

COMMISSION

TROISIÈME DIRECTIVE DE LA COMMISSION

du 27 septembre 1983

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

(83/514/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 en dernier lieu par la directive 83/341/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 deux étapes pour atteindre ce but ayant été réalisées par la fixation de certaines méthodes dans les directives 80/1335/CEE⁽³⁾ et 82/434/CEE⁽⁴⁾ de la Commission, la fixation des méthodes de dosage du dichlorométhane et du 1,1,1-trichloroéthane, d'identification et de dosage de l'hydroxy-8-quinoléine et de son sulfate, de dosage de l'ammoniaque, d'identification et de dosage du nitrométhane, d'identification et de dosage de l'acide thyoglycolique dans les produits pour le frisage ou le défrisage des cheveux et les dépilatoires, d'identification et de dosage de l'hexachlorophène, de dosage de la tosylchloramide sodique, de dosage des composés fluorés dans les pâtes dentifrices, d'identification et de dosage des composés organomercurels, de dosage des sulfures

alcalins et alcalinoterreux constituent une troisième 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 :

- le dosage du dichlorométhane et du 1,1,1-trichloroéthane,
- l'identification et le dosage de l'hydroxy-8-quinoléine et de son sulfate,
- le dosage de l'ammoniaque,
- l'identification et le dosage du nitrométhane,
- l'identification et le dosage de l'acide thyoglycolique dans les produits pour le frisage ou le défrisage des cheveux et les dépilatoires,
- l'identification et le dosage de l'hexachlorophène,
- le dosage de la tosylchloramide sodique,
- le dosage des composés fluorés dans les pâtes dentifrices,
- l'identification et le dosage des composés organomercurels,

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

(2) JO n° L 188 du 13. 7. 1983, p. 15.

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

(4) JO n° L 185 du 30. 6. 1982, p. 1.

— le dosage des sulfures alcalins et alcalinotereux,

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 1984.

Ils en informent immédiatement la Commission.

Article 3

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 27 septembre 1983.

Par la Commission
Frans ANDRIESEN
Membre de la Commission

ANNEXE

DOSAGE DU DICHLOROMÉTHANE ET DU 1,1,1-TRICHLOROÉTHANE**1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**

Cette méthode décrit le dosage du dichlorométhane (chlorure de méthylène) et du 1,1,1-trichloroéthane (méthylchloroforme).

Elle s'applique à l'ensemble des produits cosmétiques susceptibles de contenir ces composés.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en dichlorométhane et en 1,1,1-trichloroéthane déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse.

3. PRINCIPE

Le dosage fait appel à une chromatographie en phase gazeuse en utilisant le trichlorométhane (chloroforme) comme étalon interne.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Trichlorométhane (CHCl_3).

4.2. Tétrachlorure de carbone (CCl_4).

4.3. Dichlorométhane (CH_2Cl_2).

4.4. 1,1,1-trichloroéthane (CH_3CCl_3).

4.5. Acétone.

4.6. Azote.

5. APPAREILLAGE

5.1. Matériel courant de laboratoire et de chromatographie en phase gazeuse.

5.2. Chromatographe muni d'un détecteur catharométrique.

5.3. Flacon de transfert de 50-100 ml; voir l'échantillonnage 5.3 (1).

5.4. Seringue à gaz sous pression (voir méthode d'échantillonnage 5.4.2.2) (1).

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. Échantillon non pressurisé : peser exactement l'échantillon dans une fiole conique bouchée. Introduire une quantité exactement pesée de CHCl_3 (4.1) équivalente à la quantité présumée de CH_2Cl_2 et CH_3CCl_3 contenue dans l'échantillon. Homogénéiser.

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

- 6.2. Échantillon pressurisé : utiliser la méthode de prélèvement décrite dans le chapitre « échantillonnage ». Apporter cependant les précisions suivantes.
- 6.2.1. Introduire dans le flacon transfert une quantité d'étalon interne (4.1) équivalente à la quantité présumée de CH_2Cl_2 et/ou CH_3CCl_3 contenue dans l'échantillon. Homogénéiser. Rincer le volume mort de la valve du flacon transfert avec 0,5 ml de CCl_4 (4.2) qu'on laisse évaporer. Déterminer la masse de l'étalon interne par pesée différentielle du flacon transfert.
- 6.2.2. L'embout en téflon de la seringue, après remplissage avec l'échantillon, doit être rincé à l'azote (4.6) de telle manière que, avant l'injection dans le chromatographe, aucun résidu de l'échantillon ne subsiste dans l'embout.
- 6.2.3. Après chaque prélèvement, l'embout de la valve ou l'éventuelle pièce transfert utilisée doit être rincé plusieurs fois à l'acétone (4.5) (avec une seringue hypodermique) et ensuite séchée à fond avec de l'azote (4.6).
- 6.2.4. Pour chaque analyse, procéder aux mesures sur deux flacons transfert différents en effectuant 5 mesures par flacon.

7. CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES

7.1. Précolonne

Tube inoxydable.

Longueur : 30 cm.

Diamètre : 3 ou 6 mm.

Remplissage : chromosorb de mêmes caractéristiques que celui de la colonne.

7.2. Colonne

La phase stationnaire est constituée par l'Hallcomid M 18 déposé sur chromosorb. Elle doit donner un degré de résolution (R) égal à 1,5 au moins :

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

où :

r_1 et r_2 = temps de rétention (exprimé en min),

W_1 et W_2 = largeur des pics à mi-hauteur (en mm),

d' = vitesse de déroulement du papier (en mm/min).

- 7.3. À titre d'exemple les conditions opératoires suivantes donnent les résultats recherchés :

Colonne	I	II
Nature :	tube inoxydable	tube inoxydable
Longueur :	350 cm	400 cm
Diamètre :	3 mm	6 mm
Remplissage :		
chromosorb :	WAW	WAW-DMCS-HP
granulométrie :	100-120 mesh	60-80 mesh
Phase stationnaire :	Halcomid M 18 10 %	Hallcomid M 18 20 %
Températures :		
colonne :	65 °C	75 °C
injecteur :	150 °C	125 °C
détecteur :	150 °C	200 °C
Gaz vecteur :		
hélium, débit :	45 ml/min	60 ml/min
pression d'entrée :	2,5 bar	2,0 bar
Injection :	15 µl	15 µl

8. ÉTABLISSEMENT DES COEFFICIENTS DE PROPORTIONNALITÉ

Constituer dans une fiole conique, le mélange suivant exactement pesé :

CH₂Cl₂ (4.3) : 30 % m/m dichlorométhane.

CH₃CCl₃ (4.4) : 35 % m/m trichloroéthane.

CHCl₃ (4.1) : 35 % m/m trichlorométhane.

Il sert à établir les coefficients de proportionnalité.

9. CALCULS

9.1. *Calcul d'un coefficient de proportionnalité d'une substance (p) par rapport à une substance (a) choisie comme étalon interne*

Soit la substance *p* :

k_p = son coefficient de proportionnalité,

m_p = sa masse dans le mélange,

A_p = l'aire de son pic.

Soit la substance *a* :

k_a = son coefficient de proportionnalité choisi égal à 1,

m_a = sa masse dans le mélange,

A_a = l'aire de son pic,

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

À titre d'exemple les coefficients de proportionnalité suivants ont été obtenus (pour CHCl₃ : $k = 1$) :

CH₂Cl₂ : $k_1 = 0,78 \pm 0,03$

CH₃CCl₃ : $k_2 = 1,00 \pm 0,03$

9.2. *Calcul des pourcentages de CH₂Cl₂ et CH₃CCl₃ présents dans l'échantillon à analyser*

Soit :

k_1 = le coefficient de proportionnalité de CH₂Cl₂,

k_2 = le coefficient de proportionnalité de CH₃CCl₃,

m_a = la masse de CHCl₃,

m_e = la masse de l'échantillon à analyser,

A_a = l'aire du pic de CHCl₃,

A_1 = l'aire du pic de CH₂Cl₂,

A_2 = l'aire du pic de CH₃CCl₃.

On aura :

$$\% \text{ (m/m) CH}_2\text{Cl}_2 = \frac{m_a \times A_1 \times k_1 \times 100}{A_a \times m_e}$$

$$\% \text{ (m/m) CH}_3\text{CCl}_3 = \frac{m_a \times A_2 \times k_2 \times 100}{A_a \times m_e}$$

10. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en composés chlorés de 25 % (m/m) la différence entre les résultats de deux déterminations parallèles effectuées sur le même échantillon ne doit pas dépasser 2,5 %.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'HYDROXY-8-QUINOLÉINE ET DE SON SULFATE**1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**

La méthode décrit l'identification et le dosage de l'hydroxy-8-quinoléine et de son sulfate.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en hydroxy-8-quinoléine déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse d'hydroxy-8-quinoléine.

3. PRINCIPE**3.1. Identification**

Elle est réalisée par chromatographie sur couche mince.

3.2. Dosage

Il est effectué par photolorimétrie à 410 nm d'un complexe de cuivre obtenu par réaction avec la liqueur de Fehling.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Hydroxy-8-quinoléine.

4.2. Benzène (vu la toxicité du produit, prendre les précautions adéquates).

4.3. Chloroforme.

4.4. Solution d'hydroxyde de sodium à 50 % m/m.

4.5. Sulfate de cuivre (Cu SO₄ 5 H₂O).

4.6. Tartrate double de potassium et de sodium.

4.7. Acide chlorhydrique 1 N.

4.8. Acide sulfurique 1 N.

4.9. Solution d'hydroxyde de potassium 1 N.

4.10. Éthanol.

