

II

(Actes dont la publication n'est pas une condition de leur applicabilité)

COMMISSION

DEUXIÈME DIRECTIVE DE LA COMMISSION

du 14 mai 1982

concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux méthodes d'analyse nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques

(82/434/CEE)

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 76/768/CEE du Conseil, du 27 juillet 1976, concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques ⁽¹⁾, modifiée par la directive 79/661/CEE ⁽²⁾, et notamment son article 8 paragraphe 1,

considérant que la directive 76/768/CEE prévoit des contrôles officiels des produits cosmétiques visant à constater que les conditions prévues par les dispositions communautaires concernant la composition des produits cosmétiques sont respectées ;

considérant qu'il convient d'établir le plus rapidement possible toutes les méthodes d'analyse nécessaires et que la première étape pour atteindre ce but ayant été réalisée par la fixation de certaines méthodes dans la directive 80/1335/CEE de la Commission ⁽³⁾, la fixation des méthodes d'identification des agents d'oxydation et de dosage du peroxyde d'hydrogène dans les produits capillaires, d'identification et de dosage semi-quantitatif

de certains colorants d'oxydation dans les teintures pour cheveux, d'identification et de dosage des nitrites, d'identification et de dosage du formaldéhyde libre, de dosage de la résorcine dans les shampooings et les lotions capillaires, de dosage du méthanol par rapport à l'éthanol ou au propanol-2, constituent une deuxième étape ;

considérant que les mesures prévues à la présente directive sont conformes à l'avis du comité pour l'adaptation au progrès technique de la directive 76/768/CEE,

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE :

Article premier

Les États membres prennent toutes les mesures utiles pour que, lors des contrôles officiels des produits cosmétiques :

- l'identification des agents d'oxydation et le dosage du peroxyde d'hydrogène dans les produits capillaires,
- l'identification et le dosage semi-quantitatif de certains colorants d'oxydation dans les teintures pour cheveux,
- l'identification et le dosage des nitrites,
- l'identification et le dosage du formaldéhyde libre,

⁽¹⁾ JO n° L 262 du 27. 9. 1976, p. 169.

⁽²⁾ JO n° L 192 du 31. 7. 1979, p. 35.

⁽³⁾ JO n° L 383 du 31. 12. 1980, p. 27.

- le dosage de la résorcine dans les shampooings et les lotions capillaires,
- le dosage du méthanol par rapport à l'éthanol ou au propanol-2

soient effectués selon les méthodes décrites à l'annexe.

Article 2

Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires ou administratives nécessaires pour se conformer aux dispositions de la présente directive, au plus tard le 31 décembre 1983. Ils en informent immédiatement la Commission.

Article 3

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 14 mai 1982.

Par la Commission

Karl-Heinz NARJES

Membre de la Commission

ANNEXE

I. IDENTIFICATION DES AGENTS D'OXYDATION ET DOSAGE DU PEROXYDE D'HYDROGÈNE DANS LES PRODUITS CAPILLAIRES

OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Le dosage iodométrique du peroxyde d'hydrogène dans les produits cosmétiques est possible en l'absence de tout autre agent d'oxydation réagissant avec les iodures pour former de l'iode. Avant d'entreprendre le dosage iodométrique du peroxyde d'hydrogène, il est donc indispensable de détecter et d'identifier les autres agents d'oxydation éventuellement présents. Cette identification s'effectue en deux opérations, la première concerne les persulfates, les bromates et le peroxyde d'hydrogène, la seconde le peroxyde de baryum.

A. IDENTIFICATION DES PERSULFATES, DES BROMATES ET DU PEROXYDE D'HYDROGÈNE

1. PRINCIPE

Le persulfate de sodium, de potassium et d'ammonium, le bromate de potassium et de sodium et le peroxyde d'hydrogène, qu'il provienne ou non du peroxyde de baryum, sont identifiés par chromatographie descendante sur papier à l'aide de deux solvants de développement.

2. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

2.1. Solutions aqueuses de référence à 0,5 % (m/v) des composés suivants :

- 2.1.1. persulfate de sodium
- 2.1.2. persulfate de potassium
- 2.1.3. persulfate d'ammonium
- 2.1.4. bromate de potassium
- 2.1.5. bromate de sodium
- 2.1.6. peroxyde d'hydrogène

2.2. Solvant de développement A, éthanol à 80 % (v/v)

2.3. Solvant de développement B, benzène-méthanol-alcool isoamylique-eau (34-38-18-10, v)

2.4. Réactif A, solution aqueuse d'iodure de potassium à 10 % (m/v)

2.5. Réactif B, solution aqueuse d'amidon à 1 % (m/v)

2.6. Réactif C, acide chlorhydrique à 10 % (m/m)

2.7. Acide chlorhydrique 4 N

3. APPAREILLAGE

3.1. papier pour chromatographie (Whatman n° 3 et n° 4 ou équivalent)

3.2. micropipette d'un µl

3.3. fioles jaugées de 100 ml

3.4. filtres plissés

3.5. matériel courant pour chromatographie descendante sur papier

4. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON**4.1. Produits solubles dans l'eau**

Préparer deux solutions d'échantillon en dissolvant respectivement 1 et 5 g du produit dans 100 ml d'eau. Pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5, utiliser 1 µl de chacune de ces deux solutions.

4.2. Produits partiellement solubles dans l'eau

4.2.1. Peser 1 et 5 g d'échantillon, les mettre en suspension dans 50 ml d'eau, compléter à 100 ml et mélanger. Filtrer les deux suspensions à l'aide d'un filtre plissé (point 3.4) et utiliser 1 µl de chacun des deux filtrats pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5.

4.2.2. Préparer deux nouvelles suspensions de 1 et 5 g d'échantillon dans 50 ml d'eau, acidifier avec de l'acide chlorhydrique dilué (point 2.7) compléter à 100 ml avec de l'eau et mélanger. Filtrer les suspensions à l'aide d'un filtre plissé (point 3.4) et utiliser 1 µl de chacun des deux filtrats pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5.

4.3. Crèmes

Homogénéiser séparément 5 et 20 g du produit dans 100 ml d'eau et utiliser les dispersions pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Dans deux cuves pour chromatographie descendante sur papier, mettre une certaine quantité des solvants de développement A (point 2.2) et B (point 2.3). Saturer les cuves par les vapeurs de solvants pendant 24 h au moins.

5.2. Sur une bande de papier pour chromatographie (Whatman n° 3 ou équivalent) de 40 cm de long et 20 cm de large (point 3.1) ou d'un autre format approprié, déposer sur chaque point de départ 1 µl de l'une des solutions (ou suspensions filtrées) d'échantillon et de référence préparées aux points 4 et 2.1 et faire évaporer le solvant à l'air.

5.3. Mettre la bande (point 5.2) dans la cuve remplie du solvant A (point 5.1) et chromatographier jusqu'à ce que le front du solvant ait parcouru 35 cm (environ 15 h).

5.4. Répéter les opérations décrites aux points 5.2 et 5.3 avec du papier pour chromatographie (Whatman n° 4 ou équivalent) (point 3.1) et le solvant B (point 2.3). Chromatographier jusqu'à ce que le solvant de développement ait parcouru 35 cm (environ 5 h).

5.5. Après développement, sortir les bandes de papier des cuves et les sécher à l'air.

5.6. Révéler les taches en pulvérisant :

5.6.1. le réactif A (point 2.4) et aussitôt après le réactif B (point 2.5). Les taches de persulfates apparaissent d'abord sur le chromatogramme, suivies de taches de peroxyde d'hydrogène. Marquer ces taches au moyen d'un crayon.

5.6.2. le réactif C (point 2.6) sur les chromatogrammes obtenus au point 5.6.1. Des taches gris bleu indiquant la présence de bromates apparaissent.

5.7. Dans les conditions indiquées ci-avant pour les solvants A (point 2.2) et B (point 2.3) les valeurs R_f des solutions de référence (point 2.1) sont les suivantes :

	<i>Solvant A (point 2.2)</i>	<i>Solvant B (point 2.3)</i>
Persulfate de sodium	0,40	0,10
Persulfate de potassium	0,40	0,02 + 0,05
Persulfate d'ammonium	0,50	0,10 + 0,20
Bromate de sodium	0,40	0,20
Bromate de potassium	0,40	0,10 + 0,20
Peroxyde d'hydrogène	0,80	0,80

B. IDENTIFICATION DU PEROXYDE DE BARYUM

1. PRINCIPE

La présence de peroxyde de baryum est mise en évidence :

- d'une part par formation du peroxyde d'hydrogène après l'acidification de l'échantillon (titre A, point 4.2),
- d'autre part, par l'identification d'ions baryum.

