

## MINISTERIE VAN VOLKSGEZONDHEID EN VAN HET GEZIN

N. 86 — 335

**5 NOVEMBER 1985.** — Koninklijk besluit tot aanvulling van het koninklijk besluit van 26 november 1981 betreffende de modaliteiten van monsterneming van cosmetica in oorspronkelijke verpakking en betreffende referentieanalysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetica te controleren.

BOUDEWIJN, Koning der Belgen,  
Aan allen die nu zijn en hierna wezen zullen, Onze Groot.

Gelet op de wet van 24 januari 1977 betreffende de bescherming van de gezondheid van de verbruikers op het stuk van de voedingsmiddelen en andere produkten, inzonderheid op artikel 12;

Gelet op de derde richtlijn van de Commissie van de Europese Gemeenschappen 83/514/EEG van 27 september 1983 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der Lid-Staten inzake analysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetica te controleren;

Gelet op het koninklijk besluit van 26 november 1981 betreffende de modaliteiten van monsterneming van cosmetica in oorspronkelijke verpakking en betreffende referentieanalysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetica te controleren, gewijzigd door het koninklijk besluit van 19 februari 1985;

Gelet op de wetten op de Raad van State, gecoördineerd op 12 januari 1973, inzonderheid op artikel 3, § 1, gewijzigd bij de wet van 9 augustus 1980.

Gelet op de dringende noodzakelijkheid;

Overwegende dat de hoogdringendheid verantwoord is door de toepassingstermijn welke dwingend is;

Op de voordracht van Onze Minister van Sociale Zaken en van Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid en Leefmilieu.

Hebben Wij besloten en besluiten Wij :

**Artikel 1.** De bijlage onder B van het koninklijk besluit van 26 november 1981 betreffende de modaliteiten van monsterneming van cosmetica in oorspronkelijke verpakking en betreffende referentieanalysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmetica te controleren wordt met de analysemethoden, opgenomen in bijlage van dit besluit, aangevuld.

**Art. 2.** Onze Minister van Sociale Zaken en Onze Staatssecretaris voor Volksgezondheid en Leefmilieu zijn belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 5 november 1985.

BOUDEWIJN

Van Koningswege :  
De Minister van Sociale Zaken,  
J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid en Leefmilieu,

F. AERTS

## MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE LA FAMILLE

F. 86 — 335

**5 NOVEMBRE 1985.** — Arrêté royal complétant l'arrêté royal du 26 novembre 1981 relatif aux modalités de prélèvement des échantillons de produits cosmétiques conditionnés dans leur emballage d'origine et relatif aux méthodes d'analyse de référence nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques.

BAUDOUIN, Roi des Belges,  
A tous, présents et à venir, Salut.

Vu la loi du 24 janvier 1977 relative à la protection de la santé des consommateurs en ce qui concerne les denrées alimentaires et les autres produits, notamment l'article 12;

Considérant la troisième directive de la Commission des Communautés européennes 83/514/C.E.E. du 27 septembre 1983 concernant le rapprochement des législations des États-membres relatives aux méthodes d'analyse nécessaire au contrôle de la composition des produits cosmétiques;

Vu l'arrêté royal du 26 novembre 1981 relatif aux modalités de prélèvement des échantillons de produits cosmétiques conditionnés dans leur emballage d'origine et relatif aux méthodes d'analyse de référence nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques;

Vu les lois sur le Conseil d'Etat, coordonnées le 12 janvier 1973, notamment l'article 3, § 1er, modifié par la loi du 9 août 1980;

Vu l'urgence;

Considérant que l'urgence se justifie par le délai d'application qui est impératif;

Sur la proposition de Notre Ministre des Affaires sociales et de Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique et à l'Environnement,

Nous avons arrêté et arrêtons :

**Article 1er.** L'annexe sous B de l'arrêté royal du 26 novembre 1981 relatif aux modalités de prélèvement des échantillons de produits cosmétiques conditionnés dans leur emballage d'origine et relatif aux méthodes d'analyse de référence nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques, modifié par l'arrêté royal du 19 février 1985, est complété par les méthodes d'analyse fixées en annexe du présent arrêté.

**Art. 2.** Notre Ministre des Affaires sociales et Notre Secrétaire d'Etat à la Santé publique et à l'Environnement sont chargés de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 5 novembre 1985.