4.11. Butanol 1.

4.12. Acide acétique glacial.

- 4.13. Acide chlorhydrique 0,1 N.
- 4.14. C'élite 545 ou équivalent.
- 4.15. **Solutions témoins**
- 4.15.1. Placer 100 mg d'hydroxy-8-quinoléine (4.1) dans une fiole jaugée de 100 ml et dissoudre dans une petite quantité d'acide sulfurique 1 N (4.8). Compléter jusqu'au trait avec l'acide sulfurique 1 N (4.8).
- 4.15.2. Placer 100 mg d'hydroxy-8-quinoléine (4.1) dans une fiole jaugée de 100 ml. Dissoudre dans l'éthanol (4.10). Compléter jusqu'au trait avec le même solvant et mélanger.
- 4.16. **Liqueur de Fehling**
- Solution A**
Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 7 g de sulfate de cuivre (4.5). Dissoudre dans une petite quantité d'eau, compléter au trait avec de l'eau et mélanger.
- Solution B**
Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 35 g de tartrate double de potassium et de sodium (4.6) et les dissoudre dans 50 ml d'eau. Ajouter 20 ml d'hydroxyde de sodium à 50 % (4.4). Compléter au trait avec de l'eau et mélanger.
Immédiatement avant l'emploi, dans une fiole jaugée de 100 ml, pipeter 10 ml de solution A et 10 ml de solution B. Compléter au trait avec de l'eau et mélanger.
- 4.17. **Solvants de développement**
- Solvant I : butanol 1, acide acétique, eau (80-20-20) (v/v/v).
Solvant II : chloroforme, acide acétique (95-5) (v/v).
- 4.18. Solution à 1 % de 2,6-dichloro-4-(chloroimino)cyclohexa-2,5-diénone dans l'éthanol (4.10).
- 4.19. Solution de carbonate de sodium à 1 % (m/v).
- 4.20. Solution à 30 % (v/v) d'éthanol (4.10) dans l'eau.
- 4.21. Solution de dihydrogénééthylènediaminetétraacétate de disodium à 5 % (m/v).
- 4.22. **Solution tampon de pH 7**
Peser 27 g de KH_2PO_4 et 70 g de $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ dans une fiole jaugée de 1 l. Dissoudre. Compléter au trait et mélanger.
- 4.23. **Couches minces de silice prêtes à l'emploi**
Épaisseur 0,25 mm (Kieselgel 60 Merck ou équivalent). Avant l'emploi, chaque plaque est vaporisée avec 10 ml du réactif 4.21 et séchée à 80 °C.
5. **APPAREILLAGE**
- 5.1. Ballons rodés à fond rond de 100 ml.
- 5.2. Fioles jaugées.
- 5.3. Pipettes graduées de 10 et 5 ml.

- 5.4. Pipettes jaugées de 20, 15, 10 et 5 ml.
 - 5.5. Ampoules à décanter de 100, 50 et 25 ml.
 - 5.6. Filtres plissés de diamètre 9 cm.
 - 5.7. Évaporateur rotatif.
 - 5.8. Réfrigérant rodé à reflux.
 - 5.9. Spectrophotomètre.
 - 5.10. Cuves de 1 cm de trajet optique.
 - 5.11. Agitateur chauffant.
 - 5.12. Colonne de verre pour chromatographie de 160 mm de hauteur et 8 mm de diamètre, dont la partie inférieure est pourvue d'un rétrécissement obturé par un tampon de laine de verre et dont la partie supérieure est conçue de manière à pouvoir éluer sous pression.
6. **MODE OPÉRATOIRE**
- 6.1. **Identification**
 - 6.1.1. **Échantillons liquides**
 - 6.1.1.1. Après avoir porté à 7 le pH d'une fraction de l'échantillon à analyser, on en dépose 5 et 10 µl sur chacun des points de la ligne de départ d'une plaque recouverte d'une couche mince de gel de silice traitée au préalable comme indiqué en 4.23.
 - 6.1.1.2. Sur deux autres points de la ligne de départ on dépose 10 et 30 µl de la solution témoin (4.15.2) puis on développe la plaque dans l'un des deux solvants (4.17).
 - 6.1.1.3. Lorsque le front du solvant a atteint 15 cm, la plaque est séchée à 110 °C pendant 15 min. Sous lumière UV (366 nm), les taches d'hydroxy-8-quinoléine se caractérisent par une fluorescence jaune.
 - 6.1.1.4. La plaque est ensuite vaporisée à l'aide d'une solution aqueuse de carbonate de sodium à 1% (4.19) et, après séchage, à l'aide d'une solution à 1% de 2,6-dichloro-4-(chloroimino)cyclohexa-2,5-diénone (4.18). L'hydroxy-8-quinoléine apparaît sous forme de tache bleue.
 - 6.1.2. **Échantillons solides et crèmes**
 - 6.1.2.1. Mettre 1 g de l'échantillon en suspension dans 5 ml de la solution tampon pH 7 (4.22). Transvaser avec 10 ml de chloroforme dans une ampoule à décanter et agiter. Après avoir recueilli la couche chloroformique, extraire à deux nouvelles reprises la suspension aqueuse avec 10 ml de chloroforme (4.3). Rassembler et filtrer les extraits chloroformiques dans un ballon à fond rond de 100 ml (5.1). Concentrer jusqu'à siccité presque totale dans l'évaporateur rotatif. Reprendre le résidu dans 2 ml de chloroforme et déposer 10 et 30 µl de la solution obtenue sur une plaque de gel de silice (4.23) en procédant comme indiqué en 6.1.1.1.
 - 6.1.2.2. Après avoir déposé 10 et 30 µl de la solution témoin (4.15.2) on procède comme indiqué en 6.1.1.2, 6.1.1.3 et 6.1.1.4.
 - 6.2. **Dosage**
 - 6.2.1. **Échantillons liquides**
 - 6.2.1.1. Dans un ballon rodé à fond rond de 100 ml, peser 5 g de l'échantillon. Ajouter 1 ml d'acide sulfurique 1 N (4.8) et concentrer le mélange jusqu'à siccité presque totale sous pression réduite à 50 °C.

- 6.2.1.2. Dissoudre ce résidu dans 20 ml d'eau chaude. Transvaser dans un ballon jaugé de 100 ml et rincer à trois reprises avec 20 ml d'eau. Compléter à 100 ml avec de l'eau et mélanger.
- 6.2.1.3. Pipeter 5 ml de cette solution dans une ampoule à décanter de 50 ml (5.5). Après addition de 10 ml de liqueur de Fehling (4.16), extraire le complexe de cuivre formé par trois fois 8 ml de chloroforme (4.3).
- 6.2.1.4. Rassembler les phases chloroformiques filtrées dans un ballon jaugé de 25 ml (5.2). Compléter au trait avec du chloroforme (4.3) et agiter. Mesurer la densité optique de la solution jaune à 410 nm par rapport au chloroforme.
- 6.2.2. *Échantillons solides et crèmes*
- 6.2.2.1. Dans un ballon à fond rond de 100 ml (5.1), peser 0,500 g de l'échantillon. Ajouter 30 ml de benzène (4.2) et 20 ml d'acide chlorhydrique 1 N (4.7). Faire bouillir à reflux pendant 30 min sous agitation.
- 6.2.2.2. Transvaser le contenu du ballon dans une ampoule à décanter (5.5) de 100 ml et rincer avec 5 ml d'acide chlorhydrique 1 N (4.7). Soutirer la phase aqueuse dans un ballon à fond rond (5.1). Laver la phase benzénique avec 5 ml d'acide chlorhydrique 1 N (4.7) et recueillir les eaux de lavage dans le ballon. Poursuivre comme indiqué au point 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. Cas des émulsions qui ne conviennent pas à la poursuite de l'analyse. Mélanger 0,500 g de l'échantillon avec 2 g de célite 545 (4.14) de façon à obtenir une poudre fluide. Placer le mélange par petites fractions dans la colonne de verre pour chromatographie (5.12). Après chaque addition, tasser le contenu de la colonne. Lorsque la totalité du mélange échantillon-célite a été introduite dans la colonne, éluer avec de l'acide chlorhydrique 0,1 N (4.13) de façon à obtenir 10 ml d'éluat en 10 min environ. En cas de nécessité, on peut procéder à cette élution en exerçant une légère surpression avec de l'azote. Pendant l'élution, il convient de s'assurer qu'il y a toujours de l'acide chlorhydrique au-dessus du mélange échantillon-célite.
Les 10 premiers ml d'éluat sont ensuite traités comme indiqué en 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. Les phases aqueuses (6.2.2.2) ou les éluats (6.2.2.3) sont rassemblés et concentrés jusqu'à siccité presque totale sous pression réduite dans l'évaporateur rotatif.
- 6.2.2.5. Dissoudre le résidu dans 6 ml de la solution d'hydroxyde de sodium 1 N (4.9). Ajouter 20 ml de liqueur de Fehling (4.16) et transvaser dans une ampoule à décanter de 50 ml (5.5). Rincer le ballon avec 8 ml de chloroforme (4.3) et transvaser dans l'ampoule à décanter. Après agitation, la phase chloroformique est filtrée et recueillie dans un ballon jaugé de 50 ml (5.2).
- 6.2.2.6. La phase aqueuse est extraite à nouveau par trois fois 8 ml de chloroforme (4.3). Les phases chloroformiques sont filtrées et recueillies dans le ballon jaugé de 50 ml. Compléter au trait avec du chloroforme et agiter. Mesurer la densité optique de la solution jaune à 410 nm par rapport au chloroforme.

7. COURBE D'ÉTALONNAGE

- 7.1. Dans des ballons à fond rond de 100 ml (5.1) contenant chacun 3 ml d'une solution aqueuse d'éthanol à 30 % (4.20), pipeter 5, 10, 15 et 20 ml de la solution témoin (4.15.1) et procéder comme indiqué en 6.2.1.

8. EXPRESSION DES RÉSULTATS

8.1. *Échantillons liquides*

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

où :

a = nombre de mg d'hydroxy-8-quinoléine relevés sur la courbe d'étalonnage (7),

m (mg) = masse de l'échantillon (6.2.1.1).

8.2. *Échantillons solides et crèmes*

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

où :

a = nombre de mg d'hydroxy-8-quinoléine relevés sur la courbe d'étalonnage (7),

m (mg) = masse de l'échantillon (6.2.2.1).

9. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en hydroxy-8-quinoléine de l'ordre de 0,3 %, la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,02 %.

DOSAGE DE L'AMMONIAQUE

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode décrit le dosage de l'ammoniaque libre dans l'ensemble des produits cosmétiques.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en ammoniaque déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse de NH_3 .

3. PRINCIPE

Une solution de chlorure de baryum est ajoutée au produit cosmétique en milieu méthanol-eau. Le précipité éventuellement formé est filtré ou centrifugé. Cette manière de faire évite, au cours de la distillation à la vapeur, l'entraînement de certains sels d'ammonium tels que carbonate, hydrogenocarbonate, sels d'acide gras etc., à l'exception de l'acétate d'ammonium.

L'ammoniaque est entraînée à la vapeur à partir du filtrat ou du surnageant et dosée par titrimétrie en retour avec indicateur ou titrimétrie potentiométrique directe.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Méthanol.

