — Aplicar 2 µl desta solução na linha de base da placa (3.1) e 2 µl de cada uma das três soluções de referência (2.1).

4.3 — Colocar a placa numa tina de desenvolvimento e desenvolver por cromatografia ascendente aproximadamente no percurso de três quartos do comprimento da placa com a ajuda do eluente (2.2).

4.4 — Retirar a placa da tina e deixar evaporar o eluente à temperatura ambiente.

Nota. — A operação pode demorar duas horas.

4.5 — Pulverizar a placa com iodeto de potássio (2.3) e deixar secar durante cerca de cinco minutos.

4.6 — Pulverizar seguidamente com a solução de amido (2.4) e deixar secar durante cerca de cinco minutos.

4.7 — Pulverizar finalmente com ácido clorídrico (2.5).

5 — Avaliação:

Em presença de iodato, aparece imediatamente uma mancha azul, tornando-se acastanhada, com o valor de R_f aproximadamente de 0 a 0,2. Os bromatos reagem imediatamente, apresentando valores de R_f de 0,5 a 0,6, e os cloratos reagem cerca de trinta minutos depois, apresentando valores de R_f de 0,7 a 0,8.

B — Doseamento

1 — Definição:

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

2 — Princípio:

O iodato de sódio é dissolvido em água e doseado por cromatografia líquida a alta pressão, utilizando (em série) uma coluna de fase reversa C 18 e uma coluna permutadora de aniões.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica. Devem, nomeadamente, ser apropriados para a cromatografia líquida a alta pressão.

3.1 — Ácido clorídrico 4 M.

3.2 — Solução aquosa de sulfito de sódio a 5% (m/v).

3.3 — Solução mãe de iodato de sódio: preparar uma solução contendo 50 mg de iodato de sódio por 100 ml de água.

3.4 — Di-hidrogeno-ortofosfato de potássio.

3.5 — Hidrogeno-ortofosfato dissódico $2H_2O$.

3.6 — Fase móvel da cromatografia líquida a alta pressão: dissolver 3,88 g de di-hidrogeno-ortofosfato de potássio (3.4) e 1,19 g de hidrogeno-ortofosfato dissódico $2H_2O$ (3.5) em 1 l de água.

O pH da solução obtida é 6,2.

3.7 — Papel indicador universal, pH 1-11.

4 — Aparelhagem:

Material corrente de laboratório.

4.1 — Papel de filtro de 110 mm de diâmetro, Schleicher e Schull n.º 5/5, ou equivalente.

4.2 — Cromatógrafo líquido a alta pressão munido de um detector com comprimento de onda variável.

4.3 — Colunas: com comprimento de 120 mm e com diâmetro interno de 4,6 mm, em número de dois, em série; primeira coluna com nucleosil (R) 5 C 18, ou equivalente, segunda coluna com Vydac, TM-301-SB, ou equivalente.

5 — Técnica:

5.1 — Preparação das amostras:

5.1.1 — Amostras fluidas (champôs):

Pesar com precisão uma tomada de ensaio de cerca de 1,0 g em proveta graduada com rolha esmerilhada ou num balão aferido de 10 ml. Completar com água e misturar. Em caso de necessidade, filtrar a solução. Determinar a quantidade de iodato na solução por meio de cromatografia líquida a alta pressão, conforme é descrito no n.º 5.2.

5.1.2 — Amostras sólidas (sabão):

Dividir finamente uma parte da amostra, pesar com precisão uma tomada de ensaio de cerca de 1,0 g e introduzir em proveta graduada com rolha esmerilhada de 100 ml. Encher com água até 50 ml e agitar energicamente durante um minuto; centrifugar ou filtrar por papel, ou deixar repousar a mistura durante uma noite, pelo menos; agitar energicamente a solução gelatinosa e filtrar esta por papel (4.1). Dosear o iodato no filtrado por cromatografia líquida a alta pressão, conforme é descrito no n.º 5.2.

5.2 — Cromatografia:

Débito: 1 ml/min.;

Comprimento de onda do detector: 210 nm;

Volume injectado: 10 µl;

Medida: área do pico.

5.3 — Calibração:

Pipetar, respectivamente, 1,0 ml, 2,0 ml, 5,0 ml, 10,0 ml e 20,0 ml da solução mãe do iodato de sódio (3.3) em balões aferidos de 50 ml. Completar o volume e agitar. As soluções assim obtidas contêm, respectivamente, 0,01mg, 0,02 mg, 0,05 mg, 0,10 mg e 0,20 mg de iodato de sódio por mililitro. Injectar 10 µl de cada solução de referência no cromatógrafo líquido (4.2). Determinar a área do pico para

o iodato e estabelecer uma curva de calibração: área do pico-concentração de iodato.

6 — Cálculo:

Calcular o teor de iodato de sódio em percentagem de massa (% m/m) utilizando a fórmula:

$$\text{Percentagem de massa de iodato de sódio} = \frac{V_c}{10 m}$$

em que:

m = a massa, expressa em gramas, da tomada de ensaio (5.1);

V = o volume total da solução de amostra, expresso em mililitros, obtido conforme é descrito no n.º 5.1;

c = a concentração, expressa em miligramas/mililitros, de iodato de sódio obtido a partir da curva de calibração.

7 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em iodato de sódio de 0,1 % (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos efectuados em paralelo na mesma amostra não deve ultrapassar 0,002 %.

8 — Confirmação:

8.1 — Princípio:

Em solução ácida, o iodato (IO_3^-) é reduzido a iodeto (I^-) pelo sulfito e a solução obtida é examinada por cromatografia líquida a alta pressão. Se um pico com um iodato desaparecer após tratamento com sulfito, o pico original pode ser considerado como o iodato.

8.2 — Técnica:

Pipetar para matrás uma tomada de ensaio de 5 ml da solução da amostra obtida no n.º 5.1. Ajustar o pH da solução a um valor inferior ou igual a 3 com ácido clorídrico (3.1) e papel indicador universal de pH (3.7). Juntar três gotas da solução de sulfito sódico (3.2) e agitar. Injectar 10 µl da solução no cromatógrafo líquido (4.2). Comparar o cromatograma com o que foi obtido da forma descrita no n.º 5 para a mesma amostra.

CAPÍTULO XIX

Metanol em relação ao etanol ou ao 2-propanol — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento do metanol por cromatografia em fase gasosa em todos os tipos de produtos cosméticos, incluindo os aerossóis. Aplica-se a concentrações relativas de 0% a 10%.

2 — Definição:

O teor em metanol determinado segundo este método é expresso em percentagem de massa (m/m) de metanol em relação com a massa de etanol ou de 2-propanol.

3 — Princípio:

O doseamento é efectuado por cromatografia em fase gasosa.

4 — Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Metanol.

4.2 — Etanol absoluto.

4.3 — 2-propanol.

4.4 — Clorofórmio, lavado com água para eliminar os álcoois.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Cromatógrafo de fase gasosa com detector catarmétrico (para as amostras de produtos em aerossóis). Cromatógrafo de fase gasosa com detector de ionização de chama (para as amostras de outros produtos).

5.2 — Balões aferidos de 100 ml.

5.3 — Pipetas aferidas de 0,1 ml, 2 ml e 20 ml.

5.4 — Microseringas de 0 µl a 100 µl e de 0 µl a 5 µl:

Somente para as amostras de produtos em aerossóis, seringa especial para gás, com válvula móvel (figura 5 do método de amostragem).

6 — Técnica:

6.1 — Preparação das amostras:

6.1.1 — Os produtos em aerossóis são tratados como indicado na 2.ª parte e depois analisados por cromatografia em fase gasosa nas condições indicadas no n.º 6.2.

6.1.2 — Os outros produtos, tratados como indicado na 2.ª parte, são diluídos em água até uma concentração de 1 % a 2 % de etanol ou de 2-propanol, e depois analisados por cromatografia em fase gasosa nas condições indicadas no n.º 6.2.2.

6.2 — Condições de cromatografia em fase gasosa:

6.2.1 — Para as amostras de produtos em aerossóis:

6.2.1.1 — Utilizar-se-á uma coluna cheia com 10 % de Hallcomid M 18 sobre Chromosorb WAW 100-120 mesh e um detector catarmétrico.

6.2.1.2 — A fase estacionária deve permitir um grau de resolução igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R_1 e R_2 = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos;

W_1 e W_2 = largura dos mesmos picos a meia altura;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

6.2.1.3 — As condições seguintes permitem obter bons resultados:

Tipo de coluna: aço inoxidável;

Comprimento: 3,5 m;

Diâmetro: 3 mm;

Intensidade de corrente do detector catarmétrico: 150 mA;

Gás de arrastamento: hélio;

Pressão: 2,5 b;

Débito: 45 ml/min.;

Temperaturas:

Injector: 150°C;

Detector: 150°C;

Coluna: 65°C.

6.2.2 — Para as amostras de outros produtos:

6.2.2.1 — Utilizar-se-á uma coluna cheia com Chromosorb 105 ou com Porapak Qs e um detector de ionização de chama.

6.2.2.2 — A fase estacionária deve permitir um grau de resolução igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' R_2 - d' R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R_1 e R_2 = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos;

W_1 e W_2 = largura dos mesmos picos a meia altura;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

6.2.2.3 — As condições seguintes permitem obter bons resultados:

Tipo de coluna: aço inoxidável;

Comprimento: 2 m;

Diâmetro: 3 mm;

Electrômetro: sensibilidade de 8.10^{-10} A;

Gás de arrastamento: azoto;

Pressão: 2,1 b;

Débito: 40 ml/min.;

Auxiliar: hidrogénio:

Pressão: 1,5 b;

Débito: 20 ml/min.;

Temperaturas:

Injector: 150°C;

Detector: 230°C;

Colunas: 120°C ou 130°C.

7 — Curvas padrão:

7.1 — Nas condições indicadas no n.º 6.2.1 (coluna Hallcomid M 18), utilizar as misturas padrão definidas seguidamente. Preparar estas misturas por medida volumétrica, mas determinar a quantidade exacta libertada, pesando imediatamente após cada adição:

Concentração relativa — Porcentagem de massa	Metanol — Mililitros	Etanol — Mililitros (ou 2-propanol)	Clorofórmio até um volume de
Aproximadamente 2,5 %	0,5	20	100 ml
Aproximadamente 5,0 %	1,0	20	100 ml
Aproximadamente 7,5 %	1,5	20	100 ml
Aproximadamente 10,0 %	2,0	20	100 ml

Injectar 2 µl a 3 µl no cromatógrafo, como foi indicado no n.º 6.2.1. Calcular a razão das áreas dos picos (metanol/etanol ou metanol/2-propanol) de cada mistura. Traçar a curva padrão utilizando:

Como eixo dos X: a percentagem de metanol em relação ao etanol ou ao 2-propanol;

Como eixo dos Y: a razão das áreas dos picos (metanol/etanol ou metanol/2-propanol).

7.2 — Nas condições indicadas no n.º 6.2.2 (Porapak Qs ou Chromosorb 105), utilizar as misturas padrão definidas seguidamente. Preparar estas misturas por medida volumétrica, mas determinar a quantidade exacta libertada, pesando imediatamente após cada adição:

Concentração relativa — Porcentagem de massa	Metanol — Microlitros	Etanol — Mililitros (ou 2-propanol)	Água até um volume de
Aproximadamente 2,5 %	50	2	100 ml
Aproximadamente 5,0 %	100	2	100 ml
Aproximadamente 7,5 %	150	2	100 ml
Aproximadamente 10,0 %	200	2	100 ml

Injectar 2 µl a 3 µl no cromatógrafo, como foi indicado no n.º 6.2.2. Calcular a razão das áreas dos picos (metanol/etanol ou metanol/2-propanol) de cada mistura. Traçar a curva padrão utilizando:

Como eixo dos X: a percentagem de metanol em relação ao etanol ou ao 2-propanol;

Como eixo dos Y: a razão das áreas dos picos (metanol/etanol ou metanol/2-propanol).