BAUDOUIN

Par le Roi :  
Le Ministre des Affaires sociales,  
J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique  
et à l'Environnement,

F. AERTS

## Bijlage

## XIII. BEPALING VAN DICHOORMETHAAN EN 1,1,1-TRICHOORETHAAN

## 1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de gaschromatografische bepaling van dichloormethaan (methylencchloride) en 1,1,1-trichloorethaan in cosmetische produkten.

## 2. DEFINITIE

Het volgens dit voorschrift bepaalde dichloormethaan- en/of 1,1,1-trichloorethaangehalte wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) van de waar.

## 3. PRINCIPE

De bepaling geschiedt gaschromatografisch met gebruik van chloroform als interne standaard.

## 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

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

4.2. Tetrachloorkoolstof ( $\text{CCl}_4$ ).

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

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

4.5. Aceton.

4.6. Stikstof.

## 5. TOESTELLEN EN HULPMIDDELEN

5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparaten.

5.2. Gaschromatograaf met een katharometerdetector.

5.3. Bemonsteringsfles 50-100 ml (zie Bemonsteringsdocument, hoofdstuk 5.3) (1).

5.4. Injectiespuit voor gassen 25  $\mu\text{l}$  of 50  $\mu\text{l}$  (zie Bemonsteringsdocument, hoofdstuk 5.4.2.2) (1).

## 6. WERKWIJZE

6.1. Monsters, geen aerosolen

Weeg nauwkeurig een hoeveelheid van het monster af in een erlenmeyer met geslepen stop. Voeg als interne standaard toe een nauwkeurig gewogen hoeveelheid chloroform (4.1), die ongeveer gelijk moet zijn aan de vermoedelijke hoeveelheid dichloormethaan of 1,1,1-trichloorethaan in het monster. Meng.

- 6.2. **Aerosolmonsters**  
 Volg de werkwijze zoals omschreven in het Bemonsteringsdocument met de volgende aanvullingen:
- 6.2.1. Weeg nauwkeurig een hoeveelheid van het monster in het bemonsteringsflesje (5.3) af. Voeg een hoeveelheid — ongeveer gelijk aan de vermoedelijke hoeveelheid dichloormethaan en/of 1,1,1-trichloorethaan — chloroform (4.1) toe als interne standaard. Meng. Spoel de dode ruimte van het aerosolventiel van de bemonsteringsfles af met circa 0,5 ml tetrachloorkoolstof (4.2) en laat deze spoelvloeistof vervolgens verdampen. Bepaal nauwkeurig door verschilweging de massa van de interne standaard.
- 6.2.2. Na het inbrengen van het monster in de injectiespuit moet, alvorens in te spuiten, de dode ruimte van het teflonuiteinde van de spuit met stikstof worden schoongespoeld.
- 6.2.3. Reinig na iedere monsternamen met behulp van een injectiespuit de uiteinden van het ventiel of van de koppelstukken meerdere malen met aceton en droog ze vervolgens grondig met stikstof (4.6).
- 6.2.4. Voor elke analyse moeten metingen worden verricht op twee verschillende bemonsteringsflessen en wel vijf metingen per bemonsteringsfles.

## 7. GASCHROMATOGRAFISCHE CONDITIES

### 7.1. *Voorkolom*

materiaal: roestvrij staal,  
 diameter: 4 mm of 6 mm,  
 lengte: 30 cm,  
 vulling: Chromosorb (4.4).

### 7.2. *Kolom*

Vulling: stearamide (4.3) b.v. Hallcomid M 18 op Chromosorb (4.4). De resolutiegraad R moet ten minste 1,5 bedragen.

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

waarin:

$r_1$  en  $r_2$  de retentietijden in minuten,  
 $W_1$  en  $W_2$  de pickbreedten op halve hoogten,  
 $d'$  de papersnelheid in mm/minuut.