4.2. Solution de chlorure de baryum dihydraté à 25 % (m/v).

4.3. Solution d'acide orthoborique à 4 % (m/v).

4.4. Solution titrée d'acide sulfurique 0,5 N.

4.5. Antimousse liquide.

4.6. Solution titrée d'hydroxyde de sodium 0,5 N.

4.7. Indicateur : mélanger 5 ml d'une solution de rouge de méthyle à 0,1 % dans l'éthanol et 2 ml d'une solution de bleu de méthylène à 0,1 % dans l'eau.

(1) Selon la norme ISO 5725.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Matériel courant de laboratoire.
- 5.2. Centrifugeuse avec tubes fermés.
- 5.3. Appareil d'entraînement à la vapeur.
- 5.4. Potentiographe.
- 5.5. Électrode de verre et électrode de référence au dichlorure de dimercure (calomel).

6. MODE OPÉRATOIRE

- 6.1. Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser à 1 mg près une masse d'échantillon (m) correspondant au maximum à 150 mg de NH₃.
- 6.2. Ajouter :
eau : 10 ml,
méthanol : 10 ml (4.1),
solution de chlorure de baryum (4.2) : 10 ml.
Compléter au trait avec du méthanol (4.1).
- 6.3. Homogénéiser et laisser une nuit au réfrigérateur (5 °C).
- 6.4. La solution encore froide est filtrée ou centrifugée en tubes fermés, pendant 10 min de manière à obtenir un surnageant limpide.
- 6.5. Introduire à la pipette 40 ml de la solution claire dans l'appareil à entraînement (5.3) puis éventuellement 0,5 ml d'antimousse (4.5).
- 6.6. Distiller et recueillir 200 ml de distillat dans un bécher de 250 ml contenant 10,0 ml d'acide sulfurique 0,5 N (4.4) et 0,1 ml de l'indicateur (4.7).
- 6.7. Doser en retour l'acide sulfurique en excès avec la solution d'hydroxyde de sodium (4.6).
- 6.8. Dans le cas d'un dosage potentiométrique, recueillir 200 ml de distillat dans un bécher de 250 ml contenant 25 ml de la solution d'acide orthoborique (4.3) et titrer avec l'acide sulfurique 0,5 N (4.4).

7. EXPRESSION DES RÉSULTATS

7.1. *Dosage en retour avec indicateur*

Soit :

- V₁ (ml) = le volume de la solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N (4.6) utilisé,
T₁ = le titre de la solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N (4.6),
T₂ = le titre de la solution d'acide sulfurique 0,5 N (4.4),
m (mg) = masse de l'échantillon (6.1).

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

7.2. Dosage potentiométrique direct

où :

 V_2 (ml) = le volume de la solution d'acide sulfurique 0,5 N (4.4) utilisé, T_2 = le titre de la solution d'acide sulfurique 0,5 N (4.4), m (mg) = la masse de l'échantillon (6.1).

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

8. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en NH_3 de l'ordre de 6 %, la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,6 %.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DU NITROMÉTHANE**1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**

Cette méthode est applicable à l'identification et au dosage du nitrométhane dans les produits cosmétiques conditionnés sous forme aérosol, pour une concentration inférieure ou égale à 0,3 %.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en nitrométhane déterminée par cette méthode est exprimée en pourcentage de masse de nitrométhane dans la totalité du contenu de l'aérosol.

3. PRINCIPE

Le nitrométhane est identifié par réaction colorée. Son dosage est réalisé par chromatographie en phase gazeuse après addition d'un étalon interne.

4. IDENTIFICATION**4.1. Réactifs**

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1.1. Solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N.**4.1.2. Réactif de Folin**

Dissoudre dans l'eau 0,1 g du sel sodique de l'acide 1,2-naphtoquinone sulfonique-4 et porter à 100 ml.

4.2. Mode opératoire

Ajouter 10 ml de 4.1.1 et 1 ml de 4.1.2 à 1 ml d'échantillon.

Une coloration violette indique la présence de nitrométhane.

5. DOSAGE**5.1. Réactifs**

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

(1) Selon la norme ISO 5725.

- 5.1.1. Chloroforme (étalon interne 1).
- 5.1.2. 2,4-diméthylheptane (étalon interne 2).
- 5.1.3. Éthanol à 95 %.
- 5.1.4. Nitrométhane.
- 5.1.5. *Solution de référence au chloroforme*
Dans une fiole jaugée de 25 ml préalablement tarée, introduire 650 mg environ de chloroforme (5.1.1). Peser à nouveau avec soin le ballon et son contenu. Compléter à 25 ml avec de l'éthanol à 95 % (5.1.3). Peser et calculer le pourcentage en masse de chloroforme dans cette solution.
- 5.1.6. *Solution de référence au diméthylheptane*
Procéder comme pour la solution de référence au chloroforme, mais introduire 270 mg de 2,4-diméthylheptane (5.1.2) dans une fiole jaugée de 25 ml.
- 5.2. *Appareillage*
- 5.2.1. Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à ionisation de flamme.
- 5.2.2. Appareillage pour l'échantillonnage des aérosols (flacon de transfert, microseringue, raccord, etc.) tel qu'il est décrit au chapitre II de l'annexe de la directive 80/1335/CEE de la Commission du 22 décembre 1980 (1).
- 5.2.3. Matériel courant de laboratoire.
- 5.3. *Mode opératoire*
- 5.3.1. *Préparation de l'échantillon*
Dans un flacon de transfert de 100 ml préalablement taré et purgé d'air (selon le mode opératoire décrit au paragraphe 5.4. du chapitre II de l'annexe de la directive 80/1335/CEE de la Commission du 22 décembre 1980) ou dans lequel on a fait le vide, introduire 5 ml environ de l'un ou l'autre des étalons internes 5.1.5. ou 5.1.6.
Utiliser une seringue en verre de 10 ou 20 ml sans aiguille, adaptée à la pièce de transfert selon la technique décrite au paragraphe 5 chapitre II de ladite directive.
Selon la même technique, introduire dans le flacon 50 g environ du contenu de l'échantillon d'aérosol. Peser à nouveau afin de déterminer la quantité d'échantillon introduite. Mélanger soigneusement. Injecter 10 µl environ en utilisant la microseringue (5.2.2). Procéder à 5 injections.
- 5.3.2. *Préparation de la référence*
Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser avec précision 500 mg environ de nitrométhane (5.1.4) avec 500 mg de chloroforme (5.1.1) ou 210 mg de 2,4-diméthylheptane (5.1.2). Porter au volume au moyen d'éthanol à 95 % (5.1.3). Mélanger soigneusement. Introduire 5 ml de cette solution dans une fiole jaugée de 20 ml. Porter au volume au moyen d'éthanol à 95 % (5.1.3). Injecter 10 µl environ en utilisant la microseringue (5.2.2). Procéder à 5 injections.
- 5.3.3. *Conditions de la chromatographie en phase gazeuse*
- 5.3.3.1. Colonne
Il s'agit d'une colonne en deux parties, la première contenant du didécylphthalate sur Gas Chrome Q comme phase stationnaire, la seconde de l'Ucon 50 HB 280X sur Gas Chrome Q comme phase stationnaire.

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

La colonne double ainsi préparée doit donner une résolution R égale ou supérieure à 1,5, étant entendu que :

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

r_1 et r_2 = temps de rétention en min,

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

d' = vitesse de déroulement en mm/min.

À titre d'exemple, les 2 parties suivantes donnent la résolution voulue .

Partie A :

matériau : acier inoxydable,

longueur : 1,5 m,

diamètre : 3 mm,

charge : 20 % de didécylphthalate sur Gas Chrome Q 100-120 mesh.

Partie B :

matériau : acier inoxydable,

longueur : 1,5 m,

diamètre : 3 mm,

charge : 20 % d'Ucon 50 HB 280X sur Gas Chrome Q 100-120 mesh.

5.3.3.2. Détecteur

Ionisation de flamme. L'électromètre du détecteur doit être fixé sur une sensibilité de 8×10^{-10} A.

5.3.3.3. Températures

Injecteur : 150 °C.

Détecteur : 150 °C.

Colonne : entre 50 °C et 80 °C selon le type de colonne et l'appareillage.

5.3.3.4. Gaz

Gaz vecteur : azote.

Pression : 2,1 bar.

Débit : 40 ml/min.

Détecteur : gaz préconisé par le fabricant.

6. CALCULS

6.1. *Facteur de réponse du nitrométhane, calculé par référence à l'étalon interne utilisé*

Si n représente le nitrométhane :

k_n = le facteur de réponse,

m'_n = sa masse en g dans le mélange,

S'_n = la surface de son pic,

et si c représente l'étalon interne, chloroforme ou 2,4-diméthylheptane :

m'_c = sa masse en g dans le mélange,

S'_c = la surface de son pic.

La formule sera : $k_n = \frac{m'_n}{m'_c} \times \frac{S'_c}{S'_n}$

k_n dépend de l'appareillage.

6.2. *Concentration de nitrométhane dans l'échantillon*

Si n représente le nitrométhane :

k_n = le facteur de réponse,

S_n = la surface de son pic,

et si c représente l'étalon interne, chloroforme ou 2,4-diméthylheptane :

m_c = la masse en g dans le mélange,

S_c = la surface de son pic,

M = la masse en g de l'échantillon d'aérosol transféré.

Le pourcentage m/m de nitrométhane dans l'échantillon sera égal à :

$$\frac{m_c}{M} \times \frac{k_n \times S_n}{S_c} \times 100$$

7. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en nitrométhane de l'ordre de 0,3 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,03 %.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'ACIDE THIOGLYCOLIQUE DANS LES PRODUITS POUR LE FRISAGE OU LE DÉFRISAGE DES CHEVEUX ET LES DÉPILATOIRES

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit l'identification et le dosage de l'acide thioglycolique dans les produits pour le frisage ou le défrisage des cheveux et les dépilatoires, en présence d'autres réducteurs éventuels.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en acide thioglycolique, déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse d'acide thioglycolique.

3. PRINCIPE

L'acide thioglycolique est identifié soit par réaction colorée soit par chromatographie sur couche mince. Son dosage est réalisé soit par iodométrie soit par chromatographie en phase gazeuse.

4. IDENTIFICATION

4.1. *Identification par voie chimique*

4.1.1. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1.1.1. Papier au di(acétate) de plomb.

4.1.1.2. Solution d'acide chlorhydrique 1 : 1.

4.1.2. *Mode opératoire*

4.1.2.1. Identification de l'acide thioglycolique par réaction colorée avec le di(acétate) de plomb

Déposer une goutte de l'échantillon à analyser sur du papier au di(acétate) de plomb (4.1.1.1). Si l'on obtient une coloration jaune intense, présence probable d'acide thioglycolique.