7.3 — Nos dois casos a curva de calibração deve ser uma recta.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para teores em metanol de 5% em relação ao etanol ou ao 2-propanol, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,25 %.

CAPÍTULO XX

Nitritos — Identificação e doseamento

A — Identificação

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método destina-se à identificação dos nitritos nos produtos cosméticos. Aplica-se, em particular, aos cremes, aos produtos pastosos e aos dentífricos.

2 — Princípio:

A caracterização dos nitritos faz-se com fenil-hidrazona-2-aminobenzaldeído.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Ácido sulfúrico diluído: diluir 2 ml de ácido sulfúrico concentrado ($d_4^{20} = 1,84$) em 11 ml de água destilada.

3.2 — Ácido clorídrico diluído: diluir 1 ml de ácido clorídrico concentrado ($d_4^{20} = 1,19$) em 11 ml de água destilada.

3.3 — Metanol.

3.4 — Solução de fenil-hidrazona-2-aminobenzaldeído (reagente Nitrite R) em metanol.

Pesar 2 g de Nitrite R e introduzi-los em balão aferido de 100 ml. Juntar, gota a gota, 4 ml de ácido clorídrico diluído (3.2) e agitar. Completar o volume com metanol e misturar até que a solução esteja completamente límpida. Conservar a solução num frasco de vidro castanho (4.3).

4 — Material:

4.1 — Copos de 50 ml.

4.2 — Balão aferido de 100 ml.

4.3 — Frasco de vidro castanho de 125 ml.

4.4 — Placa de vidro de 10 cm x 10 cm.

4.5 — Espátula de material sintético.

4.6 — Papel de filtro de 10 cm x 10 cm.

5 — Técnica:

5.1 — Estender uniformemente uma parte da amostra a examinar sobre a placa de vidro (4.4), procurando que a espessura da camada não ultrapasse 1 cm.

5.2 — Mergulhar uma folha de papel de filtro (4.6) em água destilada e colocá-la sobre a amostra, aplicando-a convenientemente com a ajuda da espátula (4.5).

5.3 — Esperar cerca de um minuto e colocar no meio do papel de filtro:

Duas gotas de ácido sulfúrico diluído (3.1); e seguidamente
Duas gotas da solução de Nitrite R (3.4).

5.4 — Passados cinco a dez segundos, retirar o papel de filtro e examiná-lo à luz do dia. Uma coloração vermelho-violeta indica a presença de nitritos. Quando o teor em nitritos é pouco elevado, a coloração violeta passa para amarela em cinco a quinze segundos. Esta viragem não se verifica senão passados um a dois minutos em presença de quantidades significativas de nitritos.

6 — Nota. — A intensidade da coloração violeta, bem como a duração da passagem para o amarelo, pode dar uma indicação do teor em nitritos da amostra.

B — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

O método indicado seguidamente é adaptado ao doseamento dos nitritos nos produtos cosméticos.

2 — Definição:

O teor da amostra em nitritos determinado por este método é expresso em percentagem de massa (m/m) de nitrito de sódio.

3 — Princípio:

Após diluição e clarificação da amostra, efectua-se uma reacção colorimétrica com a *N*-(α -naftilo-etilenodiamina) e a intensidade da coloração obtida é determinada a 538 nm.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Reagentes de clarificação (estes reagentes não podem ser utilizados mais de uma semana após a sua preparação):

4.1.1 — Reagente I (Carrez I):

Dissolver 106 g de ferrocianeto de potássio $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ em água destilada e completar a 1000 ml.

4.1.2 — Reagente II (Carrez II):

Dissolver 219,5 g de acetato de zinco $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ e 30 ml de ácido acético glacial em água destilada e completar a 1000 ml.

4.2 — Solução de nitrito de sódio:

Num balão aferido de 1000 ml dissolver 0,500 g de nitrito de sódio em água destilada e completar o volume. Diluir 10,0 ml desta solução mãe a 500 ml. 1 ml desta última solução = 10 μ g de $NaNO_2$.

4.3 — Solução de hidróxido de sódio 1 N.

4.4 — Solução a 0,2 % de cloridrato de sulfanilamida:

Dissolver 2 g de sulfanilamida em 800 ml de água quente. Arrefecer e juntar 100 ml de *HCl* concentrado, agitando. Completar a 1000 ml.

4.5 — Ácido clorídrico 5 N.

4.6 — Reagente de *N*-(α -naftilo):

Dissolver 0,1 g de dicloridrato de *N*-(α -naftilo-etilenodiamina) em água e completar a 100 ml. É preparado no próprio dia de utilização.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Balança analítica.

5.2 — Balões aferidos de 100 ml, 250 ml, 500 ml e 1000 ml.

5.3 — Pipetas aferidas.

5.4 — Provetas de 100 ml.

5.5 — Filtro de pregas isento de nitritos, de 15 cm de diâmetro.

5.6 — Banho-maria.

5.7 — Espectrofotómetro com tinas de 1 cm de percurso óptico.

5.8 — Potenciómetro.

5.9 — Microbureta de 10 ml.

5.10 — Copo de 50 ml.

6 — Técnica:

6.1 — Pesar, com uma precisão de cerca de 0,1 mg, cerca de 0,5 g (*m*) de amostra homogeneizada e introduzi-los num copo de 250 ml. Diluir até um volume de cerca de 150 ml com água destilada quente. Colocar o copo, durante meia hora, num banho-maria a 80°C, agitando de vez em quando.

6.2 — Arrefecer à temperatura ambiente e juntar sucessivamente, agitando sempre, 2 ml do reagente de Carrez I (4.1.1) e 2 ml do reagente de Carrez II (4.1.2).

6.3 — Ajustar o pH a 8,3 no potenciómetro com uma solução de hidróxido de sódio 1 N. Transferir quantitativamente para um balão aferido de 250 ml e completar o volume com água destilada.

6.4 — Misturar e filtrar por filtro de pregas (5.5).

6.5 — Pipetar uma quantidade conveniente (*V* ml) do filtrado límpido, não ultrapassando 25 ml, para um balão aferido de 100 ml e diluir com água destilada até 60 ml.

6.6 — Misturar, adicionar 10,0 ml de cloridrato de sulfanilamida (4.4) e depois 6,0 ml de ácido clorídrico 5 N (4.5). Misturar e deixar repousar durante cinco minutos. Juntar 2,0 ml do reagente *N*-(α -naftilo) (4.6), misturar e deixar repousar durante três minutos. Completar a 100 ml e misturar.

6.7 — Preparar um ensaio em branco, repetindo as operações efectuadas nos n.ºs 6.5 e 6.6 sem adição do reagente *N*-(α -naftilo) (4.6).

6.8 — Determinar (5.7) a densidade óptica a 538 nm da solução da amostra (6.6) em relação à solução correspondente ao ensaio em branco (6.7).

6.9 — Ler na curva de calibração (6.10) o teor em nitrito de sódio, em microgramas por 100 ml de solução (*m*₁), correspondente à densidade óptica determinada para a amostra (6.8).

6.10 — Curva de calibração. Preparar com a solução de nitrito de sódio (4.2) uma curva de calibração na gama de 0 μ g-20 μ g-40 μ g-60 μ g-80 μ g-100 μ g de nitrito de sódio por 100 ml.

7 — Cálculo:

Calcular o teor da amostra em nitrito de sódio, em percentagem de massa (m/m), pela fórmula seguinte:

Percentagem de massa (m/m) de nitrito de sódio =

$$= \frac{250}{V} \cdot m_1 \cdot 10^{-6} \cdot \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \cdot m \cdot 40}$$

em que:

m = massa, em gramas, da amostra submetida a análise (6.1);

*m*₁ = teor de nitrito de sódio em microgramas, determinado segundo as indicações do n.º 6.9;

V = mililitros de filtrado utilizados no n.º 6.5.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor de nitrito de sódio de 0,2%, a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados sobre a mesma amostra não deve ultrapassar 0,005 %.

CAPÍTULO XXI

Nitrometano — Identificação e doseamento

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 massa (m/m) de nitrometano 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 de um padrão interno.

4 — Identificação:

4.1 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

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

4.1.2 — Reagente de Folin:

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

4.2 — Técnica:

Juntar 10 ml da solução do n.º 4.1.1 e 1 ml do reagente do n.º 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 qualidade analítica.

5.1.1 — Clorofórmio (padrão interno 1).

5.1.2 — 2,4-dimetil-heptano (padrão interno 2).

5.1.3 — Etanol a 95 %.

5.1.4 — Nitrometano.

5.1.5 — Solução padrão em 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 com dimetil-heptano:

Proceder como para a solução padrão em clorofórmio, mas introduzir 270 mg de 2,4-dimetil-heptano (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 descrita na 2.ª parte.

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 libertado de ar (segundo a técnica descrita no n.º 5.4 da 2.ª parte) 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 ml ou 20 ml sem agulha, adaptada ao dispositivo de recolha, segundo a técnica descrita no n.º 5 da 2.ª parte. 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 da amostra introduzida. Misturar cuidadosamente. Injectar cerca de 10 μ l, utilizando a microseringa (5.2.2). Efectuar cinco injeções.

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-dimetil-heptano (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 e completar o volume com etanol a 95 % (5.1.3). Injectar cerca de 10 µl, utilizando a microseringa (5.2.2). Efectuar cinco injecções.

5.3.3 — Condições de cromatografia em fase gasosa:

5.3.3.1 — Coluna:

Trata-se de uma coluna constituída por duas partes, a primeira contendo dodecilftalato em Gaschrome Q, como fase estacionária, a segunda Ucon 50 HB 280 X em Gaschrome Q, como fase estacionária. A coluna dupla assim preparada deve dar uma resolução *R* igual ou superior a 1,5, partindo do princípio de que:

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

em que:

r_1 e r_2 = tempo de retenção, em minutos;
 W_1 e W_2 = largura dos picos a meia altura, em milímetros;
 d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

A título de exemplo, são dadas as seguintes condições:

Parte A:

Coluna: aço inoxidável;
 Comprimento: 1,5 m;
 Diâmetro: 3 mm;
 Enchimento: 20 % de dodecilftalato em Gaschrome Q 100-120 mesh;

Parte B:

Coluna: aço inoxidável;
 Comprimento: 1,5 m;
 Diâmetro: 3 mm;
 Enchimento: 20 % de Ucon 50 HB 280 X em Gaschrome Q 100-120 mesh.

5.3.3.2 — Detector:

Ionização de chama. O electrómetro do detector deve ser regulado para uma sensibilidade de 8×10^{-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 b;
 Débito: 40 ml/min.;
 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 gramas, na mistura;
 S'_n = a área do seu pico;

e se *c* representa o padrão interno, clorofórmio ou 2,4-dimetil-heptano:

m'_c = a sua massa, em gramas, na mistura;
 S'_c = a área do seu pico.

A fórmula será:

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

k_n depende da aparelhagem.

6.2 — Concentração do nitrometano na amostra:

Se *n* representa o 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-dimetil-heptano:

m_c = a massa, em gramas, na mistura;
 S_c = a área do seu pico;
 M_c = a massa, em gramas, da amostra de aerossol transferida.