### 7.3. De volgende kolommen I en II geven bij voorbeeld de verlangde resultaten:

<i>Kolom</i>	<i>I</i>	<i>II</i>
Materiaal:	roestvrij staal	roestvrij staal
Lengte:	3,50 m	4 m
Diameter:	3 mm	6 mm
Vulling:		
chromosorb	WAW	WAW DMCS-HP
korrelgrootte	100-120 mesh	60-80 mesh
Stearamide:	Hallcomid M 18	Hallcomid M 18
	10 %	20 %
Temperaturen:		
Kolom:	65 °C	75 °C
Injector:	150 °C	125 °C
Detector:	150 °C	200 °C
Debiet van het Echuugas	4,5 ml/min	6,0 ml/min
met een beugelsok van	2,5 bar	2,0 bar
Injectie	15 µl	15 µl

## 8. MENGSEL VOOR DE BEPALING VAN DE RESPONSIEFACTOREN

Bereid het volgende mengsel door nauwkeurige weging in een erlenmeyer met geslepen stop:

Dichloormethaan 30 % m/m,

1,1,1-Trichloorethaan 35 % m/m,

Chloroform 35 % m/m.

## 9. BEREKENING

9.1. *Bepaling van de responsiefactor van stof p met betrekking tot de interne standaard a*

$$k_p = \frac{m_p \cdot S_a}{m_a \cdot S_p}$$

waarin voor de stof p gelden:

$k_p$  responsiefactor,

$m_p$  de massa in het mengsel (8),

$S_p$  piekoppervlak,

en voor de interne standaard a:

$k_a$  de responsiefactor (per definitie = 1),

$m_a$  de massa in het mengsel (8),

$S_a$  piekoppervlak.

Bereken vervolgens het gemiddelde  $\bar{m}$ :

$$\bar{m} = X \pm mt$$

Als voorbeelden zijn de volgende responsiefactoren verkregen:

Dichloormethaan:  $k = 0,78 \pm 0,03$

1,1,1-Trichloorethaan:  $k = 1 \pm 0,03$

(voor chloroform  $k = 1$ )

9.2. *Berekening van het gehalte*

$$\% \text{ (m/m) Dichloormethaan} = \frac{m(\text{CHCl}_3) \cdot S(\text{CH}_2\text{Cl}_2) \cdot k(\text{CH}_2\text{Cl}_2) \cdot 100}{S(\text{CHCl}_3) \cdot m(\text{monster})}$$

$$\% \text{ (m/m) 1,1,1-Trichloorethaan} = \frac{m(\text{CHCl}_3) \cdot S(\text{CH}_3\text{CCl}_3) \cdot k(\text{CH}_3\text{CCl}_3) \cdot 100}{S(\text{CHCl}_3) \cdot m(\text{monster})}$$

Bereken (evenals onder 9.1) het gemeten interval van het gemiddelde.

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

Voor monsters met een dichloormethaan en/of 1,1,1-trichloorethaangehalte van 25 % mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 2,5 % bedragen.

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.

## XIV. IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN 8-HYDROXYCHINOLEÏNE EN ZIJN SULFAAT

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van 8-hydroxychinoleïne en zijn sulfaat.
2. **DEFINITIE**

Het volgens dit voorschrift bepaalde gehalte wordt uitgedrukt in massa procenten (m/m) 8-hydroxychinoleïne.
3. **PRINCIPE**
  - 3.1. *Identificatie*

De identificatie wordt middels dunnelangchromatografie uitgevoerd.
  - 3.2. *Bepaling*

De bepaling wordt uitgevoerd door kleurmeting bij 410 nm van het verkregen complex met Fehling reagens.
4. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

  - 4.1. 8-Hydroxychinoleïne.
  - 4.2. Benzene (Gezien het giftig karakter van het produkt de gepaste voorzorgen nemen).
  - 4.3. Chloroform.
  - 4.4. Natriumhydroxideoplossing, 50 % (m/m).
  - 4.5. Kopersulfaat ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ).
  - 4.6. Kalium natrium tartraat.
  - 4.7. Zoutzuur, 1 N.
  - 4.8. Zwavelzuur, 1 N.
  - 4.9. Natriumhydroxide, 1 N.
  - 4.10. Ethanol.
  - 4.11. 1-Butanol.
  - 4.12. Ijsazijn.