Sensibilité : 0,5 %.

4.1.2.2. Caractérisation des sulfures par formation d'H₂S après passage en milieu acide

Dans un tube à essais, introduire quelques mg de l'échantillon à étudier. Ajouter

(1) Selon la norme ISO 5725.

2 ml d'eau distillée et 1 ml d'HCl 1:1 (4.1.1.2). Il se forme un dégagement d'H₂S reconnaissable à son odeur et à la formation du précipité noir de PbS sur un papier au di(acétate) de plomb (4.1.1.1).

Sensibilité : 50 ppm.

4.1.2.3. **Caractérisation des sulfites par formation de SO₂ après passage en milieu acide**

Procéder comme en 4.1.2.2. Porter à ébullition.

Le SO₂ est reconnaissable à son odeur et à ses propriétés réductrices vis-à-vis de MnO₄⁻ — par exemple.

4.2. **Identification par chromatographie sur couche mince**

4.2.1. **Réactifs**

Tous les réactifs, sauf indication contraire, doivent être de qualité analytique.

- 4.2.1.1. Acide thioglycolique contrôlé iodométriquement, pureté ≥ 98 % (ATG).
- 4.2.1.2. Acide dithioglycolique, pureté ≥ 99 % (ADTG).
- 4.2.1.3. Acide thiolactique, pureté ≥ 95 % (ATL).
- 4.2.1.4. Acide 3-mercaptopropionique, pureté ≥ 98 % (AMP).
- 4.2.1.5. 1-thioglycérol, pureté ≥ 98 % (TG).
- 4.2.1.6. Gel de silice G.HR ou plaques prêtes à l'emploi correspondantes d'épaisseur 0,25 mm activées à 110 °C pendant 30 min.
- 4.2.1.7. Oxyde d'aluminium F254 type E Merck (ou équivalent) ou plaques prêtes à l'emploi d'épaisseur 0,25 mm.
- 4.2.1.8. Acide chlorhydrique concentré ($d_4^{20} = 1,19$).
- 4.2.1.9. Acétate d'éthyle.
- 4.2.1.10. Chloroforme.
- 4.2.1.11. Diisopropyléther.
- 4.2.1.12. Tétrachlorure de carbone.
- 4.2.1.13. Acide acétique glacial.
- 4.2.1.14. Solution aqueuse d'iodure de potassium à 1 % (m/v).
- 4.2.1.15. Solution aqueuse de chlorure de platine à 0,1 % (m/v).
- 4.2.1.16. Solvants de développement
 - 4.2.1.16.1. Acétate d'éthyle, chloroforme, diisopropyléther, acide acétique glacial (20:20:10:10) (en vol.).
 - 4.2.1.16.2. Chloroforme, acide acétique glacial (90:20) (en vol.).
- 4.2.1.17. Révélateurs
 - 4.2.1.17.1. Mélanger directement avant l'emploi des volumes égaux de la solution (4.2.1.14) et de la solution (4.2.1.15).
 - 4.2.1.17.2. Solution de brome 5 % (m/v).
Dissoudre 5 g de brome dans 100 ml de CCl₄ (4.2.1.12).
 - 4.2.1.17.3. Solution de fluorescéine 0,1 % (m/v).
Dissoudre 100 mg de fluorescéine dans 100 ml d'éthanol à 95 %.
 - 4.2.1.17.4. Solution aqueuse d'heptamolybdate d'hexaammonium à 10 % (m/v).
- 4.2.1.18. Solutions de référence
 - 4.2.1.18.1. Solution aqueuse d'acide thioglycolique 0,4 % (m/v).
 - 4.2.1.18.2. Solution aqueuse d'acide dithiodiglycolique 0,4 % (m/v).
 - 4.2.1.18.3. Solution aqueuse d'acide thiolactique 0,4 % (m/v).
 - 4.2.1.18.4. Solution aqueuse d'acide 3-mercaptopropionique à 0,4 % (m/v).
 - 4.2.1.18.5. Solution aqueuse de 1-thioglycérol à 0,4 % (m/v).

4.2.2. *Appareillage*

Matériel courant de laboratoire pour chromatographie sur couche mince.

4.2.3. *Mode opératoire*4.2.3.1. *Traitement des échantillons*

Acidifier par quelques gouttes d'acide chlorhydrique (4.2.1.8) jusqu'à pH = 1 et filtrer s'il y a lieu. Dans certains cas, on peut être amené à diluer l'échantillon. Dans ce cas, l'acidifier par l'acide chlorhydrique avant d'effectuer la dilution.

4.2.3.2. *Développement*

Déposer sur la plaque 1 µl de la solution échantillon (4.2.3.1) et 1 µl de chacune des 5 solutions de référence (4.2.1.18). Sécher prudemment sous faible courant d'azote et développer avec les solvants (4.2.1.16.1) ou (4.2.1.16.2). Sécher le plus rapidement possible sous azote de façon à éviter l'oxydation des thiols.

4.2.3.3. *Révélation*

Pulvériser sur la plaque le réactif (4.2.1.17.1) ou (4.2.1.17.3) ou (4.2.1.17.4). Lorsque la plaque a été pulvérisée avec le réactif (4.2.1.17.3), la placer dans une cuve saturée de brome (4.2.1.17.2) jusqu'à ce que les taches deviennent visibles. Lorsque la plaque a été pulvérisée avec le réactif (4.2.1.17.4), la révélation ne sera bonne que si le temps de séchage de la couche n'a pas excédé 1/2 heure.

4.2.3.4. *Lecture*

Comparer les valeurs des Rf et la couleur des solutions de référence avec celle de la solution échantillon. Les Rf moyens sur couche de silice sont donnés ci-dessous à titre indicatif et n'ont qu'une valeur comparative. En effet, ils dépendent :

- de l'état d'activation de la couche au moment de la chromatographie,
- de la température de la cuve de chromatographie.

Tableau des Rf obtenus sur couche de silice

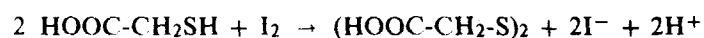
	Solvants de développement	
	4.2.1.16.1.	4.2.1.16.2.
Acide thioglycolique	0,25	0,80
Acide thiolactique	0,40	0,95
Acide dithiodiglycolique	0,00	0,35
Acide 3-mercaptopropionique	0,45	0,95
1-thioglycérol	0,45	0,35

5. *DOSAGE (*)*

Il commence toujours par une iodométrie.

5.1. *Iodométrie*5.1.1. *Principe*

Le dosage s'effectue par oxydation du groupement SH par I₂ en milieu acide selon l'équation :

5.1.2. *Réactifs*

Solution titrée d'iode 0,1 N.

(*) *Remarque*

Le dosage de l'acide thioglycolique doit se faire sur des produits non encore utilisés et fraîchement débouchés, de façon à éviter toute oxydation.

5.1.3. *Appareillage*

Matériel courant de laboratoire.

5.1.4. *Mode opératoire*

Dans une fiole conique bouchée de 150 ml contenant 50 ml d'eau distillée, peser avec précision de 0,500 à 1 g d'échantillon.

Ajouter 5 ml d'HCl 1:1 (4.1.1.2) (pH de la solution voisin de 0) et titrer par l'iode 0,1 N (5.1.2) jusqu'à apparition d'une coloration jaune. On peut utiliser un indicateur (amidon, chloroforme, etc.).

5.1.5. *Calcul*

La teneur en acide thioglycolique est calculée selon la formule :

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

où :

m = la masse en g de la prise d'essai,

n = le volume d'iode 0,1 N versé.

5.1.6. *Remarque*

Si le résultat, calculé en acide thioglycolique, est inférieure de 0,1 % aux concentrations maximales autorisées, il n'est pas utile de procéder à d'autres dosages. Si le résultat est égal ou supérieur aux concentrations maximales autorisées, et si l'identification a montré la présence de plusieurs réducteurs, il est alors nécessaire de procéder au dosage par chromatographie en phase gazeuse.

5.2. *Chromatographie en phase gazeuse*5.2.1. *Principe*

L'acide thioglycolique est séparé de l'excipient par précipitation sous forme de di(acétate) de cadmium. Après méthylation par le diazométhane préparé soit extemporanément, soit à l'avance en solution étherée, le dérivé méthylé de l'acide thioglycolique est dosé par chromatographie gaz/liquide avec le caprylate de méthyle comme étalon interne.

5.2.2. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

5.2.2.1. Acide thioglycolique pur (de titre connu).

5.2.2.2. Acide chlorhydrique concentré $d_4^{20} = 1,19$.

5.2.2.3. Méthanol.

5.2.2.4. Solution aqueuse de di(acétate) de cadmium 2 H₂O à 10 % (m/v).

5.2.2.5. Solution de caprylate de méthyle à 2 % (m/v) dans le méthanol.

5.2.2.6. Solution tampon acétique à pH 5 :

acétate de sodium, 3 H₂O : 77 g,

acide acétique glacial : 27,5 ml,

eau déminéralisée q.s.q. : 1 l.

5.2.2.7. Solution fraîchement préparée d'acide chlorhydrique 3 N dans le méthanol.

5.2.2.8. N-méthyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine.

5.2.2.9. Solution d'hydroxyde de sodium 5 N.

5.2.2.10. Solution titrée d'iode 0,1 N.

5.2.2.11. Diéthyloxyde.

5.2.2.12. Solution de diazométhane préparée à partir de la N méthyl-N nitroso p. toluène sulfonamide selon Fieser (Reagents for Organic Synthesis Ed. Wiley 1967)

La solution obtenue contient environ 1,5 g de diazométhane dans 100 ml de diéthyloxyde (5.2.2.11).

Le diazométhane étant un gaz toxique et très instable, il est nécessaire de mener toutes les expériences sous une hotte puissante et aussi d'éviter l'usage d'appareils ayant des joints rodés.

5.2.3. *Appareillage*

5.2.3.1. Matériel courant de laboratoire.

5.2.3.2. Appareil pour préparation extemporanée du diazométhane (An. Chem. 1973 45, 2302).

5.2.3.3. Appareil pour la préparation préalable du diazométhane selon Fieser.

5.2.4. *Préparation de l'échantillon*

Dans un tube à centrifugation de 50 ml, peser avec précision une masse d'échantillon telle que la quantité supposée d'acide thioglycolique soit de l'ordre de 50 à 70 mg.