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

$$\frac{m_{cn}}{M} \cdot \frac{k_n \cdot S_n}{S_c} \cdot 100$$

7 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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 %.

CAPÍTULO XXII

Quinina — Identificação e doseamento

A — Identificação

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método é destinado a pôr em evidência a presença de quinina nos champões e loções capilares.

2 — Princípio:

A identificação efectua-se por cromatografia em camada fina de gele de sílica e é revelado pela fluorescência azul da quinina em meio ácido a 360 nm. Para posterior confirmação, pode-se anular esta fluorescência por meio de vapores de bromo e fazer segunda revelação pelos vapores de amoníaco, fazendo aparecer uma fluorescência amarelada.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Placas de gele de sílica com espessura de 0,25 mm sem indicador de fluorescência, formato 20 cm × 20 cm.

3.2 — Eluente: tolueno, éter, diclorometano e dietilamina (20:20:20:8, em volume).

3.3 — Metanol.

3.4 — Ácido sulfúrico a 96 % ($d_4^{20} = 1,84$).

3.5 — Éter:

3.6 — Revelador: juntar cuidadosamente 5 ml de ácido sulfúrico (3.4) a 95 ml de éter (3.5) num recipiente refrigerado.

3.7 — Bromo.

3.8 — Amónia a 28 % ($d_4^{20} = 0,90$).

3.9 — Quinina anidra.

3.10 — Solução padrão: pesar com precisão cerca de 100 mg de quinina anidra (3.9) e dissolvê-los em metanol (3.3) num balão aferido de 100 ml.

4 — Aparelhagem:

4.1 — Equipamento corrente de cromatografia em camada fina.

4.2 — Banho de ultra-sons.

4.3 — Filtros Millipore FH 0,5 µm, ou equivalente, com aparelhagem de filtração adequada.

5 — Técnica:

5.1 — Preparação da amostra:

Pesar com precisão uma quantidade de produto cosmético susceptível de conter cerca de 100 mg de quinina. Introduzi-la num balão aferido de 100 ml, dissolver e completar o volume com metanol (3.3). Tapar e deixar durante uma hora à temperatura ambiente no banho de ultra-sons (4.2). Filtrar por membrana (4.3) e utilizar este filtrado para a cromatografia.

5.2 — Cromatografia em camada fina.

Aplicar sobre a placa de gele de sílica (3.1) 1,0 µl de solução padrão (3.10) e 1,0 µl de solução da amostra 5.1. Desenvolver o cromatograma no percurso de 15 cm, numa tina previamente saturada pelos vapores do eluente (3.2).

5.3 — Revelação:

5.3.1 — Secar a placa à temperatura ambiente.

5.3.2 — Pulverizar com reagente (3.6).

5.3.3 — Deixar secar a placa durante uma hora à temperatura ambiente.

5.3.4 — Observar a placa sob radiação ultravioleta a 360 nm. A quinina aparece sob a forma de uma mancha fluorescente azul intensa. A título de exemplo, o quadro seguinte reproduz os valores de Rf dos principais alcalóides da quina, usando o mesmo eluente (3.2):

Alcalóides	Rf
Quinina.....	0,20
Quinidina.....	0,29
Cinchonina.....	0,33
Cinchonidina.....	0,27
Hidroquinidina.....	0,17

5.3.5 — Para posterior confirmação da identificação da quinina, expõe-se durante cerca de uma hora a placa aos vapores de bromo

(3.7); a fluorescência desaparece. Expondo seguidamente a mesma placa aos vapores de amoníaco (3.8), as manchas reaparecem com uma coloração castanha e, observando a placa sob raios ultravioletas a 360 nm, constata-se uma fluorescência amarelada. Limite de identificação: 0,1 µg de quinina.

B — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento da quinina nos champôs e nas loções capilares. É o adequado para dosear, no máximo, 0,5 % (m/m) nos champôs e 0,2 % (m/m) nas loções.

2 — Definição:

O teor em quinina avaliado por este método é expresso em percentagem de massa (m/m) do produto.

3 — Princípio:

Após tratamento adequado do produto a analisar, o doseamento é efectuado por cromatografia líquida a alta pressão (HPLC).

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica. Devem, nomeadamente, ser adequados para a cromatografia líquida a alta pressão.

4.1 — Acetonitrilo.

4.2 — Di-hidrogeno-ortofosfato de potássio KH_2PO_4 .

4.3 — Ácido ortofosfórico a 85 % ($d_{40}^{20} = 1,7$).

4.4 — Brometo de tetrametilamónio.

4.5 — Quinina anidra.

4.6 — Metanol.

4.7 — Solução de ácido ortofosfórico 0,1 M: dissolver 11,53 g de ácido ortofosfórico (4.3) em 1000 ml de água destilada num balão aferido.

4.8 — Solução de di-hidrogeno-ortofosfato de potássio 0,1 M: dissolver 13,6 g de di-hidrogeno-ortofosfato de potássio (4.2) em 1000 ml de água destilada num balão aferido.

4.9 — Solução de brometo de tetrametilamónio 0,1 M: dissolver 15,40 g de brometo de tetrametilamónio (4.4) em 1000 ml de água destilada num balão aferido.

4.10 — Eluente: ácido ortofosfórico 0,1 M (4.7), di-hidrogeno-ortofosfato de potássio 0,1 M (4.8), brometo de tetrametilamónio 0,1 M (4.9), água para HPLC e acetonitrilo (4.1) (10:50:100:340:90, em volume).

A composição da fase móvel pode ser modificada de tal maneira que o factor de resolução R seja igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' \cdot R_2 - d' \cdot R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R_1 e R_2 = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos consecutivos;

W_1 e W_2 = largura dos picos a meia altura, expressa em milímetros;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

4.11 — Sílica octadecilsilanizada de granulometria 10 µm.

4.12 — Soluções padrão: numa série de balões aferidos de 100 ml, pesar sucessivamente, com precisão, 5,0 mg, 10,0 mg, 15,0 mg e 20,0 mg de quinina anidra (4.5). Completar o volume com metanol (4.6) e agitar até dissolução. Filtrar cada solução por filtro (5.5) de 0,5 µm.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Material corrente de laboratório.

5.2 — Banho de ultra-sons.

5.3 — Cromatógrafo em fase líquida a alta pressão com detector de ultravioleta com comprimento de onda variável.

5.4 — Coluna em ácido inoxidável: comprimento: 25 cm; diâmetro interior: 4,6 mm; enchimento: sílica octadecilsilanizada (4.11).

5.5 — Filtro Millipore FH 0,5 µm, ou equivalente, com dispositivo de filtração apropriado.

6 — Técnica:

6.1 — Preparação da amostra:

Pesar com precisão num balão aferido de 100 ml uma quantidade de amostra correspondente a cerca de 10 mg de quinina anidra. Juntar 20 ml de metanol (4.6) e colocar o balão durante vinte minutos num banho de ultra-sons (5.2). Completar o volume com metanol (4.6). Homogeneizar a solução e filtrar uma parte alíquota por membrana (5.5).

6.2 — Condições da cromatografia:

Débito da fase móvel (4.10): 1,0 ml/min.;

Deteção: 332 nm;

Quantidade a injectar: 10,0 µl da solução filtrada (6.1);

Medição da área do pico.

6.3 — Curva de calibração:

Introduzir pelo menos três vezes 10,0 µl de cada uma das soluções padrão (4.12). Medir a área do pico e calcular o seu valor médio para cada concentração. Traçar a curva de calibração.

7 — Cálculo:

7.1 — A partir da curva de calibração (6.3), calcular a quantidade de quinina anidra, expressa em microgramas, contida no volume injectado.

7.2 — A concentração em quinina anidra na amostra, em percentagem de massa, é obtida pela fórmula seguinte:

$$\text{Percentagem (m/m) de quinina anidra} = \frac{B}{A}$$

em que:

B = quantidade, em microgramas, de quinina anidra contida em 10 µl da solução filtrada (6.1);

A = massa da amostra 6.1, expressa em gramas.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para um teor em quinina anidra da ordem de 0,5 % (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ser superior a 0,02 %.

Para um teor em quinina anidra da ordem de 0,2 % (m/m), a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos efectuados na mesma amostra não deve ser superior a 0,01 %.

CAPÍTULO XXIII

Resorcina nos champôs e nas loções capilares Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento da resorcina nos champôs e loções capilares por cromatografia em fase gasosa. Aplica-se a concentrações de 0,1 % a 2,0 % (m/m) do produto.

2 — Definição:

O teor em resorcina determinado por este método é expresso em percentagem da massa de resorcinol.

3 — Princípio:

A resorcina e o 3,5-di-hidroxitolueno, utilizado como padrão interno, são isolados da amostra por cromatografia em camada fina. Isolam-se os dois compostos destacando o suporte e extraíndo com metanol. Os resíduos são em seguida secos, sinalizados e doseados por cromatografia em fase gasosa.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica:

4.1 — Ácido clorídrico a 25 % (m/m).

4.2 — Metanol.

4.3 — Etanol a 96 % (v/v).

4.4 — Placas de sílica em suporte plástico ou de alumínio, com indicador fluorescente, pré-preparadas e desactivadas.

Proceder da forma seguinte: vaporizar com água as placas de sílica até que se tornem brilhantes. Secá-las à temperatura ambiente durante uma a três horas.

Nota. — Se as placas não forem desactivadas, pode haver perdas de resorcina por adsorção irreversível sobre a sílica.

4.5 — Eluente: acetona, clorofórmio e ácido acético (20:75:5, em volume).

4.6 — Solução padrão de resorcina: dissolver 400 mg de resorcina em 100 ml de etanol a 96 % (1 ml corresponde a 4000 µg de resorcina).

4.7 — Solução padrão interno: dissolver 400 mg de 3,5-di-hidroxitolueno (DHT) em 100 ml de etanol a 96 % (1 ml corresponde a 4000 µg de DHT).

4.8 — Mistura padrão: misturar 10 ml de solução do n.º 4.6 e 10 ml de solução do n.º 4.7 num balão aferido de 100 ml, completar o volume com etanol a 96 % e misturar (1 ml corresponde a 400 µg de resorcina e 400 µg de DHT).

4.9 — Reagentes de sinalização:

4.9.1 — *N*-O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA).

4.9.2 — Hexametildisilazano (HMDS).

4.9.3 — Trimetilclorosilano (TMCS).

5 — Aparelhagem:

5.1 — Equipamento corrente de cromatografia em camada fina e em fase gasosa.

5.2 — Material de vidro de laboratório.

6 — Técnica:

6.1 — Preparação da amostra:

6.1.1 — Pesar com precisão, num copo de 150 ml, uma tomada de ensaio do produto (m gramas) contendo cerca de 20 mg a 50 mg de resorcina.

6.1.2 — Acidificar com ácido clorídrico (4.1) (cerca de 2 ml a 4 ml). Juntar 10 ml (40 mg de DHT) de padrão interno (4.7) e misturar. Transferir para um balão aferido de 100 ml com a ajuda de etanol. Completar o volume com etanol (4.3) e misturar.

6.1.3 — Aplicar 250 µl da solução do n.º 6.1.2 numa placa de sílica desactivada (4.4), sobre uma linha contínua com cerca de 8 cm de comprimento. Tomar cuidado para obter uma banda tão estreita quanto possível.

6.1.4 — Colocar, separadamente e da mesma maneira (6.1.3), na mesma placa, 250 µl de mistura padrão (4.8).

6.1.5 — Sobre a linha de partida, aplicar duas gotas de 5 µl de cada solução dos n.ºs 4.6 e 4.7 para facilitar a localização após o desenvolvimento da placa.