- 4.13. Zoutzuur, 0,1 N.
- 4.14. Celite 545 of equivalent produkt.
- 4.15. *Standaardoplossingen*
- 4.15.1. Breng 100,0 mg 8-hydroxychinoline (4.1) over in een maatkolf van 100 ml en los het op in een kleine hoeveelheid zwavelzuur (4.8). Vul aan met zwavelzuur (4.8) tot 100 ml en meng.
- 4.15.2. Breng 100,0 mg 8-hydroxychinoline (4.1) over in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul tot 100 ml aan met ethanol (4.10). Meng.
- 4.16. *Fekling reagens*
- Oplossing A:*  
Weeg 7,0 g kopersulfaat (4.5) af en breng dit over in een maatkolf van 100 ml. Los het op in wat water en vul vervolgens aan tot 100 ml. Meng.
- Oplossing B:*  
Weeg 35,0 g kalium natrium tartraat (4.6) af en breng dit over in een maatkolf van 100 ml. Los dit op in ca. 50 ml water. Voeg 20 ml natriumhydroxideoplossing (4.4) toe en vul aan met water tot 100 ml. Meng.
- Bereiding:*  
Vlak voor het gebruik wordt de reagens als volgt bereid: pipetteer 10 ml van oplossing A en 10 ml van oplossing B in een maatkolf van 100 ml. Vul aan met water tot 100 ml en meng.
- 4.17. *Loopvloeistoffen voor dunnelaagchromatografie*
- Loopvloeistof I: 1-Butanol — Ijszijn — Water (80-20-20, v/v/v),  
Loopvloeistof II: Chloroform — Ijszijn (95-5, v/v).
- 4.18. 2,6-dichloor-4-(chloorimino)cyclohexa-2,5-dienon, 1 % in ethanol (4.10).
- 4.19. Natriumcarbonaatoplossing, 1 % in water (m/v).
- 4.20. Ethanol, (4.10) 30 % (v/v) oplossing in water.
- 4.21. Dinatriumdihydrogeenethyleendiaminetetra-acetaatoplossing, 5 % (m/v) in water.
- 4.22. *Bufferoplossing van pH 7*
- Breng 27 gram  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en 70 gram  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  over in een maatkolf van 1 liter. Los op en vul aan met water tot 1 liter.
- 4.23. *Kant en klare dunnelaagplaten van 0,25 mm dikte (Kieselgel 60 Merck of gelijkwaardige platen)*
- Voor het gebruik worden de platen besproeid met 10 ml dinatriumedetaatoplossing (4.21) en vervolgens bij 80 °C gedroogd.
5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Rondbodempolven van 100 ml (met inslijpstuk).
- 5.2. Maatkolven, 100 ml en 1 liter.
- 5.3. Maatpipetten, 5 en 10 ml.

- 5.4. Volpipetten, 5 - 10 - 15 - 20 ml.
- 5.5. Scheitrechters, 25 - 50 - 100 ml.
- 5.6. Vouwfilters, diameter 9 cm.
- 5.7. Roterende verdamer.
- 5.8. Terugvloekoelers (met inslijpstuk).
- 5.9. Spectrophotometer.
- 5.10. Cuvetten met 1 cm weglengte.
- 5.11. Schudapparaat met verwarming.
- 5.12. Kolommen voor chromatografie, 160 × 8 mm, voorzien van glaswolafdichting zowel aan de boven- als aan de onderzijde, en geschikt voor elutie onder druk.

## 6. WERKWIJZE

### 6.1. *Identificatie*

#### 6.1.1. *Vloeibare produkten*

- 6.1.1.1. Breng de pH van het monster op 7.  
Op de voorbehandelde kieselgelplaat (4.23) worden 5 en 10 µl ervan op de startlijn aangebracht.
- 6.1.1.2. Breng vervolgens op dezelfde dunnelaagplaat aan: 10 en 30 µl van de standaardoplossing 4.15.2. Ontwikkel de plaat met een der beide loopvloeistoffen (4.17).
- 6.1.1.3. Nadat het vloeistoffront een afstand van 15 cm heeft bereikt, wordt de plaat bij 110 °C gedroogd gedurende 15 minuten. Onder een UV-lamp (366 nm) fluoresceren 8-hydroxychinoleïnevlekken geel.
- 6.1.1.4. Besproei de plaat vervolgens met een natriumcarbonaatoplossing (4.19). Droog de plaat en besproei met een 2,6-dichloor-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienoplossing (4.18). 8-Hydroxychinoleïne wordt als een blauwe vlek zichtbaar.