En l'absence de persulfates (titre A): on ajoute de l'acide sulfurique dilué à une partie de la solution d'échantillon acide (titre B, point 4.1), ce qui entraîne la formation d'un précipité blanc de sulfate de baryum. La présence d'ions baryum dans la solution d'échantillon (point 4.1) est confirmée par chromatographie sur papier comme indiqué au point 5 ci-après.

En cas de présence simultanée de peroxyde de baryum et de persulfates (titre B, point 4.2) après fusion alcaline de l'insoluble et dissolution dans l'acide chlorhydrique, on établit la présence d'ion baryum par chromatographie et/ou par précipitation à l'état de sulfate.

2. RÉACTIFS

- 2.1. Méthanol
- 2.2. Acide chlorhydrique concentré à 36 % (m/m)
- 2.3. Acide chlorhydrique 6 N
- 2.4. Acide sulfurique 4 N
- 2.5. Rhodizate disodique
- 2.6. Chlorure de baryum ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 2.7. Carbonate de sodium anhydre
- 2.8. Solution aqueuse de chlorure de baryum à 1 % (m/v)
- 2.9. Solvant de développement, méthanol-acide chlorhydrique concentré à 36 % — eau (80 + 10 + 10, v)
- 2.10. Réactif, solution aqueuse de rhodizate disodique à 0,1 % (m/v) ; préparer la solution juste avant l'utilisation

3. APPAREILLAGE

- 3.1. Micropipette de 5 μl
- 3.2. Creusets en platine
- 3.3. Fioles jaugées de 100 ml
- 3.4. Papier pour chromatographie (Schleicher et Schüll 2043 b ou équivalent). Placer pendant une nuit dans la cuve pour chromatographie (titre A, point 3.5) contenant le solvant (titre B, point 2.9) et sécher
- 3.5. Filtres plissés
- 3.6. Matériel courant pour la chromatographie ascendante sur papier

4. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

4.1. Produits ne contenant pas de persulfates

- 4.1.1. Homogénéiser ou dissoudre 2 g du produit dans 50 ml d'eau et, au moyen d'acide chlorhydrique (titre B, point 2.3) porter le pH de la solution à environ 1.

- 4.1.2. Transvaser la solution (suspension) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec de l'eau et mélanger. Utiliser cette solution pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5 et pour identifier le baryum par précipitation du sulfate.
- 4.2. **Produits contenant des persulfates**
 - 4.2.1. Homogénéiser ou dissoudre 2 g du produit dans 100 ml d'eau et filtrer.
 - 4.2.2. Ajouter au résidu séché 7 à 10 fois son poids de carbonate de sodium (titre B, point 2.7) mélanger et fondre le mélange dans un creuset de platine (titre B, point 3.2) pendant une demi-heure.
 - 4.2.3. Refroidir à la température ambiante, mettre en suspension le produit de la fusion dans 50 ml d'eau et filtrer (titre B, point 3.5).
 - 4.2.4. Dissoudre dans l'acide chlorhydrique 6 N (titre B, point 2.3) et porter à 100 ml avec de l'eau. Utiliser cette solution pour réaliser la chromatographie sur papier décrite au point 5 et pour identifier le baryum par précipitation du sulfate.

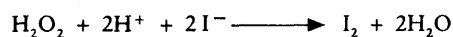
5. MODE OPÉRATOIRE

- 5.1. Dans une cuve pour chromatographie ascendante sur papier, mettre une certaine quantité de solvant (titre B, point 2.9) et saturer la cuve pendant 15 h, au moins.
 - 5.2. Sur une feuille de papier pour chromatographie, préalablement traité comme indiqué (titre B, point 3.4) déposer respectivement sur trois points de départ, 5 µl de chacune des solutions préparées (titre B, point 4.1.2) et (titre B, point 4.2.4) et de la solution de référence (titre B, point 2.8).
 - 5.3. Faire évaporer le solvant à l'air et chromatographier verticalement jusqu'à ce que le solvant de développement ait parcouru 30 cm.
 - 5.4. Sortir le chromatogramme de la cuve et le sécher à l'air.
 - 5.5. Faire apparaître les taches sur le chromatogramme en pulvérisant celui-ci avec le réactif (titre B, point 2.10).
- En présence de baryum, des taches rouges de Rf 0,10 environ apparaissent.

C. DOSAGE DU PEROXYDE D'HYDROGÈNE

1. PRINCIPE

Le dosage iodométrique du peroxyde d'hydrogène repose sur la réaction suivante :



Il s'agit d'une réaction lente, mais il est possible de l'accélérer en ajoutant du molybdate d'ammonium. L'iode formé, dosé par des procédés titrimétriques à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium, permet de calculer la teneur en peroxyde d'hydrogène.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en peroxyde d'hydrogène déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse du produit.

3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

- 3.1. Acide sulfurique 2 N
- 3.2. Iodure de potassium
- 3.3. Molybdate d'ammonium
- 3.4. Solution de thiosulfate de sodium 0,1 N

- 3.5. Solution d'iodure de potassium à 10 % (m/v). Préparer la solution extemporanément
- 3.6. Solution de molybdate d'ammonium à 20 % (m/v)
- 3.7. Solution d'amidon à 1 % (m/v)

4. APPAREILLAGE

- 4.1. Bêchers en verre de 100 ml
- 4.2. Burette de 50 ml
- 4.3. Fioles jaugées de 250 ml
- 4.4. Éprouvettes graduées de 25 et 100 ml
- 4.5. Pipettes jaugées de 10 ml
- 4.6. Fioles coniques de 250 ml

5. MODE OPÉRATOIRE

- 5.1. Dans un bécher de 100 ml, peser une quantité (m grammes) du produit équivalente à 0,6 g environ de peroxyde d'hydrogène ; les transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 250 ml à l'aide d'une petite quantité d'eau, compléter au trait avec de l'eau et mélanger.
- 5.2. Pipeter 10 ml de la solution d'échantillon (point 5.1) dans une fiole conique de 250 ml (point 4.6) et ajouter successivement 100 ml d'acide sulfurique 2 N (point 3.1), 20 ml de solution d'iodure de potassium (point 3.5) et trois gouttes de solution de molybdate d'ammonium (point 3.6).
- 5.3. Titrer immédiatement l'iode formé à l'aide de la solution de thiosulfate de sodium 0,1 N (point 3.4) et, juste avant d'atteindre le point d'équivalence, ajouter quelques ml de solution d'amidon comme indicateur. Noter la quantité en ml de thiosulfate de sodium 0,1 N utilisée (V).
- 5.4. Selon le processus indiqué aux points 5.2 et 5.3, effectuer un dosage à blanc, les 10 ml de solution d'échantillon étant remplacés par 10 ml d'eau. Noter la quantité en ml de thiosulfate de sodium 0,1 N utilisée (Vo).

6. CALCUL

Calculer la teneur du produit en peroxyde d'hydrogène, en pourcentage de masse (% m/m), à l'aide de la formule :

$$\% \text{ de peroxyde d'hydrogène} = \frac{(V - V_0) \times 1,7008 \times 250 \times 100}{m \times 10 \times 1\,000}$$

$$\% \text{ de peroxyde d'hydrogène} = \frac{(V - V_0) \times 4,252}{m}$$

où :

m = la quantité en g de produits examinés (point 5.1),

Vo = la quantité en ml de solution de thiosulfate 0,1 N utilisée lors du dosage à blanc (point 5.4.),

V = la quantité en ml de solution de thiosulfate 0,1 N utilisée lors du titrage de la solution d'échantillon (point 5.3).

7. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en peroxyde d'hydrogène de l'ordre de 6 % (m/m) la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,2 %.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

II. IDENTIFICATION ET DOSAGE SEMI-QUANTITATIF DE CERTAINS COLORANTS D'OXYDATION DANS LES TEINTURES POUR CHEVEUX

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode permet l'identification et le dosage semi-quantitatif des substances suivantes dans les teintures pour cheveux sous forme de crème et de liquide :

Dénomination des substances	Symbole
<i>diaminobenzènes</i>	
1-2 diaminobenzène (o. phénylènediamine)	(OPD)
1-3 diaminobenzène (m. phénylènediamine)	(MPD)
1-4 diaminobenzène (p. phénylènediamine)	(PPD)
<i>diaminotoluènes</i>	
3-4 diaminotoluène (o. toluylènediamine)	(OTD)
2-4 diaminotoluène (m. toluylènediamine)	(MTD)
2-5 diaminotoluène (p. toluylènediamine)	(PTD)
<i>diaminophénols</i>	
2-4 diaminophénol	(DAP)
<i>hydroquinone</i>	
1-4 dihydroxybenzène	(H)
<i>α-naphтол</i>	(α N)
<i>Pyrogallol</i>	
1-2-3 trihydroxybenzène	(P)
<i>Résorcine</i>	
1-3 dihydroxybenzène	(R)

2. PRINCIPE

Les colorants d'oxydation sont extraits, à pH 10, des teintures en forme de crème ou de liquide à l'aide de l'éthanol à 96 ° et identifiés par chromatographie sur couche mince monodimensionnelle (point 5) et/ou bidimensionnelle (point 6).

Afin d'effectuer le dosage semi-quantitatif des substances on compare l'image chromatographique des échantillons obtenue à l'aide de quatre systèmes de développement avec celle des solutions des produits de référence chromatographiées.

3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

- 3.1. Éthanol absolu
- 3.2. Acétone
- 3.3. Éthanol 96 ° (v/v)
- 3.4. Ammoniaque à 25 % ($d_{4}^{20} = 0,91$)

- 3.5. L (+) acide ascorbique
- 3.6. Chloroforme
- 3.7. Cyclohexane
- 3.8. Azote technique
- 3.9. Toluène
- 3.10. Benzène
- 3.11. Butanol 1
- 3.12. Butanol 2
- 3.13. Acide hypophosphoreux à 50 %
- 3.14. Réactif diazoïque : on pourra utiliser soit :
- le 4 nitro-1-benzènediazonium salifié et stabilisé par l'ion chlorobenzène sulfonate par exemple (rouge 2 JN de Francolor ou équivalent),
 - le 2-chloro-4-nitro-1-benzènediazonium salifié et stabilisé par l'ion naphthalenbenzoate par exemple (NNCD Reagent — Ref n° 74150 de FLUKA ou équivalent).
- 3.15. Nitrate d'argent
- 3.16. p-diméthylaminobenzaldéhyde
- 3.17. 2-5 diméthylphénol
- 3.18. Chlorure ferrique 6 H₂O
- 3.19. Acide chlorhydrique à 10 % (m/v)
- 3.20. Substances de référence
- Les substances de référence sont celles indiquées au titre I « Objet et champ d'application ».
- Dans le cas de composés aminés, la substance de référence doit être constituée exclusivement par la forme chlorhydrate (mono ou di) ou par la forme de base.
- 3.21. Solutions de référence à 0,5 % (m/v)
- Préparer une solution à 0,5 % (m/v) de chacune des substances de référence (point 3.20).
- Peser 50 mg $\pm$ 1 mg de substance de référence dans une fiole jaugée de 10 ml.
- Ajouter 5 ml d'éthanol à 96 ° (point 3.3).
- Ajouter 250 mg d'acide ascorbique (point 3.5).
- Alcaliniser à l'aide de la solution ammoniacale (point 3.4) jusqu'à un pH apparent de 10.
- Compléter à 10 ml avec de l'éthanol à 96 ° et mélanger.
- Remarques*
- Les solutions peuvent être conservées pendant une semaine dans un endroit frais, à l'abri de la lumière.
- Dans certains cas, lors de l'addition de l'acide ascorbique et de l'ammoniaque, il peut se produire un précipité. Il convient alors de laisser décanter avant de procéder au prélèvement.
- 3.22. Solvant de développement
- 3.22.1. Acétone-chloroforme-toluène : 35-25-40 (v/v)
- 3.22.2. Chloroforme-cyclohexane-éthanol absolu-ammoniaque 25 % 80-10-10-1 (v/v)
- 3.22.3. Benzène-butanol secondaire-eau : 50-25-25 (v/v). Bien agiter le mélange et prendre la phase supérieure après décantation à la température du laboratoire (entre 20 et 25 ° C).
- 3.22.4. Butanol I-chloroforme et réactif M : 7-70-23 (v/v). Laisser décanter soigneusement à 20-25 ° et prendre la phase inférieure.

Préparation du réactif M

NH ₄ OH à 25 % (v/v) (point 3.4)	24 volumes
Acide hypophosphoreux à 50 % (point 3.13)	1 volume
H ₂ O	75 volumes

Remarque

Les solvants de développement contenant de l'ammoniaque doivent être bien agités, juste avant l'emploi.

3.23. Révélateurs

3.23.1. Réactif diazoïque

Faire une solution aqueuse à 5 % (m/v) du réactif (point 3.14) choisi. Cette solution doit être préparée au moment de l'emploi.

3.23.2. Réactif d'Ehrlich

Dissoudre 2 g de p-diméthylaminobenzaldéhyde (point 3.16) dans 100 ml d'acide chlorhydrique à 10 % (m/v) aqueux (point 3.19).

3.23.3. 2-5 diméthylphénol-chlorure ferrique 6 H₂O

Solution 1 : dissoudre 1 g de diméthylphénol (point 3.17) dans 100 ml d'éthanol à 96 ° (point 3.3).

Solution 2 : dissoudre 4 g de chlorure ferrique 6 H₂O (point 3.18) dans 100 ml d'éthanol à 96 ° (point 3.3).

Lors de la révélation on pulvérise séparément d'abord la solution 1, puis la solution 2.

3.23.4. Nitrate d'argent ammoniacal

À une solution aqueuse à 5 % (m/v) de nitrate d'argent (point 3.15) ajouter de l'ammoniaque à 25 % (point 3.4) jusqu'à dissolution du précipité.

Ce réactif sera préparé au moment de son utilisation. Ne pas conserver.

4. APPAREILLAGE

4.1. Équipement de laboratoire pour chromatographie sur couche mince.

4.1.1. Enceinte en plastique ou en verre permettant de maintenir la chromatoplaque sous azote pendant le dépôt et jusqu'au développement. Cette précaution est nécessaire eu égard à la grande oxydabilité de certains colorants.

4.1.2. Seringue de 10 µl, graduée de 0,2 en 0,2 µl avec une aiguille à section droite ou mieux *repeating dispenser*, 50 µl, monté sur statif de manière à pouvoir mettre la plaque sous azote.

4.1.3. Couches minces de silice prêtes à l'emploi, épaisseur 0,25 mm, format 20 × 20 cm (Macherey et Nagel Silice G-HR ou équivalent).

4.2. Centrifugeuse 4 000 tours/mn.

4.3. Tubes de centrifugeuse de 10 ml fermés par un bouchon à vis.

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Traitement des échantillons

À l'ouverture du tube, éliminer les 2 ou 3 premiers cm de crème.

Dans un tube à centrifuger (point 4.3) préalablement purgé à l'azote, introduire :

- 300 mg d'acide ascorbique,
- 3 g de crème ou 3 g de liquide homogénéisé.

Ajouter quelques gouttes d'ammoniaque (point 3.4) si le pH est inférieur à 10 et compléter à 10 ml avec l'éthanol 96 ° (point 3.3).

Homogénéiser sous azote, boucher, puis centrifuger à 4 000 tours/mn pendant 10 mn.

Utiliser la solution surnageante.

5.2. Chromatographie**5.2.1. Dépôt**

Déposer sous azote, sur une plaque de silice (point 4.1.3) et sur 9 points de départ, 1 µl de chacune des 11 solutions de référence. Ces solutions de référence sont partagées ainsi :

1	2	3	4	5	6	7	8	9
R	P	H	PPD	DAP	PTD	OPD	OTD	MPD
MTD	α N							

D'autre part, déposer sur chacun des dixième et onzième points 2 µl des solutions échantillons obtenues au point 5.1.

Conserver la plaque sous azote jusqu'au moment où elle est chromatographiée.

5.2.2. Développement

Introduire la plaque dans une cuve préalablement purgée à l'azote, saturée avec l'un des 4 solvants appropriés (point 3.2.2) et laisser développer à température ambiante (20 à 25 °) et à l'obscurité jusqu'à ce que le front du solvant ait parcouru environ 15 cm depuis la ligne de départ.

Sortir la plaque et la sécher sous azote à température ambiante.

5.2.3. Révélation

Pulvériser aussitôt la plaque avec l'un des 4 révélateurs cités au point 3.2.3.

5.2.4. Identification

On compare les R_f et les colorations obtenues pour l'échantillon avec celles des substances de référence déposées. Le tableau I donne à titre indicatif les R_f et colorations obtenues pour chaque substance de référence en fonction du solvant de développement et des révélateurs.