6.1.6 — Numa tina não saturada, desenvolver a placa com o eluente (4.5) até que tenha percorrido 12 cm depois da linha de partida (quarenta e cinco minutos). Secar a placa ao ar e localizar a zona resorcina/DHT com luz UV de 254 nm. Os dois compostos têm aproximadamente o mesmo valor de Rf. Destacar as bandas assim marcadas e juntar o adsorvente de cada uma num matrás de 10 ml.

6.1.7 — Extrair o adsorvente que contém a amostra e o que contém a mistura padrão da seguinte maneira: juntar 2 ml de metanol (4.2) e extrair durante uma hora, agitando continuamente. Filtrar a mistura e repetir a extracção, durante quinze minutos, com 2 ml de metanol (4.2).

6.1.8 — Evaporar o solvente da totalidade dos extractos, colocando-os durante uma noite num exsiccador, a pressão reduzida, com um exsiccante adequado. Não evaporar com calor.

6.1.9 — Sinalizar os resíduos (6.1.8) como indicado no n.º 6.1.9.1 ou no n.º 6.1.9.2.

6.1.9.1 — Juntar 200 µl de BSTFA (4.9.1) e deixar a mistura num recipiente fechado à temperatura ambiente durante doze horas.

6.1.9.2 — Juntar sucessivamente 200 µl de HMDS (4.9.2) e 100 µl de TMCS (4.9.3) e aquecer a mistura durante trinta minutos a 60°C num recipiente fechado. Arrefecer.

6.2 — Cromatografia em fase gasosa:

6.2.1 — Condições operatórias:

A fase estacionária deve permitir um grau de resolução igual ou superior a 1,5:

$$R = 2 \cdot \frac{d' \cdot R_2 - d' \cdot R_1}{W_1 + W_2}$$

em que:

R_1 e R_2 = tempo de retenção, expresso em minutos, de dois picos;

W_1 e W_2 = largura dos mesmos picos a meia altura;

d' = velocidade do papel em milímetros/minuto.

As condições operatórias seguintes permitem obter este resultado:

Coluna: aço inoxidável;

Comprimento: 200 cm;

Diâmetro: 3 mm;

Enchimento: 10% OV 17 em Chromosorb WAW 100-120 mesh;

Detector de ionização de chama;

Temperaturas:

Coluna: 185°C (isotérmica);

Injector: 250°C;

Detector: 250°C;

Gás de arrastamento: azoto;

Débito: 45 ml/min.

Para a regulação do débito de hidrogénio e do ar seguir as instruções do fabricante.

6.2.2 — Injectar 1 µl a 3 µl das soluções obtidas no n.º 6.1.9. Fazer cinco injeções para cada solução. Medir a área dos picos de modo preciso e calcular a relação das áreas:

S = área do pico de resorcina/área do pico do DHT.

7 — Cálculo:

A concentração da amostra em resorcina expressa em percentagem (% m/m) é dada por:

$$\text{Percentagem (m/m) de resorcina} = \frac{4}{M} \cdot \frac{S \text{ amostra}}{S \text{ mistura padrão}}$$

em que:

M = tomada de ensaio, em gramas (6.1.1);

S amostra = razão média obtida para os picos da solução amostra;

S mistura padrão = razão média obtida para os picos da mistura padrão segundo o n.º 6.2.2.

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

Para o teor em resorcina de 0,5 % a diferença entre os resultados de dois doseamentos paralelos realizados com a mesma amostra não deve ultrapassar 0,025 %.

CAPÍTULO XXIV

Sulfitos e hidrogenossulfitos inorgânicos Identificação e doseamento

Objectivo e campo de aplicação:

O método descreve a identificação e o doseamento dos sulfitos e dos hidrogenossulfitos inorgânicos nos produtos cosméticos. É aplicável somente aos produtos que contêm uma fase aquosa ou alcoólica e para teores até 0,2 % expressos em SO_2 .

A — Identificação

1 — Princípio:

A amostra é aquecida com ácido clorídrico e o anidrido sulfuroso libertado é identificado pelo seu cheiro ou com o auxílio de um papel indicador.

2 — Reagentes:

2.1 — Ácido clorídrico (4 M).

2.2 — Papel indicador com iodato de potássio-amido, ou outro papel indicador.

3 — Aparelhagem:

3.1 — Material corrente de laboratório.

3.2 — Balão de 25 ml provido de um refrigerante de refluxo, curto.

4 — Técnica:

4.1 — Introduzir no balão (3.2) 2,5 g de amostra e 10 ml de ácido clorídrico (2.1).

4.2 — Misturar e aquecer até à ebulição.

4.3 — Detectar o anidrido sulfuroso pelo cheiro ou por meio do papel indicador (2.2).

B — Doseamento

1 — Definição:

O teor da amostra em sulfito, ou em hidrogenossulfito, determinado por este método é expresso em percentagem de massa de dióxido de enxofre.

2 — Princípio:

Após acidificação da amostra, o dióxido de enxofre libertado é destilado e recolhido numa solução de peróxido de hidrogénio. O ácido sulfúrico formado é doseado com auxílio de uma solução titulada de hidróxido de sódio.

3 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

3.1 — Peróxido de hidrogénio a 0,2 % (m/v). Este reagente deve ser preparado diariamente.

3.2 — Ácido ortofosfórico ($d_4^{25} = 1,75$).

3.3 — Metanol.

3.4 — Solução titulada de hidróxido de sódio: 0,01 M.

3.5 — Azoto.

3.6 — Indicador: mistura 1:1 (v/v) de vermelho de metilo (0,03 % m/v em etanol) e de azul de metileno (0,05 % m/v em etanol). Filtrar a solução.

4 — Aparelhagem:

4.1 — Material corrente de laboratório.

4.2 — Aparelho de destilação (v. esquema).

5 — Técnica:

5.1 — Pesar com precisão cerca de 2,5 g de amostra e introduzi-los no balão de destilação A (v. esquema).

5.2 — Juntar 60 ml de água a 50 ml de metanol (3.3) e misturar.

5.3 — Introduzir 10 ml de peróxido de hidrogénio (3.1), 60 ml de água e algumas gotas de indicador (3.6) no recipiente D, destinado a receber o destilado (v. esquema). Juntar algumas gotas de hidróxido de sódio (3.4), até que o indicador vire para verde.

5.4 — Proceder da mesma maneira no frasco lavador E (v. esquema).

5.5 — Ligar o aparelho e regular o débito de azoto (3.5) para cerca de 60 bolhas por minuto.

5.6 — Introduzir pelo funil 15 ml de ácido ortofosfórico (3.2) no frasco de destilação A.

5.7 — Aquecer rapidamente à ebulição e deixar ferver regularmente durante trinta minutos.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Tosilcloramina sódica (cloramina T).

4.2 — Solução padrão de 4-tolueno-sulfonamida: dissolver 50 mg de 4-tolueno-sulfonamida em 100 ml de etanol (4.5).

4.3 — Ácido clorídrico a 37 % (m/m) ($d_4^{20}=1,18$).

4.4 — Éter.

4.5 — Etanol a 96 % (v/v).

4.6 — Eluente:

4.6.1 — 1-butanol, etanol a 96 % (4.5) e água (40:4:9, em volume).

4.6.2 — Clorofórmio e acetona (6:4, em volume).

4.7 — Placas para cromatografia em camada fina de silicagelo 60 sem indicador de fluorescência.

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 fina.

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 e 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 cinco minutos a 3000 rpm 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 à secura sob corrente de azoto. Retomar o extracto com 1 ml de etanol (4.5).

6.3 — Cromatografia em camada fina:

6.3.1 — Aplicar sobre uma placa de silicagelo 60 (4.7) 20 µl do resíduo dissolvido no etanol (6.2). Aplicar do mesmo modo 8 µl, 12 µl, 16 µl e 20 µl da solução padrão de 4-tolueno-sulfonamida (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 dois a três 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 cinco minutos. Pulverizar o reagente sobre a placa (4.10).

6.4 — Determinação:

Após cerca de uma 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 µg, 6 µg, 8 µg e 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 de cloramina T na amostra expresso em percentagem de massa (m/m) é calculado pela fórmula seguinte:

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

onde:

1,33 = factor de conversão de 4-tolueno-sulfonamida em cloramina T;

$a(\mu\text{g})$ = quantidade de 4-tolueno-sulfonamida expressa em microgramas na amostra e lida na recta de calibração;

$m(\text{g})$ = massa da tomada de ensaio, expressa em gramas.

9 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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 %.

CAPÍTULO XXVII

Zinco — Doseamento

1 — Objectivo e campo de aplicação:

Este método descreve o doseamento do zinco presente nos produtos cosméticos sob a forma de cloreto, sulfato, fenolsulfato ou de combinações de vários sais em questão.

2 — Definição:

O teor em zinco da amostra, determinado por gravimetria de 2-metil-8-oxiquinoleato de zinco, é expresso em percentagem de massa (m/m) de zinco.

3 — Princípio:

O zinco em solução é precipitado, em meio ácido, sob a forma de 2-metil-8-oxiquinoleato. Após filtração e secagem, o precipitado é pesado.

4 — Reagentes:

Todos os reagentes devem ser de qualidade analítica.

4.1 — Amónia concentrada a 25 % (m/m): ($d_4^{20}=0,91$).

4.2 — Ácido acético glacial.

4.3 — Acetato de amónio.

4.4 — 2-metil-8-oxiquinoleína.

4.5 — Solução de amónia a 6 % (m/v). Deitar 240 g de amónia concentrada (4.1) num balão graduado de 1000 ml, completar com água destilada e misturar.

4.6 — Solução de acetato de amónio 0,2 M. Dissolver num balão aferido de 1000 ml 15,4 g de acetato de amónio (4.3) com água destilada. Completar com água destilada e misturar.

4.7 — Solução de 2-metil-8-oxiquinoleína. Num balão aferido de 100 ml dissolver 5 g de 2-metil-8-oxiquinoleína em 12 ml de ácido acético glacial. Per fazer até ao traço com água destilada e misturar.

5 — Aparelhagem:

5.1 — Balões aferidos de 100 ml e 1000 ml.

5.2 — Copos de vidro de 400 ml.

5.3 — Provetas graduadas de 50 ml e 150 ml.

5.4 — Pipetas graduadas de 10 ml.

5.5 — Cadinhos filtrantes em vidro G-4.

5.6 — Frascos para filtração sob vácuo de 500 ml.

5.7 — Trompa de água.

5.8 — Termómetro graduado de 0°C a 100°C, pelo menos.

5.9 — Exsiccador contendo um exsiccante apropriado com indicador higrométrico, por exemplo, gele de sílica ou equivalente.

5.10 — Estufa, regulada numa temperatura de $150^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

5.11 — Potenciómetro.

5.12 — Placa de aquecimento.

5.13 — Papel de filtro Whatman n.º 4, ou equivalente.

6 — Técnica:

6.1 — Pesar 5 g a 10 g (M) da amostra a examinar, que devem conter 50 mg a 100 mg de zinco, e colocar num copo de 400 ml; juntar 50 ml de água destilada e misturar.

6.1.1 — Filtrar com o auxílio de uma bomba de vácuo, se necessário, e separar o filtrado.

6.1.2 — Repetir de novo a extracção com 50 ml de água destilada. Filtrar e misturar os filtrados.

6.2 — Acrescentar 2 ml de solução de 2-metil-8-oxiquinoleína (4.7) por dezena de miligramas de zinco contido na solução 6.1.2 e misturar.