Acidifier avec quelques gouttes d'HCl concentré (5.2.2.2) jusqu'à l'obtention d'un pH voisin de 3.

Ajouter : 5 ml d'eau déminéralisée, 10 ml de solution tampon acétique (5.2.2.6).

Vérifier au moyen d'un papier indicateur que le pH est voisin de 5.

Puis : 5 ml de solution de di(acétate) de cadmium (5.2.2.4).

Attendre 10 min et centrifuger au moins pendant 15 min sous 4 000 g. Séparer le surnageant. Il peut advenir que celui-ci contienne un insoluble gras (cas d'une crème), ce dernier ne peut être confondu avec le mercaptide de cadmium rassemblé d'une façon compacte dans le fond du tube.

Vérifier l'absence de précipitation lors de l'addition dans le surnageant de quelques gouttes de solution de di(acétate) de cadmium (5.2.2.4).

Dans le cas où les identifications précédentes auraient démontré l'absence d'agents réducteurs autre que les thiols, vérifier par iodométrie que la présence de thiols dans le surnageant n'excède pas 6 à 8 % de la quantité initiale.

Dans le tube à centrifugation contenant le précipité, introduire 10 ml de méthanol (5.2.2.3), disperser finement le précipité à l'aide d'une baguette, centrifuger à nouveau pendant au moins 15 min sous 4 000 × g.

Décantier le surnageant et vérifier par iodométrie l'absence de thiols.

Un deuxième lavage est effectué dans les mêmes conditions.

Toujours dans le tube à centrifugation, ajouter :

— 2 ml de solution de caprylate de méthyle (5.2.2.5),

— 5 ml de solution d'acide chlorhydrique dans le méthanol (5.2.2.7).

Dissoudre complètement le mercaptide (il peut advenir qu'un léger insoluble dû à l'excipient subsiste).

On obtient la solution S.

Sur une partie aliquote de la solution S, vérifier iodométriquement la teneur en thiols qui doit être au moins égale à 90 % de celle obtenue en 5.1.

5.2.5. *Méthylation*

La méthylation est effectuée soit extemporanément selon le procédé décrit en 5.2.5.1, soit à l'aide d'une solution de diazométhane préalablement préparée selon 5.2.5.2.

5.2.5.1. Méthylation extemporanée

Dans l'appareil (5.2.3.2) contenant 1 ml de diéthyloxyde (5.2.2.11), introduire

50 µl de la solution S. Méthylér selon la méthode référencée en 5.2.3.2 avec 300 mg de N-méthyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine (5.2.2.8).

Après 15 min, vérifier que la solution contient un excès de diazométhane (solution jaune), et transvaser dans un flacon de 2 ml fermé hermétiquement. Placer celui-ci dans un réfrigérateur pendant une nuit.

Mener simultanément deux méthylations.

5.2.5.2. Méthylation avec la solution préalablement préparée de diazométhane (5.2.2.12)

Dans un flacon bouché de 5 ml, introduire 1 ml de diazométhane (5.2.2.12), puis 50 µl de la solution S. Laisser dans un réfrigérateur pendant une nuit.

5.2.6. Préparation de l'étalon

Préparer une solution étalon d'acide thioglycolique de titre connu contenant environ 60 mg d'acide thioglycolique dans un volume de 2 ml. On obtient la solution E.

Procéder à la précipitation, aux dosages et à la méthylation comme indiqué en 5.2.4 et 5.2.5.

5.2.7. Conditions de la chromatographie en phase gazeuse

5.2.7.1. Colonne

Nature : acier inoxydable.

Longueur : 2 m.

Diamètre : 3 mm.

5.2.7.2. Remplissage

Phtalate de dodécyle 20 %/Chrom.WAW 80-100 mesh.

5.2.7.3. Détecteur

Ionisation de flamme.

Il convient que l'électromètre soit fixé sur une sensibilité de $8 \cdot 10^{-10}$ A.

5.2.7.4. Gaz

Gaz vecteur : azote.

Pression : 2,2 bar.

Débit : 35 ml/min.

Gaz auxiliaire : hydrogène.

Pression : 1,8 bar.

Débit : 15 ml/min.

Détecteur : gaz préconisé par le fabricant.

5.2.7.5. Températures

Injecteur : 200 °C.

Détecteur : 200 °C.

Colonne : 90 °C.

5.2.7.6. Enregistreur

Déroulement : 5 mm/min.

5.2.7.7. Quantité injectée

3 µl.

Faire 5 essais sur chaque échantillon méthylé.

5.2.7.8. Les conditions de la chromatographie sont données à titre indicatif. Elles permettent d'obtenir une résolution $R \geq 1,5$ étant entendu que :

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

r_1 et r_2 = temps de rétention en min,

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

d' = vitesse de déroulement en mm/min.

Il est conseillé de terminer la chromatographie par une programmation de température de 90 à 150 °C à 10 °C/min afin d'éliminer les substances qui risqueraient d'interférer lors des mesures suivantes.

5.2.8. *Calculs*

5.2.8.1. Coefficient de proportionnalité de l'acide thioglycolique

Il est calculé par rapport à l'octanoate de méthyle à partir du mélange étalon.

Soit :

t = l'acide thioglycolique,

k_t = son coefficient de proportionnalité,

m'_t = sa masse (en mg) dans le mélange,

S'_t = la surface de son pic,

c = le caprylate de méthyle,

m'_c = sa masse (en mg) dans le mélange,

S'_c = la surface de son pic.

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

Ce coefficient est fonction de l'appareillage.

5.2.8.2. Concentration de l'acide thioglycolique dans l'échantillon

Soit :

t = l'acide thioglycolique,

k_t = son coefficient de proportionnalité,

S_t = la surface de son pic,

c = le caprylate de méthyle,

m_c = sa masse (en mg) dans le mélange,

S_c = la surface de son pic,

M = la masse (en mg) de la prise d'essai initiale.

Le pourcentage (m/m) d'acide thioglycolique dans l'échantillon est égal à :

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

6. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en acide thioglycolique de 8 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon, ne doit pas dépasser 0,8 %.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'HEXACHLOROPHÈNE**A. IDENTIFICATION**

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode est applicable à tous les produits cosmétiques.

2. PRINCIPE

L'hexachlorophène contenu dans l'échantillon est extrait par l'acétate d'éthyle et identifié par chromatographie sur couche mince.

3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Solution d'acide sulfurique 8 N.

3.2. Célite AW.

3.3. Acétate d'éthyle.

(1) Selon la norme ISO 5725.

- 3.4. Solvant de développement :
benzène contenant 1 % v/v d'acide acétique glacial.
- 3.5. Révélateur n° 1 :
solution de rhodamine B : dissoudre 100 mg de rhodamine B dans un mélange de 150 ml de diéthyle oxyde, 70 ml d'éthanol absolu et 16 ml d'eau.
- 3.6. Révélateur n° 2 :
solution de 2,6-dibromo-4-(chloroimino)cyclohexa-2,5-diénone : dissoudre 400 mg de 2,6-dibromo-4-(chloroimino)cyclohexa-2,5-diénone dans 100 ml de méthanol (à préparer quotidiennement),
solution de carbonate de sodium : dissoudre 10 g de carbonate de sodium dans 100 ml d'eau déminéralisée.
- 3.7. Solution étalon :
solution de 0,05 % m/v d'hexachlorophène dans de l'acétate d'éthyle (3.3).
4. APPAREILLAGE
- 4.1. Plaques CCM de silice F 254 20 × 20 cm.
- 4.2. Matériel courant de laboratoire pour chromatographie sur couche mince.
- 4.3. Bain thermostaté à 26 °C.
5. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON
- 5.1. Mélanger soigneusement 1 g d'échantillon homogénéisé avec 1 g de célite AW (3.2) et 1 ml de solution d'acide sulfurique (3.1).
- 5.2. Sécher à 100 °C pendant 2 h.
- 5.3. Refroidir et réduire le résidu séché en poudre fine.
- 5.4. Extraire deux fois avec chaque fois 10 ml d'acétate d'éthyle (3.3). Centrifuger après chaque extraction et rassembler les phases d'acétate d'éthyle.
- 5.5. Évaporer à 60 °C.
- 5.6. Dissoudre le résidu dans 2 ml d'acétate d'éthyle (3.3).
6. MODE OPÉRATOIRE
- 6.1. Placer 2 µl de solution échantillon (5.6) et 2 µl de solution de référence (3.7) sur une plaque CCM (4.1).
- 6.2. Saturer le récipient thermostaté à 26 °C avec le solvant de développement (3.4).
- 6.3. Placer la plaque CCM dans le récipient et développer jusqu'à 15 cm.
- 6.4. Retirer la plaque et sécher à l'étuve à 105 °C.
- 6.5. *Révélation*
On révèle les taches d'hexachlorophène comme indiqué en 6.5.1 ou 6.5.2.

- 6.5.1. Pulvériser le révélateur n° 1 (3.5) de manière uniforme sur la plaque. Après 30 min, examiner la plaque sous lumière UV à 254 nm.
- 6.5.2. Pulvériser le révélateur n° 2 (3.6) en utilisant successivement la solution de 2,6-dibromo-4-(chloroimino)cyclohexa-2,5-diénone puis la solution de carbonate de sodium. Examiner la plaque à la lumière du jour après 10 min de séchage à la température ambiante.

7. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- 7.1. Révélateur n° 1 (3.5) :
l'hexachlorophène est révélé sous forme de taches bleutées sur fond jaune orange fluorescent et présente un Rf d'environ 0,5.
- 7.2. Révélateur n° 2 (3.6) :
l'hexachlorophène est révélé sous forme de taches bleu ciel à bleu turquoise sur fond blanc et présente un Rf d'environ 0,5.

B. DOSAGE

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode est valable pour tous les produits cosmétiques.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en hexachlorophène déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse d'hexachlorophène.

3. PRINCIPE

Après transformation en dérivé méthylé, l'hexachlorophène est dosé par chromatographie en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons. La méthode implique l'utilisation d'un étalon interne.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

- 4.1. Acétate d'éthyle.
- 4.2. N-méthyl-N-nitroso-p-toluènesulfonamide (diazald).
- 4.3. Diéthyle oxyde.
- 4.4. Méthanol.
- 4.5. 2-(2-éthoxyéthoxy)éthanol (carbitol).
- 4.6. Acide formique.
- 4.7. Hydroxyde de potassium — solution aqueuse 50 % m/m, préparation extemporanée.