#### 6.1.2. *Vaste produkten en crèmes*

- 6.1.2.1. Suspendeer 1 gram van het monster in 5 ml pH-7 bufferoplossing (4.22). Breng het mengsel over met behulp van 10 ml chloroform (4.3) in een scheitrechter en schud. Verwijder de chloroformlaag. Herhaal de extractie met 2 × 10 ml chloroform. Verzamel de chloroformextracten en damp het tot bijna droog in een roterende verdamer (5.7). Los het residu op in 2 ml chloroform. Met deze oplossing wordt de dunnelaagchromatografie uitgevoerd zoals beschreven onder 6.1.1.1, daarbij worden respectievelijk 10 en 30 µl van het verkregen extract op de dunnelaagplaat aangebracht.
- 6.1.2.2. De dunnelaagchromatografie wordt vervolgens uitgevoerd volgens 6.1.1.2, 6.1.1.3, 6.1.1.4.

### 6.2. *Bepaling*

#### 6.2.1. *Vloeibare produkten*

- 6.2.1.1. Weeg 5,0 gram van het monster in een rondbodemkolf van 100 ml (5.1). Voeg toe 1 ml zwavelzuur 1 N (4.8). Damp het verkregen mengsel bij 50 °C en onder verminderde druk in, totdat het bijna droog is.

- 6.2.1.2. Los het residu op in 20 ml warm water. Breng het over in een maatkolf van 100 ml en spoel nog na met telkens 20 ml water. Vul aan tot 100 ml en meng.
- 6.2.1.3. Pipetteer 5 ml van de verkregen oplossing in een scheitrechter van 50 ml (5.5). Voeg toe 10 ml Fehling reagens (4.16). Meng. Extraheer de verkregen kleur complex met 3 x 8 ml chloroform.
- 6.2.1.4. Breng de verzamelde chloroformlagen over in een maatkolf van 25 ml (5.2). Vul aan met chloroform (4.3) tot 25 ml. Meet de optische dichtheid bij 410 nm tegen chloroform.
- 6.2.2. *Vaste produkten en crèmes*
- 6.2.2.1. Weeg nauwkeurig ca. 0,500 gram van het produkt in een rondbodempkolf (5.1). Voeg toe 30 ml benzeen (4.2) en 20 ml zoutzuur 1 N (4.7). Verwarm gedurende 30 minuten onder terugvloei-cooling.
- 6.2.2.2. Breng het mengsel over in een scheitrechter van 100 ml (5.5). Spoel nog na met 5 ml zoutzuur 1 N (4.7). Breng de waterige laag over in een rondbodempkolf (5.1). Was de benzeenlaag uit met 5 ml zoutzuur 1 N (4.7), en voeg de waterige laag nog toe aan het extract in de rondbodempkolf. Werk verder als aangegeven onder 6.2.2.4.
- 6.2.2.3. Indien emulsievorming de bewerking onder 6.2.2.1 en 6.2.2.2 bemoeilijkt, moet als volgt worden gewerkt: Meng 0,500 gram van het produkt met 2 gram Celite 545 (4.14) tot een rul poeder wordt verkregen. Breng dit in kleine hoeveelheden over in een chromatografiekolom (5.12). Stamp na elke toevoeging de poeder in de kolom wat aan. Elueer, zondig onder geringe overdruk, met zoutzuur 0,1 N (4.13), waarbij 10 ml eluaat na ca. 10 minuten moet worden verkregen. In geen geval mag de inhoud van de kolom gedurende de elutie niet droog komen te staan. De eerste 10 ml van het eluaat wordt verder verwerkt als aangegeven onder 6.2.2.4.
- 6.2.2.4. De waterige fasen (6.2.2.2) of eluaten (6.2.2.3) worden onder verminderde druk in een roterende verdamp(er) ingedamp(t), totdat ze bijna droog zijn.
- 6.2.2.5. Los het residu op in 6 ml natriumhydroxideoplossing 1 N (4.9). Voeg 20 ml Fehling reagens (4.16) toe en breng het mengsel over in een scheitrechter van 50 ml (5.5). Spoel de kolf nog met 8 ml chloroform (4.3) na en breng dit ook over in de scheitrechter. Schud en breng na de scheiding der lagen de chloroformfractie via een vouwfilter (5.6) over in een maatkolf van 50 ml (5.2).
- 6.2.2.6. De extractie van de waterige laag wordt nog herhaald met 3 x 8 ml chloroform (4.3). Vul de verzamelde (en gefiltreerde) chloroformoplossingen aan tot 50 ml en meng. Meet de optische dichtheid bij 410 nm tegen chloroform.