6.3 — Diluir com 150 ml de água destilada, levar com 5.12 a temperatura da solução a 60°C e acrescentar, agitando, 45 ml da solução de acetato de amónio 0,2 M (4.6).

6.4 — Agitando sempre, levar o pH da solução a 5,7-5,9 com solução de amoníaco (4.5); controlar o pH da solução por meio de um potenciómetro.

6.5 — Deixar repousar trinta minutos, aspirar a solução, por meio de uma trompa de água, através de um cadinho filtrante G-4, previamente seco (150°C) e tarado após arrefecimento (M_0). Lavar o precipitado recolhido no cadinho com um total de 150 ml de água destilada aquecida a 95°C.

6.6 — Colocar o cadinho numa estufa regulada a 150°C e secar durante uma hora.

6.7 — Retirar o cadinho da estufa, colocá-lo num exsiccador (5.9) e determinar a sua massa (M_1) após ter voltado à temperatura ambiente.

7 — Cálculo:

Calcular o teor em zinco da amostra em percentagem de massa (m/m) por meio da fórmula:

$$\text{Percentagem (m/m) de zinco} = \frac{(M_1 - M_0) \cdot 17,12}{M}$$

na qual:

M = massa, em gramas, da fracção da amostra examinada no n.º 6.1;

M_0 = massa, em gramas, do cadinho filtrante vazio e seco (6.5);

M_1 = massa, em gramas, do cadinho filtrante após precipitação (6.7).

8 — Repetibilidade (segundo a norma ISO 5725):

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

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**Portaria n.º 504/94****de 6 de Julho**

Ao abrigo do disposto no Decreto-Lei n.º 189/92, de 3 de Setembro:

Manda o Governo, pela Ministra da Educação, o seguinte:

1.º**Pares estabelecimento/curso objecto de concurso local**

Os pares estabelecimento/curso a que se refere o artigo 39.º do Decreto-Lei n.º 189/92, de 3 de Setembro, são os constantes dos anexos 1.1 e 1.2 à presente portaria.

2.º**Divulgação das vagas**

As vagas para a matrícula e inscrição no ano lectivo de 1994-1995, nos pares estabelecimento/curso a que se refere o anexo 1.1, são as aprovadas pelas entidades competentes, nos termos do n.º 1 do artigo 5.º do Decreto-Lei n.º 189/92, de 3 de Setembro.

3.º**Aprovação de vagas**

São aprovadas as vagas para a primeira matrícula e inscrição no ano lectivo de 1994-1995 nos pares estabelecimento/curso constantes do anexo 1.2 da presente portaria.

Ministério da Educação.

Assinada em 22 de Junho de 1994.

Pela Ministra da Educação, *Pedro Lynce de Faria*,
Secretário de Estado do Ensino Superior.

ANEXO 1.1**Instituições de ensino universitário**

Vagas aprovadas pelos órgãos legalmente competentes das instituições de ensino universitário, nos termos do n.º 1 do artigo 5.º do Decreto-Lei n.º 189/92, de 3 de Setembro.

Estabelecimento/curso	Vagas
Universidade de Aveiro:	
Música (Ensino de)	35
Universidade de Lisboa:	
Faculdade de Letras:	
Língua e Cultura Portuguesa (Língua Estrangeira)	45
Faculdade de Psicologia e de Ciências da Educação:	
Ciências da Educação (concurso local)	25
Faculdade de Medicina Dentária:	
Medicina Dentária (licenciatura terminal)	32

Estabelecimento/curso	Vagas
Universidade Nova de Lisboa:	
Instituto Superior de Estatística e Gestão de Informação:	
Estatística e Gestão de Informação	35
Universidade do Minho:	
Educação (concurso local)	15
Universidade do Porto:	
Faculdade de Psicologia e de Ciências da Educação:	
Ciências da Educação, ramo de Educação da Criança	40
Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro:	
Educação Física e Desporto	75

ANEXO 1.2**Instituições de ensino superior politécnico**

Vagas aprovadas pela Ministra da Educação, nos termos do n.º 1 do artigo 5.º do Decreto-Lei n.º 189/92, de 3 de Setembro.

Estabelecimento/curso	Vagas
Instituto Politécnico de Lisboa:	
Escola Superior de Dança de Lisboa:	
Dança	40
Escola Superior de Música de Lisboa:	
Canto	5
Clarinete (Instrumento — área de)	5
Composição	6
Cravo (Instrumento — área de)	5
Fagote (Instrumento — área de)	5
Estudos Superiores Gregorianos, área de Canto Gregoriano	8
Estudos Superiores Gregorianos, área de Direcção Coral	8
Flauta (Instrumento — área de)	6
Estudos Superiores Gregorianos, área de Órgão	8
Formação Musical	8
Guitarra (Instrumento — área de)	5
Oboé (Instrumento — área de)	5
Piano (Instrumento — área de)	12
Trompa (Instrumento — área de)	5
Violino (Instrumento — área de)	5
Violeta (Instrumento — área de)	5
Violoncelo (Instrumento — área de)	5
Escola Superior de Teatro e Cinema de Lisboa:	
Cinema	25
Realização Plástica do Espectáculo	25
Teatro	40
Instituto Politécnico do Porto:	
Escola Superior de Música do Porto:	
Canto	6
Clarinete (Instrumento — área de)	8
Composição	8
Contrabaixo (Instrumento — área de)	5
Cravo (Instrumento — área de)	5
Fagote (Instrumento — área de)	5
Flauta (Instrumento — área de)	6
Guitarra clássica (Instrumento — área de)	5
Piano (Instrumento — área de)	8
Piano de Acompanhamento (Instrumento — área de)	5
Percussão (Instrumento — área de)	8
Teatro	40
Trompete (Instrumento — área de)	5
Violino (Instrumento — área de)	5
Violeta (Instrumento — área de)	5
Violoncelo (Instrumento — área de)	5

MINISTÉRIO DO EMPREGO E DA SEGURANÇA SOCIAL**Decreto Regulamentar n.º 15/94**

de 6 de Julho

A aplicação da reforma da vertente Fundo Social Europeu do Quadro Comunitário de Apoio, iniciada em 1990, por força do Regulamento (CEE) n.º 4255/88, publicado no *Jornal Oficial das Comunidades* em 19 de Dezembro de 1988, determinou a redefinição de orientações e procedimentos de acesso aos apoios no âmbito daquele Fundo estrutural, consubstanciados em diplomas então publicados, nomeadamente no Despacho Normativo n.º 68/91, de 25 de Março.

Face às alterações introduzidas naquele regulamento pelo Regulamento (CEE) n.º 2084/93, do Conselho, publicado em 31 de Julho de 1993 no *Jornal Oficial das Comunidades*, e à experiência desde então colhida, é aconselhável a introdução de alguns ajustamentos e novos instrumentos de gestão, de que se destaca a figura do programa quadro, passando a gestão da vertente Fundo Social Europeu do Quadro Comunitário de Apoio a orientar-se por três princípios fundamentais: descentralização e consequente maior responsabilização dos agentes envolvidos, maior articulação entre as instituições que integram o sistema e maior envolvimento dos parceiros sociais.

Assim:

Ao abrigo do disposto no n.º 5 do artigo 23.º do Decreto-Lei n.º 99/94, de 19 de Abril, e nos termos da alínea c) do artigo 202.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

Artigo 1.º**Objecto**

O presente diploma regula os apoios ao emprego e à formação profissional a conceder no âmbito da vertente Fundo Social Europeu (FSE) do Quadro Comunitário de Apoio, incluindo as iniciativas comunitárias, relativamente às acções que se iniciem a partir de Janeiro de 1994 e se prolonguem até 31 de Dezembro de 1999, estabelecendo os princípios a observar na sua gestão.

Artigo 2.º**Conceitos**

1 — Para efeitos do presente diploma, entende-se por:

- a) Entidade gestora — a entidade responsável pela gestão de um programa quadro;
- b) Pedido de financiamento (pedido) — a solicitação de apoio financeiro para garantir a realização de um curso ou conjunto de cursos agrupados numa medida, ou para a criação e funcionamento de estruturas de apoio à formação e emprego elegíveis no âmbito do FSE;
- c) Plano de formação — o conjunto de acções discriminadas por medidas, suportadas por um plano global e coerente de formação de recursos humanos, apresentado por uma entidade promotora;
- d) Programa quadro — a subvenção global concedida pelo Ministério do Emprego e da Seguran-

ça Social, por período superior a um ano, para a gestão e execução das medidas que vissem prosseguir objectivos gerais de política de formação, definidos a nível nacional, regional ou sectorial;

- e) Entidade promotora — aquela que formula um pedido de financiamento e assume a responsabilidade pela execução das acções de formação;
- f) Custo total elegível — o montante global que reúne condições de financiamento, à luz da legislação nacional e comunitária no âmbito do FSE;
- g) Financiamento público — a soma da contribuição comunitária com a contribuição pública nacional.

2 — Para efeitos do disposto no presente diploma, o Instituto do Emprego e Formação Profissional (IEFP) é equiparado a entidade gestora de programa quadro.

3 — O disposto na alínea d) do n.º 1 inclui, quanto à gestão, controlo e fiscalização, os subprogramas regionais ou sectoriais negociados directamente com a Comissão da Comunidade.

CAPÍTULO I**Princípios gerais****Artigo 3.º****Gestão do Fundo Social Europeu**

1 — A gestão global da vertente FSE do Quadro Comunitário de Apoio cabe ao Ministro do Emprego e da Segurança Social, podendo ser desconcentrada ou descentralizada, para efeitos de gestão de programas, em entidades de direito público ou privado.

2 — No caso de programas e subprogramas sectoriais a gestão do FSE é da competência conjunta do Ministro do Emprego e da Segurança Social e do membro ou membros do Governo que tenham a seu cargo a gestão global de subprogramas sectoriais.

Artigo 4.º**Programas quadro**

1 — A vertente FSE do Quadro Comunitário de Apoio, da responsabilidade do Ministério do Emprego e da Segurança Social, é executada, quanto à gestão, através de programas quadro de âmbito nacional, sectorial ou regional.

2 — O mesmo programa quadro pode abranger mais de um subprograma ou medida, com excepção dos subprogramas regionais ou sectoriais previstos no n.º 3 do artigo 2.º e sem prejuízo da gestão física e financeira individualizada.

3 — A estrutura dos programas quadro deve incluir:

- a) A caracterização da entidade proponente;
- b) A caracterização do projecto de programa quadro;
- c) A programação física e financeira das medidas;
- d) A estrutura de concretização;
- e) O regime de assistência técnica;
- f) O regime de financiamento da gestão;
- g) O regime de informação e publicidade.

Artigo 5.º**Período de elegibilidade**

No âmbito de um pedido de financiamento, a elegibilidade é referenciada:

- a) Ao período de tempo que decorre entre os 60 dias anteriores à apresentação do pedido e a apresentação do saldo, no que se refere às despesas;
- b) Até ao momento do início da acção, no que se refere à idade dos formandos.

Artigo 6.º**Indicadores**

1 — O Ministro do Emprego e da Segurança Social pode fixar, para apreciação dos pedidos de co-financiamento apresentados pelas entidades promotoras, designadamente, os seguintes indicadores:

- a) Montante máximo por formando/hora, susceptível de financiamento, para o total das despesas elegíveis ou apenas para algumas dessas despesas, tal como estão definidas no Regulamento (CEE) n.º 2084/93, do Conselho, publicado no *Jornal Oficial da Comunidade Europeia*, de 31 de Julho de 1993;
- b) Relação entre o número de trabalhadores e o número de formandos, no caso de a acção de formação beneficiar entidades empregadoras;
- c) Relação entre o número de formandos e o número de formadores;
- d) Número mínimo de formandos por pedido de financiamento;
- e) Relação entre o número de formandos do sexo masculino e do sexo feminino.