En cas d'identification douteuse on peut parfois obtenir une confirmation en ajoutant à l'échantillon la substance de référence correspondante.

5.2.5. Dosage semi-quantitatif

Comparer visuellement l'intensité des taches correspondante à chaque substance identifiée au point 5.2.4 à une gamme étalon de concentration connue et appropriée obtenue à partir de la substance de référence correspondante.

Lorsque la concentration du composant de l'échantillon est trop élevée, diluer la solution à déposer et procéder à un nouveau dosage.

TABLEAU I

Valeurs Rf et colorations obtenues immédiatement après révélation

Produits de référence (3.20)	Solvants de développement				Révélateurs			
	Rf...				Colorations			
	3.22.1	3.22.2	3.22.3	3.22.4	Réactif de diazoïque (3.23.1)	Réactif d'Ehrlich (3.23.2)	Réactif au diméthylphénol-chlorure ferrique (3.23.3)	Réactif au nitrate d'argent (3.23.4)
OPD	0,62	0,60	0,30	0,57	Brun faible	—	—	Brun faible
MPD	0,40	0,60	0,47	0,48	Brun violacé*	Jaune	Brun faible	Brun faible
PPD	0,20	0,50	0,30	0,48	Brun	Rouge vif*	Violet	Gris
OTD	0,60	0,60	0,53	0,60	Brun*	Orangé faible	Brun faible	Brun gris
MTD	0,40	0,67	0,45	0,60	Brun rouge*	Jaune	Brun	Noir
PTD	0,33	0,65	0,37	0,70	Brun	Orangé	Violet*	Gris
DAP	0,07	—	0	0,05	Brun*	Orangé	Violet	Brun
H	0,50	0,35	0,80	0,20	—	Orangé	Violet	Noir*
αN	0,90	0,80	0,90	0,75	Orangé brun	—	Violet*	Noir
P	0,37	—	0,67	0,05	Brun	Violet très faible	Brun très faible	Brun*
R	0,50	0,37	0,80	0,17	Orangé*	Violet faible	Brun très faible	Brun faible

Notes: 1. L'OPD est faiblement révélé, le solvant (point 3.22.3) doit être utilisé pour le séparer nettement de l'OTD.

2. * indique la meilleure révélation.

6. EXAMEN PAR CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE BIDIMENSIONNELLE

La chromatographie sur couche mince bidimensionnelle décrite ici nécessite le recours aux réactifs suivants :

6.1. Substances et solutions de référence

- 6.1.1. β-naphtol (β-N)
- 6.1.2. 2-aminophénol (OAP)
- 6.1.3. 3-aminophénol (MAP)
- 6.1.4. 4-aminophénol (PAP)
- 6.1.5. 2-nitro-p-phénylènediamine (2 NPPD)
- 6.1.6. 4-nitro-o-phénylènediamine (4 NOPD)

Préparer une solution à 0,5 % (m/v) de chacune des substances de référence supplémentaires comme indiqué au point 3.2.1.

6.2. Solvant de développement

- 6.2.1. Acétate d'éthyle-cyclohexane-ammoniaque à 25 % (65-35-0,5, v)

6.3. Révélateur

Placer un récipient en verre dans une cuve de développement pour chromatographie sur couche mince, y introduire environ 2 g d'iode cristallisé et fermer la cuve.

6.4. Chromatographie

- 6.4.1. Tracer comme indiqué sur la figure 1, deux lignes sur la couche adsorbante d'une plaque pour chromatographie sur couche mince (point 4.1.3).
- 6.4.2. Déposer sous azote sur le point de départ 1 (figure 1) 1 à 4 µl d'extrait (point 5.1). La quantité dépend de l'intensité des taches obtenues sur le chromatogramme (point 5.2).
- 6.4.3. Déposer, partagés entre les points 2 et 3 (figure 1), les colorants d'oxydation identifiés (ou supposés identifiés) au point 5.2. Distance entre les points : 1,5 cm. Déposer 2 µl de chacune des solutions de référence, à l'exception du DAP, dont il est nécessaire de déposer 6 µl. Conduire l'opération sous azote.
- 6.4.4. Recommencer l'opération décrite au point 6.4.3 pour les points de départ 4 et 5 (figure 1) et conserver la plaque sous azote jusqu'à la chromatographie.
- 6.4.5. Purger une cuve à chromatographier, avec de l'azote et y introduire une quantité appropriée de solvant de développement (point 3.22.2). Placer la plaque (point 6.4.4) dans la cuve, et chromatographier dans la première direction d'élution (figure 1) à l'obscurité. Chromatographier jusqu'à ce que le front du solvant ait parcouru au moins 13 cm.
- 6.4.6. Sortir la plaque de la cuve et la placer dans la cuve (point 4.1) purgée à l'azote pour évaporer les restes de solvant (pendant au moins 60 mn).
- 6.4.7. Introduire avec une éprouvette graduée une quantité appropriée du solvant (point 6.2.1) dans une cuve purgée à l'azote, placer la plaque tournée de 90° par rapport à la première direction d'élution (point 6.4.6) dans la cuve et chromatographier dans la deuxième direction dans l'obscurité jusqu'à ce que le front du solvant ait atteint la ligne tracée sur la couche adsorbante. Oter la plaque de la cuve et évaporer le solvant à l'air.
- 6.4.8. Exposer la plaque pendant 10 mn dans la cuve à chromatographier aux vapeurs d'iode (point 6.3) et interpréter le chromatogramme bidimensionnel à l'aide des références chromatographiées en même temps (tableau II).

Remarque

Pour obtenir une coloration maximale des taches, laisser le chromatogramme à l'air pendant une demi-heure après la révélation.

- 6.4.9. La présence des colorants d'oxydation trouvés au point 6.4.8 peut être confirmée de façon indubitable en recommençant les manipulations décrites aux points 6.4.1 à 6.4.8 inclus, en veillant à ajouter sur le point de départ 1, en plus de la quantité d'extrait prescrite au point 6.4.2, 1 µl des substances de référence identifiées au point 6.4.8.

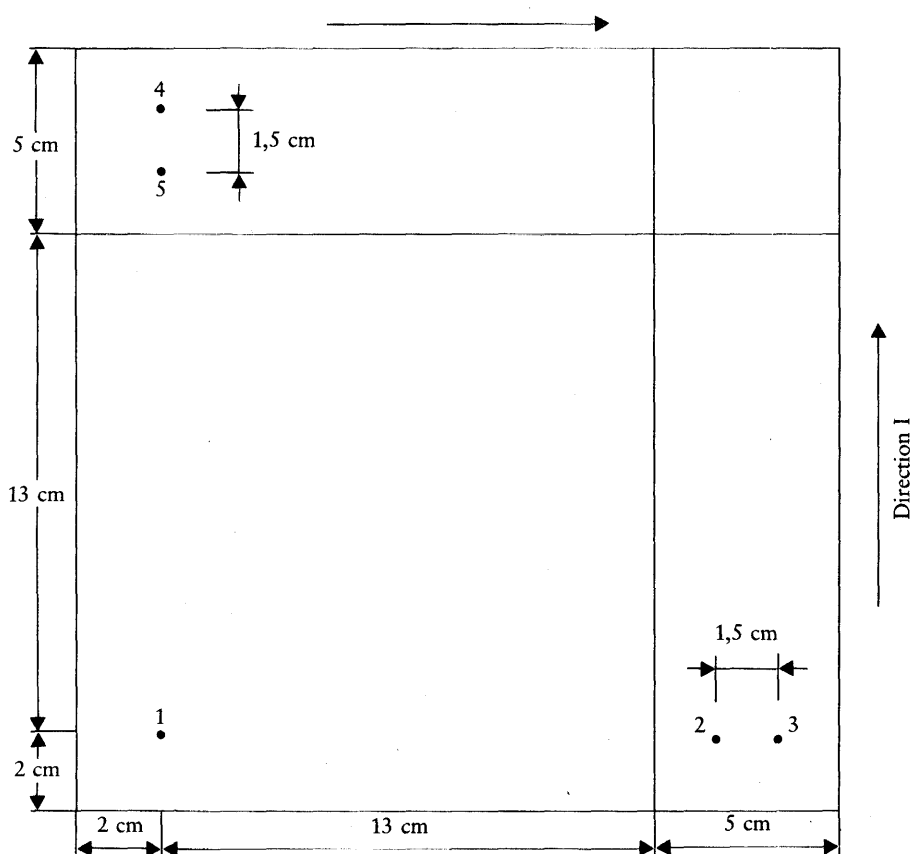
Si aucune autre tache n'est trouvée, l'interprétation du chromatogramme primitif est exacte.