- 4.8. Hexane pour la spectroscopie.
- 4.9. Bromochlorophène (étalon n° 1).
- 4.10. 4,4',6,6'-tétrachloro-2,2'-thiodiphénol (étalon n° 2).
- 4.11. Éther 2,4,4'-trichlor-2-hydroxy-diphényl (étalon n° 3).
- 4.12. Acétone.
- 4.13. Acide sulfurique 8 N.
- 4.14. Célite A W.
- 4.15. Solution d'acide formique dans l'acétate d'éthyle 10 % v/v.
- 4.16. Hexachlorophène.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Appareillage usuel de laboratoire.
- 5.2. Mini appareillage pour la préparation de diazométhane (Réf. Anal. Chem. 1973 45 2302-3).
- 5.3. Chromatographe en phase gazeuse, équipé d'un détecteur à capture d'électrons — source : 63 nickel.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. *Préparation des solutions étalons*

L'étalon est choisi de telle sorte qu'il n'interfère avec aucune substance contenue dans l'excipient du produit à analyser. Généralement l'étalon n° 1 convient le mieux (4.9).

- 6.1.1. Peser soigneusement environ 50 mg d'étalon n° 1 (4.9), 2 (4.10) ou 3 (4.11) et 50 mg d'hexachlorophène (4.16) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec de l'acétate d'éthyle (4.1) (solution A). Diluer 10 ml de la solution A à 100 ml avec l'acétate d'éthyle (4.1) (solution B).
- 6.1.2. Peser soigneusement environ 50 mg d'étalon 1 (4.9), 2 (4.10) ou 3 (4.11) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec l'acétate d'éthyle (4.1) (solution C).

6.2. *Préparation de l'échantillon* ⁽¹⁾

Peser avec précision 1 g d'échantillon homogénéisé et mélanger soigneusement avec 1 ml d'acide sulfurique (4.13), 15 ml d'acétone (4.12) et 8 g de célite A W (4.14). Sécher à l'air le mélange pendant 30 min sur un bain de vapeur puis sécher pendant 1 h 30 min dans un four ventilé. Refroidir, réduire en poudre fine

(1) Du fait de la grande variété de produits dans lesquels l'hexachlorophène peut être présent, il est important de vérifier d'abord la récupération de l'hexachlorophène de l'échantillon par ce procédé avant d'enregistrer les résultats. Si les récupérations sont faibles, on pourra faire des modifications en accord avec les parties intéressées, telles que de changer le solvant (benzène au lieu d'acétate d'éthyle, etc.).

le résidu et transférer dans une colonne de verre. Éluer avec l'acétate d'éthyle et recueillir 100 ml. Ajouter 2 ml de solution étalon interne (solution C) (6.1.2).

6.3. *Méthylation de l'échantillon*

Faire refroidir tous les réactifs et l'appareillage entre 0 °C et 4 °C pendant 2 h. Placer 1,2 ml de la solution obtenue en 6.2 et 0,1 ml de méthanol (4.4) dans le compartiment externe de l'appareil à diazométhane.

Placer environ 200 mg de diazald (4.2) dans le réservoir central, ajouter 1 ml de carbitol (4.5) et 1 ml de diéthoxyde (4.3) et dissoudre. Assembler les appareils, immerger à moitié l'appareil dans un bain à 0 °C et introduire dans le réservoir central, à l'aide d'une seringue, environ 1 ml de solution d'hydroxyde de potassium refroidie (4.7).

Il se produit une coloration jaune qui doit être persistante. Si la coloration jaune disparaît, répéter la méthylation avec à nouveau 200 mg de diazald (4.2) (1).

L'appareil est retiré du bain après 15 min, puis laissé fermé à température ambiante pendant 12 h. Ouvrir l'appareil, enlever l'excès de diazométhane en ajoutant quelques gouttes de solution d'acide formique dans l'acétate d'éthyle (4.15) et transférer la solution organique dans une fiole jaugée de 25 ml. Compléter au volume avec de l'hexane (4.8).

Injecter 1,5 µl de cette solution dans le chromatographe.

6.4. *Méthylation de la solution étalon*

Faire refroidir tous les réactifs et l'appareillage jusqu'à une température comprise entre 0 °C et 4 °C pendant 2 h. Introduire dans le compartiment externe de l'appareil de diazométhane :

0,2 ml de solution B (6.1.1),

1 ml d'acétate d'éthyle (4.1),

0,1 ml de méthanol (4.4).

Continuer la méthylation comme décrite en 6.3. Injecter 1,5 µl de la solution obtenue dans le chromatographe.

7. CONDITIONS CHROMATOGRAPHIQUES EN PHASE GAZEUSE

La phase stationnaire doit donner un degré de résolution R au moins égal 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 min,

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

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

Les conditions opératoires suivantes permettent d'obtenir ce résultat.

Colonne : acier inoxydable.

Diamètre : 3 mm.

Longueur : 170 cm.

Remplissage : 10 % OV 17 sur chromosorb WAW 80 à 100 mesh.

Températures : colonne, détecteur, injecteur : 280 °C.

Gaz vecteur : azote U : exempt d'oxygène :

Pression : 2,3 bar,

Débit : 30 ml/min.

(1) La persistance de cette coloration jaune indique un excès de diazométhane qui est nécessaire pour assurer une méthylation complète de l'échantillon.

8. CALCULS

8.1. *Coefficient de proportionnalité de l'hexachlorophène*

Il est calculé selon l'étalon choisi par rapport au mélange étalon soit :

h = l'hexachlorophène,

k_h = son coefficient de proportionnalité,

m'_h = sa masse dans le mélange étalon en g,

A'_h = l'aire de son pic,

s = l'étalon choisi,

m'_s = sa masse dans le mélange en g,

A'_s = l'aire de son pic,

d'où :

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

8.2. *Quantité d'hexachlorophène dans l'échantillon*

Soit :

h = l'hexachlorophène,

k_h = son coefficient de proportionnalité,

A_h = l'aire de son pic,

s = l'étalon choisi,

m_s = sa masse dans le mélange en g,

A_s = l'aire de son pic,

M = la masse de l'échantillon pris en g,

d'où le % en masse d'hexachlorophène dans l'échantillon est égal à :

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

9. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour une teneur en hexachlorophène de 0,1 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,005 %.

DOSAGE DE LA TOSYLCHLORAMIDE SODIQUE (CHLORAMINE T)

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode décrit le dosage de la tosylchloramide sodique totale (chloramine T) dans les produits cosmétiques par chromatographie sur couche mince.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en chloramine T, établie par cette méthode, est exprimée en pourcentage de masse.

3. PRINCIPE

En milieu chlorhydrique à chaud, la chloramine T s'hydrolyse totalement en 4-toluène sulfonamide. La quantité de 4-toluène sulfonamide formée est dosée par photodensitométrie après chromatographie sur couche mince.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Tosylchloramide sodique (chloramine T).

4.2. Solution étalon en 4-toluène sulfonamide : 50 mg de 4-toluène sulfonamide sont dissous dans 100 ml d'éthanol (4.5).

4.3. Acide chlorhydrique 37 % (m/m) $d_4^{20} = 1,18$.

4.4. Diéthyléther.

4.5. Éthanol 96 % (v/v).

4.6. Solvant de développement

4.6.1. Buthanol-1/éthanol 96 % (4.5)/eau (40 - 4 - 9 v/v/v)

ou

4.6.2. Chloroforme/acétone : 6 - 4 v/v.

4.7. Plaques CCM de silicagel 60 sans indicateur fluorescent.

4.8. Permanganate de potassium.

4.9. Acide chlorhydrique à 15 % (m/m).

4.10. Réactif de pulvérisation : solution à 1 % (m/v) de o-toluidine dans l'éthanol (4.5).

5. MATÉRIEL

5.1. Matériel courant de laboratoire.

5.2. Matériel courant pour chromatographie sur couche mince.

5.3. Photodensitomètre.

6. MODE OPÉRATOIRE**6.1. Hydrolyse**

Peser exactement dans un ballon de 50 ml, environ 1 g (m) de l'échantillon, ajouter 5 ml d'eau, 5 ml d'acide chlorhydrique (4.3) et faire bouillir pendant 1 h sous reflux. Transvaser immédiatement la suspension encore chaude avec de l'eau dans une fiole jaugée de 50 ml. Refroidir et compléter au trait de jauge avec de l'eau. Centrifuger au moins 5 min à 3 000 tours/min et filtrer le surnageant.

6.2. Extraction

6.2.1. Prélever 30 ml du filtrat et extraire trois fois par 15 ml de diéthyléther (4.4). Sécher si nécessaire les phases étherées et les recueillir dans une fiole jaugée de 50 ml. Compléter au trait avec du diéthyléther (4.4).

6.2.2. Prélever 25 ml de l'extrait étheré, évaporer à sec sous courant d'azote. Reprendre l'extrait par 1 ml d'éthanol (4.5).

6.3. Chromatographie sous couche mince

6.3.1. Déposer ponctuellement sur une plaque de silicagel 60 (4.7) 20 µl du résidu dissous dans l'éthanol (6.2).

Déposer de la même façon 8, 12, 16 et 20 µl de la solution étalon de 4-toluène sulfonamide (4.2).

6.3.2. Développer ensuite sur une hauteur de 15 cm environ, dans le solvant (4.6.1 ou 4.6.2).

6.3.3. Après évaporation complète du solvant, placer la plaque pendant deux à trois min dans une atmosphère de vapeur de chlore, obtenue en versant environ 100 ml d'acide chlorhydrique (4.9) sur environ 2 g de permanganate de potassium (4.8) dans un récipient fermé. Chasser l'excès de chlore en chauffant la plaque à 100 °C pendant 5 min. Pulvériser le réactif sur la plaque (4.10).

6.4. Mesure

Après 1 h environ, mesurer l'intensité de la coloration des taches violettes par photodensitométrie à 525 nm (5.3).

6.5. Établissement de la courbe d'étalonnage

À partir de la hauteur des pics obtenus, tracer la droite d'étalonnage en fonction des quantités (4, 6, 8, 10 µg) de 4-toluène sulfonamide.

7. REMARQUE

La méthode peut être contrôlée à partir de solutions à 0,1 ou 0,2 % de chloramine T (4.1) traitées dans les mêmes conditions que l'échantillon (6).