2 — Quando se trate de subprogramas sectoriais, a competência para a fixação dos indicadores é do Ministro do Emprego e da Segurança Social e do membro do Governo respectivo.

Artigo 7.º**Financiamento**

1 — O financiamento público de cada pedido é definido por decisão da comissão europeia que aprovou o programa em que aquele se enquadra.

2 — Para efeito do disposto no número anterior, são deduzidas do custo total elegível as receitas que eventualmente decorram da realização da formação e correspondentes àquele custo, bem como as contribuições privadas previstas no número seguinte.

3 — A formação de activos empregados é comparticipada pelas empresas beneficiárias, independentemente da formulação do pedido, com referência ao custo total elegível, nos termos do presente número, salvo no que seja objecto de regulamentação específica de harmonia com o disposto no artigo 36.º:

- a) Empresas com 50 ou mais trabalhadores:
 - Em horário laboral — 10 %;
 - Em horário pós-laboral — 15 %;
- b) Empresas com menos de 50 trabalhadores:
 - Em horário laboral, 5 %;
 - Em horário pós-laboral, 7,5 %.

4 — Para efeitos do número anterior, deverá considerar-se o seguinte:

- a) A contribuição privada é verificada em sede de saldo;
- b) Quando a mesma acção ocorrer em regime laboral e pós-laboral, a taxa de contribuição é determinada pelo regime com maior volume de formação;
- c) A contribuição das empresas que prossigam o objectivo da igualdade de oportunidades e tratamento para as mulheres, designadamente garantindo a sua participação em áreas de formação não tradicionais, é de 2,5 %, calculada em função da proporção do número de formandas relativamente ao número total de formandos.

5 — Os serviços da administração central, regional e autárquica, bem como os institutos públicos que revistam a natureza de serviços personalizados ou de fundos públicos, suportam a contribuição pública nacional sempre que actuem na qualidade de entidade promotora.

6 — Em caso algum pode haver sobrefinanciamento da formação apoiada no âmbito do FSE.

7 — A entidade apoiada no âmbito do FSE não pode, para os mesmos custos, apresentar pedido de financiamento a mais de um serviço público ou entidade gestora.

CAPÍTULO II**Artigo 8.º****Entidades gestoras**

1 — Pode ser atribuída a gestão dos programas quadro:

- a) A entidade de direito público;
- b) Aos parceiros sociais representados na Comissão Permanente de Concertação Social do Conselho Económico e Social;
- c) A outras entidades de reconhecido mérito e capacidade formativa.

2 — As entidades de direito público são admitidas à gestão de programas quadro em função da sua representatividade sectorial ou regional, sem prejuízo da competência gestonária que for cometida ao IEFP.

3 — Relativamente à área geográfica correspondente à actuação de cada uma das comissões de coordenação regional apenas pode ser aceite, em princípio, uma entidade de direito público com representatividade regional para a gestão de programas quadro, devendo ser associadas e potenciadas as estruturas adequadas existentes na região.

4 — As entidades referidas no n.º 1 do presente artigo devem reunir, para além das previstas no n.º 1 do artigo 14.º, as seguintes condições:

- a) Capacidade formativa de reconhecido mérito;
- b) Capacidade de gestão financeira;
- c) Recursos humanos qualificados para garantir o acompanhamento técnico-pedagógico a todas as acções que vierem a aprovar.

5 — A gestão dos subprogramas sectoriais referidos no n.º 3 do artigo 2.º é atribuída pelo membro do Governo respectivo.

6 — A adopção de programas quadro, como mecanismo de desconcentração ou descentralização da gestão dos programas referidos no número anterior, é feita por despacho do membro do Governo respectivo, após parecer favorável da Comissão de Coordenação.

7 — Cada entidade gestora não pode gerir mais de um programa quadro, sem prejuízo do disposto no n.º 2 do artigo 4.º

8 — Cabe ao Ministério do Emprego e da Segurança Social, através do IEF, salvo o que for objecto de regulamentação específica, nos termos do artigo 36.º, a gestão dos programas relativos às matérias seguintes:

- a) Regimes de pré-aprendizagem e aprendizagem em regime de alternância;
- b) Actividade de trabalhadores desempregados inseridos em programas ocupacionais;
- c) Apoio à criação de postos de trabalho;
- d) Execução do subprograma relativo à inserção de grupos sociais desfavorecidos, com excepção dos desempregados de longa duração;
- e) Execução do Subprograma 3 — Apoio à Formação e Gestão dos Recursos Humanos, com excepção da formação de agentes de formação;
- f) Subprograma relativo ao desenvolvimento rural e local no que concerne às iniciativas locais de emprego, ao artesanato, aos postos de informação e às associações de desenvolvimento, sem prejuízo da articulação com os Ministérios do Planeamento e da Administração do Território e da Agricultura;
- g) Medidas de apoio a infra-estruturas co-financiadas pelo FEDER no âmbito dos recursos humanos.

9 — A formação profissional a prosseguir no âmbito dos centros protocolares enquadra-se nas medidas do Quadro Comunitário de Apoio a gerir pelo IEF.

10 — Os parceiros sociais referidos na alínea b) do n.º 1 que não apresentem programas quadro poderão apresentar à Comissão de Coordenação do Fundo Social Europeu planos de formação profissional, cuja gestão será equiparada à de programa quadro, sem prejuízo da fixação de condições e procedimentos específicos.

Artigo 9.º

Apresentação e aprovação dos pedidos para a gestão dos programas quadro

1 — Os programas quadro são aprovados pelo Ministro do Emprego e da Segurança Social, ouvida a Comissão de Coordenação da vertente FSE do Quadro Comunitário de Apoio, nos 90 dias subsequentes à sua apresentação.

2 — Para efeitos do disposto no número anterior, os pedidos de gestão de programas quadro devem ser apresentados ao Departamento para os Assuntos do Fundo Social Europeu (DAFSE).

3 — Em situações excepcionais, devidamente fundamentadas e a pedido da entidade gestora, a elegibilidade das acções pode ser retroagida a 9 de Julho de 1993.

Artigo 10.º

Direitos das entidades gestoras

Constituem direitos das entidades gestoras, para além dos que resultem da celebração de protocolo específico:

- a) O financiamento directo, pelo DAFSE, correspondente à formação prevista no programa quadro;
- b) O financiamento dos encargos da gestão do programa quadro, no caso de se tratar de entidade de direito privado;
- c) O financiamento no âmbito da assistência técnica, nomeadamente o exigido pela articulação informática ao DAFSE, bem como o relacionado com o levantamento de necessidades de mercado e avaliação;
- d) O acompanhamento das visitas realizadas pela Comissão da Comunidade Europeia, pelo DAFSE, ou pelo IEF;
- e) O conhecimento dos resultados das acções de acompanhamento e auditoria realizadas pelo DAFSE ou pelo IEF.

Artigo 11.º

Financiamento das entidades gestoras

1 — As entidades gestoras têm direito a um adiantamento inicial de 20% do montante aprovado em cada ano civil.

2 — Após este adiantamento, as entidades gestoras recebem 80% dos pagamentos efectuados, discriminados em componente FSE e contrapartida nacional, com periodicidade não inferior a 30 dias, desde que o montante resultante da soma do adiantamento com os pagamentos parcelares não exceda 80% do montante anual previsto.

3 — Sem prejuízo do disposto no n.º 6, o saldo de cada fracção anual é pago pelo DAFSE no prazo de 15 dias após a transferência pela Comissão da Comunidade do saldo do programa respectivo.

4 — A entidade gestora deve, aquando da prestação de contas, devolver a parte do montante total recebido e não utilizado, sem prejuízo da compensação com o adiantamento do ano seguinte.

5 — Quando a entidade gestora demonstre que gastou 60% do montante previsto para o ano em causa, pode solicitar, durante o último trimestre, o primeiro adiantamento do ano seguinte.

6 — Os pagamentos às entidades gestoras estão condicionados aos fluxos financeiros da Comissão da Comunidade Europeia.

7 — Em situações excepcionais e a pedido da entidade gestora, devidamente fundamentado, a Comissão de Coordenação pode aprovar a alteração da programação física e financeira, dentro da dotação global aprovada para o programa quadro.

8 — Os encargos no âmbito da assistência técnica podem ser objecto de modalidade de financiamento específico.

9 — Os pagamentos às entidades gestoras deverão ter em conta eventuais receitas resultantes de aplicações financeiras.

Artigo 12.º

Deveres das entidades gestoras

Constituem deveres das entidades gestoras, sem prejuízo de outros que pela natureza dos programas se justifiquem:

- a) Solicitar ao DAFSE informação prévia sobre a idoneidade e dívidas das entidades promotoras, no âmbito do FSE, sob pena de nulidade das candidaturas aprovadas;
- b) Divulgar adequadamente as possibilidades de intervenção do programa quadro;
- c) Aplicar princípios da boa gestão financeira e adoptar critérios de razoabilidade face ao mercado, tendo em conta o custo/benefício das acções em causa;
- d) Prestar apoio às entidades promotoras, quer quanto à formalização do pedido, quer na fase de execução;
- e) Respeitar as normas nacionais e comunitárias;
- f) Aprovar acções de formação tendo em conta as prioridades nacionais e as exigências do mercado;
- g) Fazer o acompanhamento técnico-pedagógico das acções, bem como efectuar o respectivo controlo contabilístico-financeiro;
- h) Fornecer as informações que lhe forem solicitadas no domínio da execução financeira e física de base sectorial, regional e profissional;
- i) Informar mensalmente o DAFSE das candidaturas aprovadas e aceites pelas entidades promotoras, para efeitos de acompanhamento e publicação na 2.ª série do *Diário da República*;
- j) Divulgar junto da imprensa regional e local, com carácter periódico, as acções de formação aprovadas, com incidência regional e ou local, a indicação da entidade promotora e as verbas respeitantes a cada uma delas;
- l) Informar imediatamente o DAFSE das desistências ou propostas de revogação.

Artigo 13.º

Divulgação e informação

A divulgação e informação do conteúdo dos programas quadro, particularmente da natureza das acções de formação, dos tipos de formação, das entidades promotoras das acções e respectivos destinatários, faz-se através dos serviços locais do IEFP e, através das entidades gestoras, em órgãos de comunicação social.

CAPÍTULO III

Entidades promotoras da formação

Artigo 14.º

Entidades promotoras

1 — A entidade que pretenda apresentar um pedido de financiamento deve reunir, desde a data da apresentação da candidatura, as seguintes condições:

- a) Encontrar-se regularmente constituída e devidamente registada;
- b) Dispor de capacidade organizativa para promover a formação para que solicita apoio;

- c) Ter a situação regularizada perante a Fazenda Pública, a segurança social e o DAFSE em matéria de impostos, contribuições ou reembolsos, bem como perante quaisquer entidades gestoras no âmbito dos apoios à formação profissional e ao emprego;
- d) Dispor de idoneidade para promover a formação para que solicita apoio, tendo em conta, entre outros indicadores, a aplicação de apoios à formação profissional e ao emprego recebidos em anos transactos;
- e) Demonstrar capacidade formativa própria ou de entidade a que recorre para a realização da formação, ponderando, nomeadamente, o volume de formação realizado no âmbito do anterior quadro.

2 — Para efeitos do número anterior, a entidade promotora só pode promover a realização de formação de acordo com as suas necessidades específicas em matéria de formação profissional ou directamente relacionados com o seu objecto social.