TABLEAU II

Couleur des substances de référence après chromatographie et révélation aux vapeurs d'iode

Substances de référence	Couleur après révélation aux vapeurs d'iode
R	Beige
P	Brun
α -N	Violet
β -N	Brun clair
H	Violet brun
MPD	Jaune brun
PPD	Violet brun
MTD	Brun foncé
PTD	Jaune brun
DAP	Brun foncé
AOP	Orange
MAP	Jaune brun
PAP	Violet brun
2-NPPD	Brun
4-NOPD	Orange

Figure 1
Direction II



III. IDENTIFICATION ET DOSAGE DES NITRITES

A. IDENTIFICATION

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode convient à l'identification des nitrites dans les produits cosmétiques.

Elle est applicable en particulier aux crèmes, aux produits pâteux et aux dentifrices.

2. PRINCIPE

La caractérisation des nitrites se fait à l'aide de la 2-aminobenzaldéhyde phényl-hydrazone.

3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Acide sulfurique dilué : diluer 2 ml d'acide sulfurique concentré ($d_4^{20} = 1,84$) dans 11 ml d'eau distillée.

3.2. Acide chlorhydrique dilué : diluer 1 ml d'acide chlorhydrique concentré ($d_4^{20} = 1,19$) dans 11 ml d'eau distillée.

3.3. Méthanol

3.4. Solution de 2-aminobenzaldéhyde phényl hydrazone (réactif nitrine R) dans du méthanol.

Peser 2 g de Nitrine R et les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Ajouter goutte à goutte 4 ml d'acide chlorhydrique dilué (point 3.2) et agiter. Compléter avec du méthanol et mélanger jusqu'à ce que la solution soit tout à fait limpide. Conserver la solution dans un flacon de verre brun (point 4.3).

4. APPAREILLAGE

4.1. Bêchers de 50 ml

4.2. Fiole jaugée de 100 ml

4.3. Flacon de verre brun de 125 ml

4.4. Plaquette en verre de 10×10 cm

4.5. Spatule en matière synthétique

4.6. Papier filtre de 10×10 cm

5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Étendre uniformément une partie de l'échantillon à examiner sur la plaque de verre (point 4.4). Veiller à ce que l'épaisseur de la couche n'excède pas 1 cm.

5.2. Tremper une feuille de papier filtre (point 4.6) dans de l'eau distillée et la déposer sur l'échantillon en l'appliquant convenablement à l'aide de la spatule (point 4.5).

5.3. Attendre environ 1 mn et verser au centre du papier filtre :

— 2 gouttes d'acide sulfurique dilué (point 3.1)

puis

— 2 gouttes de la solution de nitrine (point 3.4)

5.4. Après 5 à 10 s, enlever le papier filtre et l'examiner à la lumière du jour. Une coloration rouge violet indique la présence de nitrites.

Lorsque la teneur en nitrites est peu élevée, la coloration violette vire au jaune en 5 à 15 s. Ce virage n'intervient qu'après une à deux minutes en présence de quantités plus importantes de nitrites.

6. REMARQUE

L'intensité de la coloration violette ainsi que la durée du virage au jaune peut donner une indication de la teneur en nitrite de l'échantillon.

B. DOSAGE

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode indiquée ci-après est adaptée au dosage des nitrites dans les produits cosmétiques.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en nitrite, déterminée selon cette méthode, est exprimée en pourcentage de la masse de nitrite de sodium.

3. PRINCIPE

Après dilution et clarification de l'échantillon, on réalise une réaction colorimétrique avec le N(α -naphthyl — éthylène diamine) et l'intensité de la coloration obtenue est mesurée à 538 nm.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Réactifs de clarification (ces réactifs ne peuvent pas être utilisés plus d'une semaine après leur préparation).

4.1.1. Réactif I (Carrez I) : dissoudre 106 g de ferrocyanure de potassium $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ dans de l'eau distillée et compléter à 1 000 ml.

4.1.2. Réactif II (Carrez II) : dissoudre 219,5 g d'acétate de zinc $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$ et 30 ml d'acide acétique glacial dans de l'eau distillée et compléter à 1 000 ml.

4.2. Solution de nitrite de sodium : dans une fiole jaugée de 1 000 ml, dissoudre 0,500 g de nitrite de sodium dans de l'eau distillée et compléter au trait de jauge. Diluer 10,0 ml de cette solution mère jusqu'à 500 ml. 1 ml de cette dernière solution = 10 μg de $NaNO_2$.

4.3. Solution d'hydroxyde de sodium normale.

4.4. Solution à 0,2 % de chlorhydrate de sulfanilamide : dissoudre 2 g de sulfanilamide dans 800 ml d'eau en chauffant. Refroidir et ajouter 100 ml d'HCl concentré en agitant. Compléter à 1 000 ml.

4.5. Acide chlorhydrique 5 N.

4.6. Réactif au N — (α -naphthyl) : cette solution sera préparée le jour même de son utilisation. Dissoudre 0,1 g de dichlorhydrate de N — (α -naphthyl éthylène-diamine) dans de l'eau et compléter à 100 ml.

5. APPAREILLAGE

5.1. Balance analytique

5.2. Fioles jaugées de 100, 250, 500 et 1 000 ml

5.3. Pipettes jaugées

- 5.4. Éprouvettes de 100 ml
- 5.5. Filtre plissé exempt de nitrite, de 15 cm de diamètre
- 5.6. Bain-marie
- 5.7. Spectrophotomètre avec cuves de 1 cm de trajet optique
- 5.8. pH mètre
- 5.9. Microburette de 10 ml
- 5.10. Bécher de 50 ml

6. MODE OPÉRATOIRE

- 6.1. Peser avec une précision de 0,1 mg environ 0,5 g (m) de l'échantillon homogénéisé et les introduire dans un bécher de 250 ml. Diluer jusqu'à un volume d'environ 150 ml avec de l'eau distillée chaude. Placer le bécher pendant une demi-heure dans un bain-marie à 80 °C en agitant de temps en temps.
- 6.2. Refroidir à la température ambiante et ajouter successivement en agitant, 2 ml du réactif de Carrez I (point 4.1.1) et 2 ml du réactif de Carrez II (point 4.1.2).
- 6.3. Ajuster le pH à 8,3 au pH mètre, avec une solution N d'hydroxyde de sodium. Transvaser quantitativement dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait avec de l'eau distillée.
- 6.4. Mélanger et filtrer sur filtre plissé (point 5.5).
- 6.5. Pipeter une quantité convenable (V ml) du filtrat clair ne dépassant pas 25 ml, dans une fiole jaugée de 100 ml ; diluer avec de l'eau distillée jusqu'à 60 ml.
- 6.6. Mélanger, ajouter 10,0 ml de chlorhydrate de sulfanilamide (point 4.4) puis 6,0 ml d'acide chlorhydrique 5 N (point 4.5). Mélanger et laisser reposer pendant 5 mn. Ajouter 2,0 ml du réactif N — (α -naphtyl) (point 4.6) mélanger et laisser reposer pendant 3 mn. Compléter à 100 ml et mélanger.
- 6.7. Préparer un essai à blanc en répétant les opérations effectuées aux points 6.5 et 6.6 sans addition du réactif N (α -naphtyl) (point 4.6).
- 6.8. Mesurer (point 5.7) la densité optique à 538 nm de la solution échantillon (point 6.6) par rapport à l'essai à blanc (point 6.7).
- 6.9. Lire sur la courbe d'étalonnage (point 6.10) la teneur en nitrite de sodium en μg par 100 ml de solution (m_1) correspondant à la densité optique trouvée pour l'échantillon (point 6.8).
- 6.10. Courbe d'étalonnage. Préparer à l'aide de la solution de nitrite de sodium (point 4.2) une courbe d'étalonnage dans la gamme de 0 — 20 — 40 — 60 — 80 — 100 μg de nitrite de sodium par 100 ml.

7. CALCUL

Calculer la teneur en nitrite de sodium de l'échantillon en pourcentage de la masse à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{NaNO}_2 = \frac{250}{V} \times m_1 \times 10^{-6} \times \frac{100}{m} = \frac{m_1}{V \times m \times 40}$$

où :

m = la masse en g de l'échantillon soumis à l'analyse (point 6.1),

m₁ = la teneur en nitrite de sodium en microgrammes trouvée conformément aux indications du point 6.9,

V = le nombre de ml de filtrat utilisés pour la mesure (point 6.5).

8. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en nitrite de sodium de 0,2 %, la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,005 %.

IV. IDENTIFICATION ET DOSAGE DU FORMALDÉHYDE LIBRE

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode décrit l'identification et le dosage du formaldéhyde libre.

Elle est applicable à tous produits cosmétiques et comporte trois parties :

1.1. identification,

1.2. dosage par colorimétrie à l'acétylacétone :

cette méthode ne s'applique pas lorsque le formaldéhyde est combiné, ou polymérisé dans le cas des donneurs de formol.

Si le résultat dépasse la concentration maximale autorisée dans le produit fini, on utilise la méthode suivante,

1.3. dosage au bisulfite :

il évite la prise en compte du formaldéhyde combiné ou polymérisé dans le cas des donneurs de formol.

Cependant certaines combinaisons labiles (l'hexaméthylène tétramine par exemple) sont dosées. De plus, en présence de solution tampon, la mesure d'alcalinité est délicate.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en formaldéhyde libre déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de la masse de formaldéhyde.

3. PRINCIPE

3.1. Partie I

Le formaldéhyde en milieu sulfurique donne une coloration rose ou mauve en présence du réactif de Schiff.

3.2. Partie II

Le formaldéhyde réagit avec l'acétylacétone en présence d'acétate d'ammonium pour former le 3-5 diacétyl-1-4-dihydrolutidine. Celui ci est extrait avec le butanol-I. La densité optique de l'extrait est mesurée à 410 nm.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

3.3. Partie III

Le formaldéhyde réagit avec le sulfite en milieu acide à 0 °C pour former un composé d'addition. Les protons en excès sont titrés par l'hydroxyde de sodium. Les protons consommés constituent la base de calcul pour déterminer la quantité de formaldéhyde. Un essai à blanc sans sulfite permet de mesurer l'alcalinité ou l'acidité du milieu.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Acide acétique concentré

4.2. Acétate d'ammonium anhydre

4.3. Butanol-I

4.4. Acide sulfurique environ 2 N

4.5. Solution de sulfite de sodium 0,1 M fraîchement préparée

4.6. Réactif de Schiff

Dans un bécher, peser 100 mg de fuchsine ; les dissoudre dans 75 ml d'eau à 80 °C.

Après refroidissement, ajouter 2,5 g de sulfite de sodium hydraté à 7 H₂O et 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré ($d_4^{20}=1,19$). Compléter à 100 ml (durée de conservation 2 semaines).

4.7. Réactif à l'acétylacétone

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, dissoudre :

150 g d'acétate d'ammonium,

2 ml d'acétylacétone fraîchement distillé sous pression réduite et ne devant présenter aucune absorption à 410 nm,

3 ml d'acide acétique concentré.

Compléter à 1 000 ml avec de l'eau (pH de la solution environ 6,4). Ce réactif doit être fraîchement préparé.

4.8. Solution titrée d'acide sulfurique 0,1 N

4.9. Solution titrée d'hydroxyde de sodium 0,1 N

4.10. Solution titrée d'iode 0,1 N

4.11. Solution titrée de thiosulfate de sodium 0,1 N

4.12. Formaldéhyde étalon : solution mère

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, introduire 5 g de formaldéhyde titrant 37 à 40 % et compléter à 1 000 ml.

Détermination du titre de la solution mère.

Prélever 10,00 ml, ajouter 25,00 ml de solution titrée d'iode 0,1 N et 10 ml de solution d'hydroxyde de sodium N.

Laisser reposer 5 mn.

Acidifier par 11 ml d'HCl N et doser l'iode en excès par une solution titrée de thiosulfate de sodium 0,1 N en présence d'empois d'amidon comme indicateur.

1 ml de solution d'iode 0,1 N consommée correspond à 1,5 mg de formaldéhyde.

4.13. Formaldéhyde étalon : solution diluée

Réaliser successivement une dilution du 1/20 puis une dilution au 1/100 de la solution mère dans l'eau déminéralisée.

1 ml de cette solution contient environ 1 µg de formaldéhyde. Calculer sa teneur exacte.

4.14. Solution de thymolphtaléine

0,1 g par 100 ml d'éthanol à 50 % v/v.

4.15. Réactif (point 4.7) sans acétylacétone

5. APPAREILLAGE

5.1. Matériel courant de laboratoire

5.2. Filtre « séparateur de phase » réf. Whatman 1 PS (ou équivalent)

5.3. Centrifugeuse

- 5.4. Spectrophotomètre
- 5.5. Cuves de verre de 1 cm de parcours optique
- 5.6. Potentiographe
- 5.7. Electrodes verre/calomel (il est recommandé d'utiliser des électrodes spéciales basse température).

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Identification

- 6.1.1. Dans un bécher de 10 ml introduire environ 2 g d'échantillon.
- 6.1.2. Ajouter 2 gouttes de H_2SO_4 2 N (point 4.4) et 2 ml de réactif de Schiff (point 4.6) (Ce réactif doit être rigoureusement incolore au moment de l'emploi.)
Agiter, laisser en contact 5 mn.
- 6.1.3. Si dans les 5 mn une coloration rose ou mauve est observée, la quantité de formaldéhyde présente est supérieure à 0,01 %. Procéder alors au dosage selon le mode opératoire du point 6.2 et si nécessaire du point 6.3.

6.2. Dosage colorimétrique à l'acétylacétone

6.2.1. Solution échantillon

- 6.2.1.1. Dans une fiole jaugée de 100 ml peser à 0,001 g près une masse d'échantillon pour essai (en g) correspondant à une quantité présumée de formaldéhyde d'environ 150 μg .
- 6.2.1.2. Compléter à 100 ml avec de l'eau et mélanger (solution S).
- 6.2.1.3. Dans une fiole conique de 50 ml ajouter :
10,00 ml de solution S,
5,00 ml de réactif à l'acétylacétone (point 4.7),
de l'eau déminéralisée pour obtenir un volume de 30 ml.

6.2.2. Solution témoin

L'interférence éventuelle d'une coloration de fond dans l'échantillon pour essai est éliminée de la manière suivante :

Dans une fiole conique de 50 ml ajouter :
10,0 ml de solution S,
5,0 ml du réactif (point 4.15),
de l'eau déminéralisée pour obtenir un volume de 30 ml.

6.2.3. Essai à blanc

Dans une fiole conique de 50 ml ajouter :
5,0 ml de réactif à l'acétylacétone (point 4.7),
de l'eau déminéralisée pour obtenir un volume de 30 ml.

6.2.4. Dosage

- 6.2.4.1. Agiter les mélanges préparés aux points 6.2.1.3, 6.2.2 et 6.2.3. Immerger les fioles coniques dans un bain-marie à 60 °C pendant exactement 10 mn.
Refroidir pendant 2 mn dans un bain d'eau glacée.