8. CALCUL

La teneur de l'échantillon exprimée en pourcentage de masse est calculée à l'aide de la formule suivante :

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

où :

- 1,33 = facteur de conversion de la 4-toluène sulfonamide en chloramine T,
a (μg) = quantité de 4-toluène sulfonamide exprimée en μg contenue dans l'échantillon et lue sur la droite d'étalonnage,
m (g) = masse de la prise d'essai exprimée en grammes.

9. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en chloramine T de l'ordre de 0,2 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,03 %.

DOSAGE DES COMPOSÉS FLUORÉS DANS LES PÂTES DENTIFRICES

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage du fluor total contenu dans les pâtes dentifrices. Elle convient pour des teneurs n'excédant pas 0,25 %.

2. DÉFINITION

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

3. PRINCIPE

Le fluor du composé fluoré est transformé en triéthylfluorosilane (TEFS) par réaction directe avec du triéthylchlorosilane (TECS) en milieu acide, et, simultanément, extrait à l'aide de xylène contenant du cyclohexane comme étalon interne. La solution obtenue est analysée par chromatographie en phase gazeuse.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

4.1. Fluorure de sodium séché à 120 °C jusqu'à masse constante.

4.2. Eau bidistillée ou de qualité équivalente.

4.3. Acide chlorhydrique concentré $d_4^{20} = 1,19$.

4.4. Cyclohexane (CH).

4.5. Xylène ne faisant pas apparaître de pics sur le chromatogramme avant le pic du solvant, lorsqu'il est chromatographié dans les mêmes conditions que les échantillons (6.1). En cas de besoin, purifier par distillation (5.8).

(1) Selon la norme ISO 5725.

- 4.6. Triéthylchlorosilane (TECS Merck ou équivalent).
- 4.7. **Solutions étalons de fluorure**
- 4.7.1. Solution étalon 0,250 mg fluorure/ml. Peser exactement 138,1 mg de fluorure de sodium (4.1) et les dissoudre dans de l'eau (4.2).
Transférer quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 250 ml (5.5). Compléter au trait avec de l'eau (4.2) et mélanger.
- 4.7.2. Solution étalon diluée, 0,050 mg fluorure/ml. Transférer à l'aide d'une pipette 20 ml de la solution (4.7.1) dans une fiole jaugée de 100 ml (5.5). Compléter au trait avec de l'eau (4.2) et mélanger.
- 4.8. **Solution d'étalon interne**
Mélanger 1 ml de cyclohexane (4.4) et 5 ml de xylène (4.5).
- 4.9. **Solution étalon interne de triéthylchlorosilane**
Transférer à l'aide d'une pipette (5.7) 0,6 ml de TECS (4.6) et 0,12 ml de la solution étalon interne (4.8) dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter avec du xylène (4.5) jusqu'au trait de jauge et mélanger. Solution à préparer quotidiennement.
- 4.10. Acide perchlorique 70 % (m/v).
- 4.11. Acide perchlorique 20 % (m/v) dans l'eau (4.2).

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Matériel courant de laboratoire.
- 5.2. Chromatographe en phase gazeuse muni d'un détecteur à ionisation de flamme.
- 5.3. Homogénéiseur Vortex ou équivalent.
- 5.4. Agitateur Buhler type SMB₁ ou équivalent.
- 5.5. Fioles jaugées de 100 à 250 ml en polypropylène.
- 5.6. Tubes à centrifugation de 20 ml en verre avec bouchons à vis recouverts de teflon Sovirel type 611-56 ou équivalent. Nettoyer les tubes et les bouchons comme suit : lessiver pendant plusieurs heures dans de l'acide perchlorique (4.11), rincer à cinq reprises avec de l'eau (4.2) et sécher à 100 °C.
- 5.7. Pipettes réglables susceptibles de fournir des volumes de 50 à 200 µl avec embout plastique à usage unique.
- 5.8. Appareil de distillation muni d'une colonne Schneider à 3 boules ou d'une colonne de Vigreux équivalente.

6. MODE OPÉRATOIRE**6.1. Analyse de l'échantillon**

- 6.1.1. Choisir un tube de pâte dentifrice n'ayant pas encore été ouvert, ouvrir le tube. Transférer la totalité du contenu dans un récipient en plastique, mélanger soigneusement et conserver dans des conditions empêchant la détérioration.
- 6.1.2. Peser exactement environ 150 mg (m) d'échantillon dans un tube à centrifugation (5.6), ajouter 5 ml d'eau (4.2) et homogénéiser (5.3).
- 6.1.3. Ajouter 1 ml de xylène (4.5).
- 6.1.4. Ajouter goutte à goutte 5 ml d'acide chlorhydrique (4.3) et homogénéiser (5.3).
- 6.1.5. Ajouter à l'aide d'une pipette 0,5 ml de solution étalon interne de triéthylchlorosilane (4.9) dans le tube à centrifugation (5.6).
- 6.1.6. Fermer le tube à centrifugation au moyen du bouchon à vis et mélanger soigneusement pendant 45 min à l'aide de l'agitateur (5.4) réglé à 150 secousses/min.
- 6.1.7. Centrifuger pendant 10 min à une vitesse telle que l'on obtienne une séparation nette des phases. Déboucher le tube, recueillir la phase organique et en injecter 3 µl dans la colonne du chromatographe en phase gazeuse (5.2).

Remarque

Il faut environ 20 min pour que tous les composants soient élués.

- 6.1.8. Renouveler l'injection, calculer le rapport moyen de l'aire des pics ATEFS/ACH et lire sur la courbe d'étalonnage (6.3) la quantité de fluorure correspondante en mg (m₁).
- 6.1.9. Calculer la teneur en fluorure totale de l'échantillon en pourcentage de masse de fluorure comme indiqué en 7.

6.2. Conditions chromatographiques**6.2.1. Colonne**

Nature : acier inoxydable.

Longueur : 180 cm.

Diamètre : 3 mm.

Remplissage : Gaschrom Q 80 — 100 mesh.

Phase stationnaire : huile de silicone DC 200 (ou équivalent) : 20 %.

Conditionner la colonne toute une nuit à 100 °C, le débit du gaz vecteur étant 25 ml/min d'azote. Cette opération est répétée chaque nuit.

Toutes les 4 ou 5 injections, reconditionner la colonne par chauffage pendant une demi-heure à 100 °C.

Températures :

colonne : 70 °C,

injecteur : 150 °C,

détecteur : 250 °C.

Gaz vecteur :

azote 35 ml/min.

6.3. Courbe d'étalonnage

- 6.3.1. Introduire au moyen d'une pipette dans une série de six tubes à centrifuger (5.6) 0, 1, 2, 3, 4 et 5 ml de la solution étalon de fluorure diluée (4.7.2). Compléter le volume de chaque tube jusqu'à 5 ml avec de l'eau (4.2).

- 6.3.2. Procéder comme au point 6.1.3 jusqu'à 6.1.6 inclus.
- 6.3.3. Injecter 3 µl de la phase organique dans la colonne du chromatographe en phase gazeuse (5.2).
- 6.3.4. Renouveler l'injection et calculer le rapport moyen de l'aire des pics ATEFS/ACH.
- 6.3.5. Établir une courbe d'étalonnage mettant en relation la masse de fluorure (mg) dans les solutions étalons (6.3.1) et le rapport des aires des pics ATEFS/ACH mesurés en 6.3.4. Tracer la courbe d'étalonnage.

7. CALCUL

La concentration de fluor total dans l'échantillon, en pourcentage de masse est obtenue par la formule suivante :

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

où :

m = fraction d'échantillon en mg (6.1.2),

m₁ = quantité de fluor lue sur la courbe d'étalonnage en mg (6.1.8).

8. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en fluor de l'ordre de 0,15 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,012 %.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DES COMPOSÉS ORGANOMERCURIELS

OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode permet l'identification dans les produits cosmétiques pour les yeux des dérivés organomercuriels utilisés comme agents conservateurs.

Elle est applicable au thiomersal (DCI) [2-(éthylmercuriothio)benzoate de sodium] ainsi qu'au phénylmercure et ses sels.

A. IDENTIFICATION

1. PRINCIPE

Les dérivés organomercuriels sont complexés sous forme de dithizonates. Après extraction des dithizonates par le tétrachlorure de carbone, on procède à une chromatographie sur couche mince de gel de silice. Les taches de dithizonates apparaissent colorées en orange.

2. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

2.1. Acide sulfurique à 25 v/v.

(1) Selon la norme ISO 5725.

- 2.2. Solution de 1,5-diphényl-3-thiocarbazone (dithizone) : 0,8 mg de dithizone dans 100 ml de tétrachlorure de carbone (2.4).
- 2.3. Azote.
- 2.4. Tétrachlorure de carbone.
- 2.5. Solvant de développement : hexane — acétone 90/10 v/v.
- 2.6. Solutions étalons à 0,001 % dans l'eau de :
 - 2-(éthylmercuriothio)benzoate,
 - chlorure d'éthylmercure ou chlorure de méthylmercure,
 - nitrate ou acétate de phénylmercure,
 - dichlorure de mercure ou di(acétate) de mercure.
- 2.7. Plaques de silice G prêtes à l'emploi (Merck 5721 ou équivalent).
- 2.8. Chlorure de sodium.

3. APPAREILLAGE

- 3.1. Matériel courant de laboratoire.
- 3.2. Équipement courant pour chromatographie sur couche mince.
- 3.3. Filtre séparateur de phases.

4. MODE OPÉRATOIRE

4.1. *Extraction*

- 4.1.1. Dans un tube à centrifuger, diluer par trituration un gramme d'échantillon dans 20 ml d'eau distillée. Disperser au maximum en chauffant à 60 °C au bain-marie. Ajouter 4 g de chlorure de sodium (2.8), agiter et laisser refroidir.
- 4.1.2. Centrifuger au moins 20 min à 4 500 tours/min de manière à séparer la majeure partie de la phase solide. Filtrer dans une ampoule à décanter et ajouter 0,25 ml de la solution d'acide sulfurique (2.1).
- 4.1.3. Extraire plusieurs fois par 2 ou 3 ml de solution de dithizone (2.2) jusqu'à ce que la dernière phase organique reste verte.
- 4.1.4. Filtrer sur filtre séparateur de phase (3.3) chaque phase organique.
- 4.1.5. Évaporer à sec sous courant d'azote (2.3).
- 4.1.6. Reprendre par 0,5 ml de tétrachlorure de carbone (2.4). Déposer immédiatement cette solution comme indiqué en 4.2.1.