Artigo 15.º

Formulação do pedido

1 — As entidades promotoras devem formalizar os pedidos para as acções previstas no presente diploma às entidades gestoras, mediante a apresentação do formulário «Pedido de financiamento», conforme modelo aprovado pelo Ministro do Emprego e da Segurança Social.

2 — O mesmo pedido não pode agrupar acções promovidas autonomamente por diversas entidades.

3 — Do formulário referido no n.º 1 deverá constar uma declaração relativa à alínea c) do artigo 14.º, sem prejuízo do previsto no n.º 5 do artigo 21.º

4 — O formulário referido no n.º 1 pode ser substituído por suporte magnético destinado a tratamento informático.

5 — Os pedidos devem ser apresentados com a antecedência mínima de 90 dias e máxima de 180 dias em relação à data prevista para o início da primeira acção de formação, salvo situações excepcionais e desde que a entidade gestora tenha capacidade de decidir antes do início da mesma.

Artigo 16.º

Planos de formação

1 — Os pedidos, agrupados por medidas, devem integrar-se em planos de formação anuais ou plurianuais.

2 — As empresas com mais de 500 trabalhadores só poderão apresentar pedidos integrados em planos de formação, salvo situações excepcionais, devidamente fundamentadas.

3 — A partir de 1997, o princípio enunciado no número anterior deverá estender-se às empresas com mais de 300 trabalhadores, sem prejuízo do que vier a ser considerado em convenções colectivas.

4 — Em matéria de informação e consulta deve observar-se o disposto no artigo 7.º do Decreto-Lei n.º 405/91, de 16 de Outubro.

Artigo 17.º

Decisão, notificação e prazo

1 — A decisão sobre o pedido cabe à entidade gestora e deve ser notificada à entidade promotora por

correio registado com aviso de recepção, com a antecedência mínima de 30 dias em relação à data prevista para o início da acção de formação.

2 — O prazo de notificação suspende-se sempre que a entidade gestora solicite elementos adicionais, por correio registado ou telecópia, terminando a suspensão com a cessação do facto que lhe deu causa.

3 — Os elementos adicionais referidos no número anterior devem dar entrada na entidade gestora no prazo máximo de 30 dias contados a partir da notificação ou solicitação dos mesmos, sem o que o pedido será arquivado.

4 — Em caso de suspensão da notificação, nos termos do n.º 2, pode a entidade promotora iniciar a formação antes da notificação da decisão de aprovação, devendo do facto dar conhecimento prévio à entidade gestora.

Artigo 18.º

Termo de aceitação

1 — No prazo de 15 dias contados a partir da data da assinatura do aviso de recepção referido no n.º 1 do artigo anterior, deve a entidade promotora remeter à entidade gestora o termo de aceitação da decisão de aprovação.

2 — O incumprimento do disposto no número anterior determina o arquivamento do pedido.

Artigo 19.º

Livro da Formação/FSE

1 — As entidades promotoras devem dispor de um «Livro da Formação/FSE», conforme com a estrutura constante do anexo ao presente diploma, o qual deve ser actualizado logo que remetido o termo de aceitação.

2 — Para efeitos do disposto no número anterior, a entidade gestora remete à entidade promotora uma vinheta identificadora da decisão, destinada a ser fixada no livro da formação.

3 — A entidade gestora pode condicionar a aprovação do pedido à análise do Livro da Formação.

4 — O Livro da Formação/FSE é editado, autenticado e controlado pelo DAFSE e distribuído pelas entidades gestoras.

Artigo 20.º

Alteração à decisão de aprovação

1 — O pedido de alteração à decisão de aprovação deve ser apresentado previamente à entidade gestora, mediante formulário de modelo aprovado pelo Ministro do Emprego e da Segurança Social ou através de suporte magnético destinado a tratamento informático.

2 — Se, nos 30 dias subsequentes à apresentação do pedido, a entidade promotora não for notificada de decisão que sobre ele tenha recaído, o pedido considera-se tacitamente deferido.

3 — Não carecem de pedido de alteração:

- a) As alterações às datas de realização da formação, para as quais apenas se exige a comunicação por escrito e em correio registado ou por telecópia, à entidade gestora com a antecedência mínima de 15 dias em relação à data anteriormente prevista;
- b) As alterações ao número de formandos, se motivadas por desistência, sempre que as mesmas

não ultrapassem um quarto do número de formandos inicialmente previsto, sem prejuízo de regulamentação específica no âmbito de acções dirigidas a grupos desfavorecidos.

4 — A decisão de aprovação caduca se o período de adiamento do início e fim da formação for superior a três meses em relação às datas inicialmente previstas naquela decisão.

Artigo 21.º

Adiantamentos

1 — A aceitação da decisão de aprovação por parte da entidade promotora confere, logo que a acção de formação se inicie, o direito à percepção de um primeiro adiantamento, até ao limite máximo de 30 % do financiamento aprovado para o primeiro ano civil.

2 — Quando a entidade promotora demonstre, através de formulário a aprovar pelo DAFSE, que já efectuou pagamentos correspondentes a, pelo menos, 80 % do valor do primeiro adiantamento e realizou despesa igual ao montante recebido, tem direito a receber um segundo adiantamento, de montante igual ao referido no número anterior.

3 — A entidade gestora pode conceder outros adiantamentos, até ao limite máximo de 60 % do montante aprovado por ano civil, desde que a entidade promotora demonstre que realizou despesas correspondentes aos adiantamentos recebidos, incluindo os saldos intermédios, e tenha efectuado pagamentos iguais ou superiores a 80 % desses adiantamentos.

4 — Se a formação se prolongar por mais de um ano civil, o primeiro adiantamento do ano seguinte, até ao limite máximo de 30 % do montante aprovado para esse ano, está condicionado à demonstração, através de formulário a definir pelo DAFSE, de que já se realizou despesa correspondente a 80 % do montante previsto para o ano anterior àquele a que se reporta o primeiro adiantamento.

5 — Para efeitos do n.º 1, a entidade promotora deve remeter à entidade gestora certidões comprovativas da situação contributiva regularizada perante a segurança social e a Fazenda Pública e informar, por qualquer meio escrito, de que já deu início à acção de formação correspondente ao pedido.

6 — Reunidas as condições e cumpridas as formalidades atrás referidas, a entidade gestora deve, no prazo de 15 dias, emitir ordem de pagamento a favor da entidade promotora.

7 — Em situações excepcionais, nomeadamente tratando-se de entidades sem fins lucrativos ou desde que o pedido seja consubstanciado num plano de formação com duração superior a 12 meses, pode ser acordado um sistema de financiamento específico, incluindo o pagamento de saldo.

8 — O pagamento da componente FSE e da contrapartida nacional deve ser feito em simultâneo, desde que esta não seja assegurada pela entidade promotora.

Artigo 22.º

Prestação de contas e pedido de saldo

1 — As entidades promotoras devem prestar contas à entidade gestora e pedir o saldo correspondente nos 60 dias subsequentes à conclusão da acção de formação correspondente ao pedido.

2 — Tratando-se de pedidos plurianuais, as entidades promotoras devem apresentar até 31 de Março de cada ano o balancete acumulado por rubricas de saldo, reportado a 31 de Dezembro do ano anterior.

3 — O pedido de pagamento de saldo deve ser formalizado mediante a apresentação de um formulário aprovado pelo Ministro do Emprego e da Segurança Social, ou através de suporte magnético destinado a tratamento informático.

Artigo 23.º

Justificação de despesas e dívidas

1 — As despesas realizadas com a acção de formação a que se refere o presente diploma apenas podem ser justificadas através de factura ou documento equivalente e recibo.

2 — Não é permitida, em caso algum, a existência de dívidas aos formandos.

3 — Em caso de incumprimento do disposto no número anterior, os custos correspondentes não são elegíveis.

Artigo 24.º

Pagamento de saldo final ou anual

1 — A decisão sobre o pedido de pagamento de saldo final deve ser proferida pela entidade gestora nos 60 dias subsequentes à data da sua recepção.

2 — Aprovado o pedido de pagamento de saldo final ou verificado um saldo anual a favor da entidade promotora, em consequência do n.º 2 do artigo 22.º, a entidade gestora deve emitir ordem de pagamento, no prazo de 15 dias, de modo que o somatório dos adiantamentos feitos com o saldo a pagar não exceda 80% das despesas públicas elegíveis.

3 — O montante correspondente aos restantes 20%, calculados nos termos do número anterior, é pago pela entidade gestora no prazo de 15 dias após transferência pelo DAFSE do saldo da fracção anual do programa quadro respectivo, devendo a entidade promotora pagar os montantes em dívida no prazo de 30 dias após o recebimento, sob pena de os mesmos não serem elegíveis.

4 — O prazo referido no n.º 1 suspende-se sempre que a entidade gestora solicite documentos adicionais ou entenda necessário proceder à verificação dos elementos factuais ou contabilísticos referentes à acção de formação.

5 — A suspensão referida no número anterior deve ser notificada à entidade promotora por correio registado, com aviso de recepção, terminando com a cessação do facto que lhe deu causa.

Artigo 25.º

Revisão da decisão

Sem prejuízo do que sobre a prescrição de actos ilícitos se encontra regulado no Código Penal, a decisão sobre o pedido de pagamento de saldo pode ser revista, nomeadamente com fundamento em auditoria contabilístico-financeira, no prazo de três anos após a execução daquela decisão.

Artigo 26.º

Deveres das entidades promotoras

1 — Constituem deveres das entidades promotoras, além dos previstos em disposições específicas:

- a) Pôr à disposição da entidade gestora, do DAFSE ou do IEFP, ou de quem por estes for credenciado, todos os elementos factuais ou contabilísticos necessários ao acompanhamento, controlo e avaliação;
- b) Pôr à disposição dos formandos o processo de candidatura e a decisão de aprovação;
- c) Pautar a realização das despesas de acordo com critérios de razoabilidade assentes em princípios da boa gestão financeira, tendo em conta os preços de mercado e a relação custo/benefício;
- d) Organizar um processo contabilístico;
- e) Organizar um processo técnico-pedagógico;
- f) Abrir e manter conta bancária específica, através da qual sejam efectuados, exclusivamente, os movimentos relacionados com os recebimentos e pagamentos referentes à formação financiada.

2 — Quando a entidade promotora seja simultaneamente entidade gestora, deve abrir e manter duas contas bancárias específicas, junto de instituições bancárias ou de Tesouro, procedendo à transferência da conta de gestão para a conta da execução das acções, nos termos do pagamento às entidades promotoras.

Artigo 27.º

Processo contabilístico

1 — As entidades promotoras ficam obrigadas a:

- a) Utilizar um centro de custos específico que permita a individualização de cada curso de acordo com as rubricas previstas no pedido de saldo, o qual deve respeitar os princípios e conceitos contabilísticos, critérios de valorimetria e métodos de custeio definidos no Plano Oficial de Contabilidade;
- b) Arquivar, sequencialmente, em pastas próprias, todos os originais ou cópias, assinados pelo responsável do centro de custos, de documentos de proveitos, custos e quitações, nos quais devem constar os números de lançamento nas contabilidades geral e específica;
- c) Elaborar balancetes mensais com os respectivos movimentos do mês e acumulados, segundo as mesmas rubricas.

2 — O centro de custos referido na alínea a) do n.º 1 deve, quanto às entidades promotoras de programas de formação para deficientes, ser aferido à medida inscrita no Quadro Comunitário.