- 6.2.4.2. Transvaser dans une ampoule à décanter de 50 ml contenant 10 ml de butanol-I (point 4.3). Rincer avec 3 à 5 ml d'eau.
Agiter fortement le mélange pendant 30 s exactement. Laisser décanter.
- 6.2.4.3. Filtrer sur filtre « séparateur de phase » (point 5.2) dans les cuves de mesure.
Une centrifugation (5 000 tours/mn pendant 5 mn) est également utilisable.
- 6.2.4.4. Mesurer la densité optique A_1 à 410 nm de l'extrait de la solution échantillon obtenue au point 6.2.1.3 contre l'extrait de la solution témoin du point 6.2.2.
- 6.2.4.5. De la même façon mesurer l'extrait de l'essai à blanc obtenu au point 6.2.3 contre du butanol-I (A_2).
NB: Toutes ces opérations doivent être exécutées dans un délai de 25 mn à partir du moment où la fiole conique est placée dans le bain-marie à 60 °C.
- 6.2.5. *Courbe d'étalonnage*
- 6.2.5.1. Dans une fiole conique de 50 ml introduire :
5,00 ml de solution étalon diluée (point 4.13),
5,00 ml de réactif à l'acétylacétone (point 4.7),
de l'eau déminéralisée pour obtenir un volume final de 30 ml.
- 6.2.5.2. Continuer selon les indications du point 6.2.4.5 et mesurer la densité optique par rapport au butanol-I (point 4.3).
- 6.2.5.3. Répéter le processus avec 10, 15, 20, 25 ml de solution étalon diluée (point 4.13).
- 6.2.5.4. Pour obtenir la valeur du point 0 (correspondant à la coloration des réactifs) procéder comme au point 6.2.4.5.
- 6.2.5.5. Construire la courbe d'étalonnage après soustraction de la valeur du point 0 de chacune des densités optiques obtenues aux points en 6.2.5.1 et 6.2.5.3.
La loi de Beer est respectée jusqu'à 30 µg de formaldéhyde.
- 6.3. **Dosage au bisulfite**
- 6.3.1. *Prise d'essai*
- 6.3.1.1. Pour l'essai :
dans un bécher taré peser à 0,001 g près, une masse d'échantillon (m gramme) correspondant à une quantité présumée de formaldéhyde comprise entre 3 et 20 mg.
- 6.3.1.2. Pour l'essai témoin :
dans un bécher taré peser à 0,001 g près, une quantité équivalente d'échantillon (m' gramme).
- 6.3.2. *Dosage*
- 6.3.2.1. Placer 50,00 ml de Na_2SO_3 0,1 M (point 4.5) dans un bécher de 100 ml et ajouter 10,00 ml de H_2SO_4 0,1 N (point 4.8). Agiter.
- 6.3.2.2. Immerger le bécher dans un mélange de glace et sel afin de porter la température de la solution du point 6.3.2.1 à + 2 °C. Introduire quantitativement la prise d'essai m (point 6.3.1.1).
- 6.3.2.3. Titrer rapidement par potentiométrie avec NaOH 0,1 N (point 4.9) en agitant continuellement et en maintenant la température entre + 2 et + 4 °C (la zone de neutralisation se situe entre les pH 9 et 11).
Soit V_1 le volume de NaOH 0,1 N (point 4.9) utilisé.

6.3.3. *Essai à blanc*

Titre la solution du point 6.3.2.1 dans les conditions décrites au point 6.3.2. Soit V_2 le volume de NaOH 0,1 N (point 4.9) utilisé.

6.3.4. *Essai témoin*

Déterminer l'acidité ou l'alcalinité de l'échantillon par titrage potentiométrique avec NaOH 0,1 N (point 4.9) ou H_2SO_4 0,1 N (point 4.8) sur la prise d'essai m' (point 6.3.1.2). Soit v' le volume de NaOH 0,1 N ou de H_2SO_4 0,1 N utilisé. v' peut être égal à 0.

6.3.5. NB

Il est important de respecter strictement les conditions opératoires.
Il est possible d'effectuer le dosage en présence de thymolphaléine (point 4.14) comme indicateur.

7. CALCULS

7.1. Dosage colorimétrique à l'acétylacétone

7.1.1. Soustraire A_2 de A_1 et lire sur la courbe d'étalonnage (point 6.2.5.5) la quantité C exprimée en microgrammes de formaldéhyde contenue dans la solution du point 6.2.1.1.

7.1.2. La teneur en formaldéhyde de l'échantillon (% m/m) est calculée selon la formule :

$$\text{formaldéhyde \%} = \frac{C}{10^3 \times m}$$

7.2. Dosage au bisulfite

Rapporter à la masse m le volume de NaOH 0,1 N et de H_2SO_4 0,1 N utilisé dans l'essai témoin (point 6.3.4) selon la formule :

$$v = \frac{v' \times m}{m'}$$

Pour des produits neutres $V = 0$.

7.2.1. Cas d'un produit acide:

$$\% \text{ HCHO} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 + v)}{m}$$

7.2.2. Cas d'un produit alcalin :

$$\% \text{ HCHO} = \frac{0,30 (V_2 - V_1 - v)}{m}$$

7.3. S'il y a divergence entre les résultats des 2 méthodes, seul le résultat le plus faible doit être pris en considération.

8. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en formaldéhyde de 0,2 %, la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser : 0,005 % pour le dosage colorimétrique à l'acétylacétone et 0,05 % pour le dosage au bisulfite.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

V. DOSAGE DE LA RÉSORCINE DANS LES SHAMPOOINGS ET LES LOTIONS CAPILLAIRES

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage de la résorcine dans les shampoings et lotions capillaires par chromatographie en phase gazeuse.

Elle s'applique à des concentrations de 0,1 à 2,0 % de la masse du produit.

2. DÉFINITION

La teneur en résorcine déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de la masse de résorcinol.

3. PRINCIPE

La résorcine et le 3,5-dihydroxytoluène utilisé comme étalon interne, sont isolés de l'échantillon par chromatographie sur couche mince. On isole les deux composés par prélèvement du support et extraction avec du méthanol. Les résidus sont ensuite séchés, silylés et dosés par chromatographie en phase gazeuse.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique :

4.1. Acide chlorhydrique à 25 % (m/m)

4.2. Méthanol

4.3. Éthanol à 96 % (v/v)

4.4. Plaques de silice sur support plastique ou aluminium, avec indicateur fluorescent prêtes à l'emploi et désactivées.

Préparer comme suit : vaporiser d'eau les plaques de silice jusqu'à ce qu'elles deviennent brillantes. Les sécher à température ambiante pendant 1 à 3 heures.

NB : Si les plaques ne sont pas désactivées, il peut y avoir des pertes de résorcine par adsorption irréversible sur la silice.

4.5. Solvant de développement : acétone — chloroforme — acide acétique (20 — 75 — 5 v).

4.6. Solution étalon de résorcine ; dissoudre 400 mg de résorcine dans 100 ml d'éthanol à 96 % (1 ml correspond à 4 000 µg de résorciné).

4.7. Solution étalon interne ; dissoudre 400 mg de 3,5-dihydroxytoluène (DHT) dans 100 ml d'éthanol à 96 % (1 ml correspond à 4 000 µg de DHT).

4.8. Mélange étalon : mélanger 10 ml de solution du point 4.6 et 10 ml de solution du point 4.7 dans une fiole jaugée de 100 ml, compléter au volume avec de l'éthanol à 96 % et mélanger (1 ml correspond à 400 µg de résorcine et 400 µg de DHT).

4.9. Réactifs de silylation :

4.9.1. N, O-bis-(triméthylsilyl) trifluoroacétamide (BSTFA)

4.9.2. Hexaméthylidisilazane (HMDS)

4.9.3. Triméthylchlorosilane (TMCS)

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Équipement courant de chromatographie sur couche mince et en phase gazeuse
- 5.2. Verrerie de laboratoire

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Préparation de l'échantillon

- 6.1.1. Peser avec précision dans un bécher de 150 ml une prise d'essai du produit (m grammes) contenant environ 20 à 50 mg de résorcine.
- 6.1.2. Acidifier avec de l'acide chlorhydrique (point 4.1) (environ 2 à 4 ml). Ajouter 10 ml (40 mg de DHT) de solution interne (point 4.7) et mélanger. Transvaser dans une fiole jaugée de 100 ml à l'aide d'éthanol. Compléter au volume avec de l'éthanol (point 4.3) et mélanger.
- 6.1.3. Déposer 250 µl de la solution du point 6.1.2 sur une plaque se silice désactivée (point 4.4) sur une ligne continue d'environ 8 cm de long. Prendre soin d'obtenir une bande aussi mince que possible.
- 6.1.4. Déposer de la même manière (point 6.1.3), sur la même plaque, 250 µl de mélange étalon (point 4.8).
- 6.1.5. Sur la ligne de départ, déposer 2 spots de 5 µl de chaque solution des points 4.6 et 4.7 pour faciliter la localisation après le développement de la plaque.
- 6.1.6. Dans une cuve non saturée, développer la plaque avec le solvant de développement (point 4.5) jusqu'à ce qu'il ait parcouru 12 cm depuis la ligne de départ (45 mn). Sécher la plaque à l'air et localiser la zone résorcine/DHT sous lumière UV à 254 nm. Les deux composés ont environ la même valeur de R_f.
Prélever les bandes ainsi repérées et rassembler l'adsorbant de chacune d'elle dans une fiole de 10 ml.
- 6.1.7. Extraire l'adsorbant contenant l'échantillon et celui contenant le mélange étalon de la manière suivante :
Ajouter 2 ml de méthanol (point 4.2) et extraire pendant 1 heure en agitant de façon continue. Filtrer le mélange et répéter l'extraction pendant 15 mn avec 2 ml de méthanol (point 4.2).
- 6.1.8. Évaporer le solvant de la totalité des extraits en les plaçant une nuit dans un dessiccateur sous vide rempli d'un desséchant approprié. Ne pas évaporer à chaud.
- 6.1.9. Silyler les résidus (point 6.1.8) comme indiqué soit en 6.1.9.1 soit au point 6.1.9.2.
- 6.1.9.1. Ajouter 200 µl de BSTFA (point 4.9.1) et laisser le mélange dans un récipient bouché à température ambiante, pendant 12 h.
- 6.1.9.2. Ajouter successivement 200 µl de HMDS (point 4.9.2) et 100 µl de TMCS (point 4.9.3) et chauffer le mélange pendant 30 mn à 60 °C dans un récipient bouché. Refroidir.