4.2. **Séparation et identification**

4.2.1. Déposer immédiatement sur la plaque de silice G (2.7) 50 µl de la solution dans le tétrachlorure de carbone obtenue en 4.1.6.

Traiter simultanément comme indiqué en 4.1, 10 ml de solution étalon (2.6) et déposer sur la même plaque 50 µl des solutions obtenues (4.1.6).

4.2.2. Développer la plaque dans le solvant (2.5) sur une hauteur de 15 cm. Les composés organomercuriels apparaissent sous forme de taches colorées dont la coloration est stable à condition de couvrir la plaque immédiatement après évaporation du solvant.

À titre indicatif les Rf obtenus sont :

	Rf	Couleur
Thiomersal	0,33	Orange
Chlorure d'éthylmercure	0,29	Orange
Chlorure de méthylmercure	0,29	Orange
Phénylmercure et ses sels	0,21	Orange
Dichlorure de mercure	0,10	Orange
Di(acétate) de mercure	0,10	Orange
1.5-diphényl-3-thiocarbazone	0,09	Rose

B. DOSAGE1. **DÉFINITION**

La teneur de l'échantillon en composé organomercuriel déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse de mercure.

2. **PRINCIPE**

La méthode consiste en un dosage du mercure total. Il est donc nécessaire d'avoir au préalable constaté l'absence de mercure minéral et identifié le dérivé organomercuriel contenu dans l'échantillon. Après minéralisation humide, le mercure libéré est dosé par absorption atomique sans flamme.

3. **RÉACTIFS**

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Acide nitrique concentré $d_4^{20} = 1,41$.

3.2. Acide sulfurique concentré $d_4^{20} = 1,84$.

3.3. Eau bidistillée.

3.4. Permanganate de potassium : solution à 7 % m/v.

3.5. Chlorure d'hydroxylammonium : solution à 1,5 % m/v.

3.6. Peroxodisulfate de dipotassium : solution à 5 % m/v.

- 3.7. Dichlorure d'étain : solution à 10 % m/v.
- 3.8. Acide chlorhydrique concentré $d_4^{20} = 1,18$.
- 3.9. Laine de verre imprégnée de dichlorure de palladium à 1 % m/m.
4. APPAREILLAGE
- 4.1. Matériel courant de laboratoire.
- 4.2. Appareil pour le dosage du mercure par absorption atomique sans flamme (technique de la vapeur froide) et sa verrerie. Longueur minimale de la cellule de mesure : 10 cm.
5. MODE OPÉRATOIRE
- Prendre toutes précautions utiles pour le dosage des traces de mercure.
- 5.1. **Minéralisation**
- 5.1.1. Peser exactement 150 mg (m) environ d'échantillon. Ajouter 10 ml d'acide nitrique (3.1) et laisser digérer pendant 3 heures au bain-marie à 55 °C dans un flacon bouché hermétiquement en agitant régulièrement. Effectuer parallèlement un essai à blanc.
- 5.1.2. Après refroidissement, ajouter 10 ml d'acide sulfurique (3.2) et replacer 30 min au bain-marie à 55 °C.
- 5.1.3. Placer le flacon dans un bain de glace fondante et ajouter avec précaution 20 ml d'eau (3.3).
- 5.1.4. Ajouter des fractions de 2 ml d'une solution de permanganate de potassium (3.4) jusqu'à ce que le milieu reste coloré. Replacer à nouveau 15 min au bain-marie à 55 °C.
- 5.1.5. Ajouter 4 ml de peroxydisulfate de dipotassium (3.6) et poursuivre le chauffage au bain-marie à 55 °C pendant 30 min.
- 5.1.6. Refroidir et transférer le contenu du flacon dans une fiole jaugée de 100 ml.
Rincer avec 5 ml de chlorure d'hydroxylammonium (3.5) puis avec 4 fois 10 ml d'eau (3.3). Le milieu doit être incolore. Compléter au trait avec de l'eau (3.3).
- 5.2. **Dosage**
- 5.2.1. Prélever 10 ml de la solution de minéralisation (5.1.6) dans le récipient en verre servant au dosage du mercure par la méthode de la vapeur froide (4.2).
Diluer avec 100 ml d'eau (3.3) puis 5 ml d'acide sulfurique (3.2) et 5 ml de dichlorure d'étain (3.7). Mélanger après chaque addition. Attendre 30 s. Les ions Hg^{++} sont réduits en mercure métallique. Effectuer la mesure. Soit n le chiffre noté.
- 5.2.2. Placer de la laine de verre imprégnée de dichlorure de palladium (3.9) entre le récipient de réduction et la cellule de mesure de l'instrument (4.2). Répéter l'opération 5.2.1. Si n n'est pas égal à 0, la minéralisation est incomplète et l'analyse doit être recommencée.

6. CALCULS

La teneur de l'échantillon exprimée en mercure en pourcentage de masse est calculée à l'aide de la formule :

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

où :

n = quantité de mercure en µg lue sur l'appareil,

m = masse en mg de la prise d'essai.

7. REMARQUES

7.1. Pour améliorer la minéralisation il peut être nécessaire de procéder préalablement à une dilution de la prise d'essai.

7.2. Dans le cas où on soupçonnerait une fixation du mercure par adsorption sur le substrat il sera nécessaire de procéder à un dosage par addition étalon.

8. RÉPÉTABILITÉ ⁽¹⁾

Pour des teneurs en mercure de 0,007 %, la différence entre les résultats de 2 dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,00035.

DOSAGE DES SULFURES ALCALINS ET ALCALINOTERREUX**1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**

La méthode décrit le dosage des sulfures dans les produits cosmétiques. La présence de thiols ou d'autres substances réductrices (y compris les sulfites) n'interfère pas.

2. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en sulfure déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de masse de soufre.

3. PRINCIPE

Après acidification du milieu, l'hydrogène sulfureux formé est entraîné par un courant d'azote, puis fixé sous forme de sulfure de cadmium. Celui-ci, après filtration et rinçage est dosé par iodométrie.

4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

⁽¹⁾ Selon la norme ISO 5725.

- 4.1. Acide chlorhydrique concentré $d_4^{20} = 1,19$
- 4.2. Solution titrée de thiosulfate de sodium 0,1 N.
- 4.3. Solution d'iode 0,1 N.
- 4.4. Sulfure de disodium.
- 4.5. Di(acétate) de cadmium.
- 4.6. Ammoniaque concentrée $d_4^{20} = 0,90$.
- 4.7. Solution ammoniacale de di(acétate) de cadmium : dissoudre 10 g de di(acétate) de cadmium (4.5) dans 50 ml d'eau environ, ajouter l'ammoniaque (4.6) jusqu'à redissolution du précipité (environ 20 ml) et compléter à 100 ml avec de l'eau.
- 4.8. Azote.
- 4.9. Solution d'ammoniaque M.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Matériel courant de laboratoire.
- 5.2. Ballon de 100 ml à trois cols rodés normalisés.
- 5.3. Deux fioles coniques de 150 ml à cols rodés munis d'un dispositif comportant un tube plongeur et une tubulure latérale pour le dégagement du gaz d'entraînement.
- 5.4. Entonnoir à longue tige.

6. MODE OPÉRATOIRE

6.1. *Entraînement des sulfures*

- 6.1.1. Choisir un conditionnement n'ayant pas été ouvert. Peser exactement dans le ballon (5.2) une quantité de produit correspondant au maximum à 30 mg d'ions sulfures. Introduire 60 ml d'eau et deux gouttes de liquide antimousse.
- 6.1.2. Dans chacune des deux fioles coniques (5.3), introduire 50 ml de la solution (4.7).
- 6.1.3. Adapter sur le ballon (5.2) une ampoule, le tube plongeur et le tube à dégagement (5.3). Connecter à l'aide d'un tuyau en PVC le tube à dégagement aux deux fioles coniques placées en série (5.3).

NB : Vérifier l'étanchéité du montage de la façon suivante : dans les conditions de l'essai, remplacer le produit à doser par 10 ml d'une solution de sulfure préparée à partir de (4.4) contenant X mg de sulfure (déterminé par iodométrie). Soit Y le nombre de mg de sulfure trouvé en fin de manipulation. L'écart entre ces 2 quantités X et Y ne doit pas être supérieur à 3 %.

- 6.1.4. Faire passer l'azote (4.8) à un débit de deux bulles par seconde pendant 15 min pour chasser l'air contenu dans le ballon (5.2).
- 6.1.5. Chauffer le ballon à $85^{\circ} \pm 5^{\circ}\text{C}$.
- 6.1.6. Arrêter le débit d'azote et verser goutte à goutte 40 ml d'acide chlorhydrique (4.1).
- 6.1.7. Rétablir le courant d'azote (4.8) lorsque la quasi-totalité de l'acide s'est écoulée en laissant dans l'ampoule un joint liquide minimum pour éviter les fuites d'hydrogène sulfuré.
- 6.1.8. Arrêter le chauffage après 30 min et laisser refroidir le ballon (5.2) en continuant à faire passer le courant d'azote (4.8) pendant au moins 1 h 30.

6.2. **Titration**

- 6.2.1. Filtrer le sulfure de cadmium sur filtre placé dans l'entonnoir à longue tige (5.4).
- 6.2.2. Rincer les fioles coniques (5.3) d'abord avec une solution ammoniacale M (4.9) et la verser sur le filtre; rincer ensuite à l'eau et utiliser cette eau pour laver le précipité retenu sur le filtre.
- 6.2.3. Terminer le lavage du précipité avec 100 ml d'eau.
- 6.2.4. Mettre le filtre en papier dans la première fiole conique ayant contenu le précipité. Ajouter 25 ml (n_1) de la solution d'iode 0,1 N (4.3), environ 20 ml d'acide chlorhydrique (4.1), et 50 ml d'eau.
- 6.2.5. Doser l'iode en excès par la solution titrée de thiosulfate de sodium 0,1 N (4.2). Soit n_2 le nombre de ml utilisé.

7. **CALCUL**

La teneur de l'échantillon exprimée en soufre en pourcentage de masse est calculée à l'aide de la formule suivante :

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

où :

- n_1 = nombre de ml de la solution titrée d'iode utilisée (4.3),
 x_1 = normalité de cette solution,
 n_2 = nombre de ml de la solution titrée de thiosulfate de sodium (4.2),
 x_2 = normalité de cette solution,
 m = masse de la prise d'essai (6.1.1) exprimée en g.

8. **RÉPÉTABILITÉ (1)**

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

(1) Selon la norme ISO 5725.