3 — Para efeitos do disposto nos números anteriores, as entidades devem manter actualizada a contabilidade específica da formação, não sendo admissível, em caso algum, atraso superior a 60 dias na sua organização.

Artigo 28.º

Processo técnico-pedagógico

1 — As entidades promotoras devem organizar, para cada curso, um processo técnico-pedagógico contendo as seguintes informações:

- a) Programa detalhado da formação;
- b) Cronograma da formação;
- c) *Curricula* dos formadores;
- d) Fichas de inscrição dos formandos;
- e) Contratos de formação de formandos não vinculados, nos termos do Decreto-Lei n.º 242/88, de 7 de Julho;
- f) Sumários das matérias leccionadas e da formação prática;
- g) Fichas, registos ou folhas de presença dos formandos e dos formadores;
- h) Manuais e descrição do equipamento técnico-pedagógico utilizados ou outra documentação da mesma natureza;
- i) Indicação dos locais de formação;
- j) Documentação referindo as principais ocorrências verificadas no decurso da formação, nomeadamente desistências, visitas de estudo, dispensas e interrupções;
- l) Provas, testes ou outros indicadores de avaliação dos formandos;
- m) Resultados finais obtidos.

2 — O processo técnico-pedagógico deve estar sempre actualizado e disponível no local onde decorre a formação.

3 — A entidade promotora fica obrigada, sempre que solicitada, a entregar à entidade gestora cópias de elementos do processo técnico-pedagógico, sem prejuízo da salvaguarda dos direitos de autor e da confidencialidade exigível.

4 — Caso as acções se integrem num plano de formação, as referências constantes das alíneas h) e i) do n.º 1 serão feitas por uma só vez, em relação a todas as acções a que o mesmo se refere.

CAPÍTULO IV

Disposições finais

Artigo 29.º

Assistência técnica global

No âmbito do programa de assistência técnica global da vertente FSE do Quadro Comunitário de Apoio, compete ao Ministro do Emprego e da Segurança Social autorizar as despesas correspondentes.

Artigo 30.º

Recurso

1 — Dos actos praticados por entidades gestoras de programas quadro no âmbito do disposto no presente diploma cabe recurso necessário para o Ministro do Emprego e da Segurança Social.

2 — Dos actos praticados por entidades gestoras de subprogramas sectoriais ou regionais, cabe recurso necessário para o membro do Governo respectivo.

Artigo 31.º

Situação perante a segurança social

1 — Não são efectuados quaisquer pagamentos enquanto a entidade promotora não demonstre ter a sua situação contributiva regularizada perante a segurança social.

2 — Para efeitos do disposto no número anterior, deve ser remetida à entidade gestora certidão comprovativa de que a entidade promotora tem a sua situação contributiva regularizada perante a segurança social, excepto se a anterior permanecer válida.

3 — Quando se verifique que a situação devedora da entidade põe em causa a realização da formação, pode a decisão de aprovação ser revogada, com a consequente restituição dos montantes pagos.

Artigo 32.º

Restituições

1 — Compete ao DAFSE notificar as entidades promotoras da obrigação de restituir montantes indevidamente pagos, ou não justificados.

2 — Para efeitos do disposto no número anterior, as entidades gestoras dos programas quadro, após audição das entidades promotoras, dão imediato conhecimento ao DAFSE, de forma fundamentada, dos montantes a restituir.

3 — As entidades promotoras devem restituir os montantes em causa no prazo de 10 dias, após o que serão os mesmos acrescidos de juros de mora à taxa estabelecida para as dívidas de impostos ao Estado e aplicada da mesma forma.

4 — Quando o financiamento seja revogado, independentemente da causa e sem prejuízo do disposto no número anterior, as entidades promotoras ficam obrigadas à restituição dos montantes recebidos, acrescidos de juros calculados à taxa legal, contados até à data do conhecimento do despacho que ordenou a revogação, ou da comunicação da ocorrência da desistência.

5 — Para efeitos do disposto no número anterior, as desistências da realização das acções devem ser comunicadas directamente ao DAFSE pelas entidades promotoras, com conhecimento às entidades gestoras.

6 — As entidades gestoras são subsidiariamente responsáveis pela restituição de montantes indevidamente pagos, salvo por razões que não lhe sejam imputáveis.

7 — Os juros cobrados nos termos dos n.ºs 3 e 4 constituem receita da segurança social.

Artigo 33.º

Revogação da decisão

1 — A decisão de concessão do financiamento pode ser revogada com os seguintes fundamentos:

- a) A não consecução de nenhum dos objectivos previstos no pedido de financiamento, nomeadamente por desistência de realização das acções;
- b) As alterações aos elementos determinantes da decisão de aprovação não comunicadas ou não aceites pelas entidades gestoras, tais como redução significativa da carga horária ou do número de formandos que ponham em causa o mérito da acção ou a sua razoabilidade financeira;
- c) A não apresentação atempada de contas ou pedidos de pagamento de saldo;

- d) A interrupção ou adiamento da formação por prazo superior a 90 dias;
- e) O não enquadramento da formação objecto de pedido de financiamento nos normativos nacionais, intervenções operacionais ou regulamentos comunitários;
- f) A apresentação do mesmo pedido ou pedidos da mesma natureza a mais de uma entidade gestora;
- g) O não envio atempado do termo de aceitação;
- h) As falsas declarações sobre o início da acção para efeito da percepção efectiva do primeiro adiantamento.

2 — A revogação é da competência do Ministro do Emprego e da Segurança Social ou do membro do Governo respectivo, no caso dos subprogramas sectoriais referidos no n.º 3 do artigo 2.º

3 — Compete ao DAFSE submeter à apreciação do Ministro do Emprego e da Segurança Social as propostas de revogação de sua iniciativa ou remetidas pelas entidades gestoras.

Artigo 34.º

Suspensão e redução do financiamento

1 — Os pagamentos podem ser suspensos até à regularização ou à tomada de decisão decorrente da análise da situação com os seguintes fundamentos:

- a) A inexistência ou deficiência grave dos processos contabilístico ou técnico-pedagógico;
- b) A inexistência ou não actualização do Livro da Formação/FSE;
- c) A inexistência de conta bancária exclusiva;
- d) A realização de auditoria contabilístico-financeira quando proposta com base em indícios de não transparência ou rigor dos custos;
- e) A superveniência de situação contributiva não regularizada perante a segurança social, incorrendo a entidade promotora na obrigação de restituir se for negado acordo de regularização.

2 — O financiamento concedido pode ser reduzido com os seguintes fundamentos:

- a) A falta de razoabilidade das despesas verificadas, designadamente em sede de auditoria contabilístico-financeira;
- b) A consideração de valores superiores aos legalmente permitidos ou não elegíveis;
- c) A não consideração de receitas provenientes das acções no montante das mesmas;
- d) A existência de dívidas aos formandos no montante da dívida;
- e) A não consecução dos objectivos principais previstos no pedido de financiamento.

3 — Para efeito da regularização das deficiências referidas no n.º 1 deve ser dado um prazo às entidades promotoras, não superior a 60 dias, findo o qual e persistindo a situação, é revogada a decisão de concessão do financiamento.

Artigo 35.º

Regulamentação específica

A regulamentação específica dos subprogramas sectoriais referidos no n.º 3 do artigo 2.º é aprovada por

despacho conjunto do Ministro do Emprego e da Segurança Social e do membro do Governo competente em razão da matéria.

Artigo 36.º

Processamento de pagamentos a entidades promotoras durante o ano de 1994

Durante o ano de 1994, o DAFSE procede directamente ao pagamento às entidades promotoras de acções de formação que actuem no âmbito de programas quadro geridos pelo IEFEP ou por serviços sem autonomia financeira.

Artigo 37.º

Acções aprovadas entre 9 de Julho e 31 de Dezembro de 1993

A cobertura financeira de acções de formação aprovadas entre 9 de Julho e 31 de Dezembro de 1993, no âmbito do Quadro Comunitário de Apoio para o período de 1989-1993, pode ser imputada ao actual Quadro Comunitário, sem prejuízo das disposições regulamentares em vigor à data da sua aprovação.

Artigo 38.º

Acções a iniciar no princípio de 1994

As entidades promotoras que tenham iniciado, ou iniciem, acções de formação profissional no período compreendido entre 1 de Janeiro e 31 de Julho de 1994 podem apresentar os pedidos de contribuição no decurso do mês imediatamente posterior ao da entrada em vigor do presente diploma.

Artigo 39.º

Aplicação às Regiões Autónomas

O presente diploma aplica-se às acções de formação profissional e emprego realizadas nas Regiões Autónomas, com as adaptações que forem consideradas necessárias.

Artigo 40.º

Revogação

1 — São revogados os Despachos Normativos n.ºs 68/91, de 25 de Março, e 257/91, de 11 de Novembro.

2 — Sem prejuízo do disposto no número anterior, os pedidos de financiamento correspondentes aos cursos que tenham sido aprovados no âmbito do anterior Quadro Comunitário de Apoio regem-se pelos diplomas aí referidos.

Presidência do Conselho de Ministros, 26 de Abril de 1994.

Aníbal António Cavaco Silva — Luís Francisco Valente de Oliveira — Arlindo Marques da Cunha — José Bernardo Veloso Falcão e Cunha.

Promulgado em 25 de Junho de 1994.

Publique-se.

O Presidente da República, MÁRIO SOARES.

Referendado em 29 de Junho de 1994.

O Primeiro-Ministro, *Aníbal António Cavaco Silva.*



DIÁRIO DA REPÚBLICA

Depósito legal n.º 8814/85

ISSN 0870-9963

AVISO

Por ordem superior e para constar, comunica-se que não serão aceites quaisquer originais destinados ao *Diário da República* desde que não tragam aposta a competente ordem de publicação, assinada e autenticada com selo branco.



PORTE
PAGO

1 — Preço de página para venda avulso, 6\$50+IVA; preço por linha de anúncio, 203\$+IVA.

2 — Os prazos de reclamação de faltas do *Diário da República* para o continente e regiões autónomas e estrangeiro são, respectivamente, de 30 e 90 dias à data da sua publicação.

PREÇO DESTE NÚMERO 353\$00 (IVA INCLUIDO 5%)



IMPRESA NACIONAL-CASA DA MOEDA, E. P.

LOCAIS DE VENDA DE PUBLICAÇÕES, IMPRESSOS E ESPÉCIMES NUMISMÁTICOS

- Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 1092 Lisboa Codex
Telef. (01)69 34 14 Fax (01)69 31 66
- Rua da Escola Politécnica 1200 Lisboa
Telef. (01)397 47 68 Fax (01)396 94 33
- Rua do Marquês de Sá da Bandeira, 16 1000 Lisboa
Telef. (01)54 50 41 Fax (01)353 02 94
- Avenida de António José de Almeida 1000 Lisboa
(Centro Comercial S. João de Deus, lojas 414 e 417)
Telef. (01)76 55 44 Fax (01)797 68 72
- Avenida do Engenheiro Duarte Pacheco 1000 Lisboa
(Centro Comercial das Amoreiras, loja 2112)
Telef. (01)387 71 07
- Praça de Guilherme Gomes Fernandes, 84 4000 Porto
Telef. (02)31 91 66 Fax (02)200 85 79
- Avenida de Fernão de Magalhães, 486 3000 Coimbra
Telef. (039)269 02 Fax (039)326 30

Toda a correspondência, quer oficial, quer relativa a anúncios e a assinaturas do «Diário da República» e do «Diário da Assembleia da República», deve ser dirigida à administração da Imprensa Nacional-Casa da Moeda, E. P., Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1092 Lisboa Codex