## 7. IJKLIJN

Pipetteer in rondbodempkolven van 100 ml (5.1) respectievelijk 3 ml ethanol 30 % (4.20) en 5, 10, 15, 20 ml van de standaardoplossing 4.15.1. Voer de bewerkingen uit als beschreven onder 6.2.1. Teken de ijklijn met de verkregen waarden.

## 8. BEREKENING

### 8.1. *Vloeibare produkten*

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

waarbij:

a: mg 8-hydroxychinoleïne volgens de ijklijn (7)

m: mg massa ingewogen monster (6.2.2.1).



- 8.2. *Vaste produkten en crèmes*  
 8-Hydroxychinoleïne % (m/m) ...  $\frac{2a \times 100}{m}$   
 waarbij:  
 a: mg 8-hydroxychinoleïne volgens de ijklijn (7)  
 m: mg massa ingewogen monster (6.2.2.1).

9. **HERHAALBAARHEID (1)**

Bij een 8-hydroxychinoleïnegehalte van ca. 0,3 % mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,02 % bedragen.

**XV. KWANTITATIEVE BEPALING VAN AMMONIAK**

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de bepaling van het vrije ammoniak in cosmetische produkten.

2. **DEFINITIE**

Het gehalte aan ammoniak wordt uitgedrukt in massaprocenten (% m/m)  $\text{NH}_3$ .

3. **BEGINSEL**

Een oplossing van bariumchloride wordt — in methanol/water milieu — toegevoegd aan het monster. Na koeling bij 5 °C wordt het mengsel gefiltreerd. Hierbij worden allerlei ammoniumzouten (zoals het carbonaat, hydrogeencarbonaat, vetzuren; echter niet acetaat) verwijderd. Het vrije ammoniak wordt vervolgens uit het filtraat afgedistilleerd en tenslotte in het desillaat potentiometrisch bepaald.

4. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. **Methanol.**

4.2. **Bariumchloride  $2\text{H}_2\text{O}$ , 25 % (m/v) oplossing in water.**

4.3. **Boorzuur, 4 % (m/v) oplossing in water.**

4.4. **Zwavelzuuroplossing 0,5 N, van bekende titer.**

4.5. **Vloeibaar antischuimmiddel.**

4.6. **Natriumhydroxide 0,5 N van bekende titer.**

4.7. **Indicator: meng 5 ml methylrood 0,1 % in ethanol met 2 ml methyleenblauw 0,1 % in water.**

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

## 5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Centrifuge met af te sluiten centrifugebuizen.
- 5.3. Stoomdestillatie-apparaat.
- 5.4. Potentiograaf.
- 5.5. Glau-elektrode; dikwikdichloride (calomel) elektrode.

## 6. WERKWIJZE

- 6.1. Weeg nauwkeurig in een maatkolf van 100 ml een hoeveelheid monster ( $m$  in mg) af dat overeenkomt met ten hoogste 150 mg  $\text{NH}_3$ .
- 6.2. Voeg achtereenvolgens toe: 10 ml water, 10 ml methanol en 10 ml bariumchlorideoplossing (4.2). Meng. Vul aan met methanol tot de streep en meng.
- 6.3. Koel gedurende een nacht bij 5 °C.
- 6.4. Filtreer of centrifugeer in afgesloten buizen gedurende ca. 10 minuten de nog koude oplossing. Gebruik de heldere oplossing voor de destillatie.
- 6.5. Breng met behulp van een pipet 40,0 ml van de verkregen oplossing in het destillatieapparaat (5.3) en voeg 0,5 ml antischuimmiddel (4.5) toe.
- 6.6. Destilleer en verzamel ca. 200 ml destillaat. Deze wordt opgevangen in een bekeerglas van 250 ml met 10,0 ml zwavelzuur van bekende titer (4.4) en 0,1 ml indicator (4.7).
- 6.7. Titreer de overmaat zwavelzuur met natriumhydroxide van bekende titer (4.6).
- 6.8. *NB:* Indien het afgedestilleerde ammoniak potentiometrisch wordt bepaald, moet bij de destillatie het ammoniak worden opgevangen in 25 ml boorzuuroplossing (4.3) en vervolgens getitreerd met 0,5 N zwavelzuur van bekende titer (4.4).