6.2. Chromatographie en phase gazeuse

6.2.1. Conditions opératoires

La phase stationnaire doit donner un degré de résolution égal ou supérieur à 1,5.

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

où

R₁ et R₂ = temps de rétention exprimé en mn de 2 pics,

W₁ et W₂ = largeur des mêmes pics à mi-hauteur,

d' = vitesse de déroulement du papier en mm/mn.

Les conditions opératoires suivantes permettent d'obtenir ce résultat :

colonne : acier inoxydable,
longueur : 200 cm,
diamètre : ~ 3 (1/8")
remplissage : 10 % OV 17 sur chromosorb WAW 100—120 mesh.

détecteur ionisation de flamme

températures :

colonne : 185 °C (isotherme)

injecteur : 250 °C

détecteur : 250 °C

gaz vecteur : azote,

débit 45 : ml/mn.

Pour le réglage du débit d'hydrogène et d'air suivre les instructions du fabricant.

- 6.2.2. Injecter 1 à 3 µl des solutions obtenues au point 6.1.9. Faire 5 injections pour chaque solution. Mesurer la surface des pics de façon précise et calculer le rapport des surfaces :
S = surface du pic de résorcine/surface du pic du DHT.

7. CALCUL

La concentration en résorcine de l'échantillon exprimée en pourcentage de masse (% m/m) est donnée par :

$$\% \text{ résorcine} = \frac{4}{M} \times \frac{S \text{ échantillon}}{S \text{ mélange étalon}}$$

où :

M = prise d'essai en grammes (point 6.1.1),

S échantillon = rapport moyen obtenu pour les pics de la solution échantillon,

S mélange étalon = rapport moyen obtenu pour les pics du mélange étalon d'après le point 6.2.2.

8. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en résorcine de 0,5 % la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,025 %.

VI. DOSAGE DU MÉTHANOL PAR RAPPORT À L'ÉTHANOL OU AU PROPANOL-2

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage du méthanol par chromatographie en phase gazeuse dans tous les types de produits cosmétiques (y compris aérosols). Elle s'applique à des concentrations relatives de 0 à 10 %.

2. DÉFINITION

La teneur en méthanol déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse de méthanol par rapport à la masse d'éthanol ou de propanol-2.

3. PRINCIPE

Le dosage est effectué par chromatographie en phase gazeuse.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique

4.1. Méthanol

4.2. Éthanol absolu

4.3. Propanol-2

4.4. Chloroforme, rincé à l'eau pour éliminer les alcools

5. APPAREILLAGE

5.1. Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur catharométrique (pour les échantillons de produits en aérosols).

Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme (pour les échantillons d'autres produits).

5.2. Fioles jaugées de 100 ml

5.3. Pipettes jaugées (2 ml, 20 ml, 0-1 ml)

5.4. Microseringues de 0 à 100 µl et 0 à 5 µl

Pour les échantillons de produits en aérosols seulement, seringue à gaz spéciale avec vanne coulissante (figure 5 de la méthode d'échantillonnage) ⁽¹⁾.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Préparation des échantillons

6.1.1. Les produits en aérosols sont traités comme indiqué au chapitre II de l'annexe de la directive de la Commission 80/1335/CEE du 22 décembre 1980 ⁽¹⁾ puis analysés par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions prescrites au point 6.2.1.

6.1.2. Les autres produits traités comme indiqués au chapitre II précité sont dilués dans l'eau jusqu'à une concentration de 1 à 2 % d'éthanol ou de propanol-2, puis analysés par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions prescrites au point 6.2.2.

6.2. Conditions de la chromatographie en phase gazeuse

6.2.1. Pour les échantillons de produits en aérosols

6.2.1.1. On utilisera une colonne remplie avec 10 % d'Hallcomid M 18 sur chromosorb W AW 100—120 mesh et un détecteur catharométrique

6.2.1.2. La phase stationnaire doit donner un degré de résolution égal ou supérieur à 1,5 :

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

où :

R_1 et R_2 = temps de rétention exprimé en mn de 2 pics,

W_1 et W_2 = largeur des mêmes pics à mi-hauteur,

d' = vitesse de déroulement du papier en mm/mn.

6.2.1.3. Les conditions suivantes permettent d'obtenir ces résultats :

Type de la colonne : acier inoxydable

longueur : 3,5 m

diamètre : 3 mm

Courant du détecteur catharométrique : 150 mA

⁽¹⁾ JO n° L 383 du 31. 12. 1980, p. 27.

Gaz vecteur : Hélium — pression : 2,5 bar débit : 45 ml/mn.

Températures

Injecteur : 150 °C

Détecteur : 150 °C

Colonne : 65 °C

6.2.2. Pour les échantillons d'autres produits :

6.2.2.1. On utilisera une colonne remplie de chromosorb 105 ou de porapak QS et un détecteur à ionisation de flamme.

6.2.2.2. La phase stationnaire doit donner un degré de résolution égal ou supérieur à 1,5 :

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

où

R_1 et R_2 = temps de rétention exprimé en mn de 2 pics,

W_1 et W_2 = largeur des mêmes pics à mi-hauteur,

d' = vitesse de déroulement du papier en mm/mn.

6.2.2.3. Les conditions suivantes permettent d'obtenir ces résultats

Type de la colonne : acier inoxydable
longueur : 2 m
diamètre : 3 mm
électromètre : sensibilité de $8 \cdot 10^{-10}$ A
gaz vecteur : azote — pression : 2,1 bars débit : 40 ml/mn
auxiliaire : hydrogène — pression : 1,5 bar débit : 20 ml/mn
Températures :
injecteur : 150 °C
détecteur : 230 °C
colonne : 120 °C ou 130 °C

7. COURBES ÉTALONS

7.1. Dans les conditions prescrites au point 6.2.1 (colonne Hallcomid M 18), utiliser les mélanges étalons définis ci-après. Préparer ces mélanges par mesure volumétrique, mais déterminer la quantité exacte délivrée en pesant immédiatement après chaque addition.

Concentration relative % m/m	méthanol ml	Éthanol ml (ou propanol-2)	Chloroforme jusqu'à un volume de
2,5 % environ	0,5	20	100 ml
5,0 % environ	1,0	20	100 ml
7,5 % environ	1,5	20	100 ml
10,0 % environ	2,0	20	100 ml

Injecter 2 à 3 µl dans le chromatographe selon les modalités prescrites au point 6.2.1.

Calculer le rapport des surfaces des pics (méthanol/éthanol) ou (méthanol/propanol-2) de chaque mélange. Tracer la courbe étalon en utilisant :

comme axe des X : le pourcentage de méthanol par rapport à l'éthanol ou au propanol-2,

comme axe des Y : le rapport des surfaces des pics (méthanol/éthanol) ou (méthanol/propanol-2).

- 7.2. Dans les conditions prescrites au point 6.2.2 (Porapak QS ou Chromosorb 105) utiliser les mélanges étalons définis ci-après. Préparer ces mélanges par mesure volumétrique, mais déterminer la quantité exacte délivrée en pesant immédiatement après chaque addition.

Concentration relative % m/m	Méthanol μl	Éthanol ml (ou propanol-2)	Eau jusqu'à un volume de
2,5 % environ	50	2	100 ml
5,0 % environ	100	2	100 ml
7,5 % environ	150	2	100 ml
10,0 % environ	200	2	100 ml

Injecter 2 à 3 μl dans le chromatographe selon les modalités prescrites au point 6.2.2.

Calculer le rapport des surfaces des pics (méthanol/éthanol) ou (méthanol/propanol-2) de chaque mélange. Tracer la courbe étalon en utilisant :

comme axe des X : le pourcentage de méthanol par rapport à l'éthanol ou au propanol-2,

comme axe des Y : le rapport des surfaces des pics (méthanol/éthanol) ou (méthanol/propanol-2).

- 7.3. Dans les 2 cas la courbe d'étalonnage doit être une droite.

8. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour des teneurs en méthanol de 5 % par rapport à l'éthanol ou au propanol-2, la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,25 %.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.