## 7. BEREKENING

7.1. *Bepaling via terugtitratie*

Voor de berekening geldt de volgende formule:

$$\% (m/m) \text{NH}_3 = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) \times 17 \times 100}{0,4 m} = \frac{(10 T_2 - V_1 T_1) 4 250}{m}$$

waarbij:

$V_1$ : ml NaOH 0,5 N (4.6) verbruikt bij de titratie onder 6.7,

$T_1$ : de correctiefactor voor de titer van de verbruikte NaOH (4.6),

$T_2$ : de correctiefactor voor de titer van het gebruikte zwavelzuur (4.4),

$m$ : massa in mg van de monsterinweeg (6.1).

7.2. *Potentiometrische bepaling*

Voor de berekening geldt de volgende formule:

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

waarbij:

$V_2$ : ml zwavelzuur 0,5 N (4.4) verbruikt bij de titratie onder 6.8,

$T_2$ : de correctiefactor voor de titer van het gebruikte zwavelzuur (4.4),

$m$ : massa in mg van de monsterinweeg (6.1).

8. **HERHAALBAARHEID (1)**

Voor een gehalte van ca. 6 % vrij  $\text{NH}_3$  mag het verschil van de uitkomsten van twee parallel uitgevoerde bepalingen op hetzelfde monster niet meer bedragen dan 0,6 %.

**XVI. IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN NITROMETHAAN**1. **DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode is toepasbaar voor alle cosmetische aerosolproducten met een gehalte van circa 0,3 % nitromethaan.

2. **DEFINITIE**

Het volgens dit voorschrift bepaalde gehalte wordt uitgedrukt in massa procenten (m/m) nitromethaan berekend op de totale inhoud van de aerosol.

3. **PRINCIPE**

Nitromethaan wordt geïdentificeerd met een kleurreactie. De bepaling geschiedt met behulp van gaschromatografie na toevoeging van een interne standaard.

4. **IDENTIFICATIE**4.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

## 4.1.1. Natriumhydroxide 0,5 N.

4.1.2. *Fohn reagens*

Los 0,1 g van natrium 1,2-naftochinonsulfonaat op in 100 ml water.

4.2. *Werkwijze*

Voeg 10 ml van 4.1.1 en 1 ml van 4.1.2 toe aan 1 ml van het monster. Bij aanwezigheid van nitromethaan ontstaat een violette kleur.

5. **BEPALING**5.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 5.1.1. Chloroform (interne standaard 1).
- 5.1.2. 2,4-Dimethylheptaan (interne standaard 2).
- 5.1.3. Ethanol 95 %.
- 5.1.4. Nitromethaan.
- 5.1.5. *Interne standaardoplossing met chloroform.*  
Breng ca. 650 mg chloroform (5.1.1) in een vooraf getarreeerde maatkolf van 25 ml. Weeg de kolf met chloroform. Vul aan met ethanol (5.1.3) tot de merkstreep. Weeg opnieuw. Bereken het massa percentage van de verkregen chloroformoplossing.
- 5.1.6. *Interne standaardoplossing met 2,4-dimethylheptaan*  
Bereid een oplossing van ca. 270 mg 2,4-dimethylheptaan (5.1.2) in ethanol op dezelfde manier als is aangegeven onder 5.1.5.
- 5.2. *Apparatuur en hulpmiddelen*
- 5.2.1. Gaschromatograaf met een vlamionisatiedetector.
- 5.2.2. Hulpmiddelen voor de bemonstering van aerosolen (bemonsteringsfles, injectie-puit voor gassen, koppelstukken, etc.) zoals beschreven in hoofdstuk II van de bijlage van de Eerste Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie (1).
- 5.2.3. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.3. *Werkwijze*
- 5.3.1. *Bereiding van het monster*  
Breng op de in bijlage II van de Eerste Richtlijn 80/1335/EEG van de Commissie aangegeven wijze in een vooraf getarreeerde bemonsteringsfles van 100 ml ca. 5 ml van een der oplossingen 5.1.5 of 5.1.6. Weeg opnieuw om de ingebrachte hoeveelheid precies vast te stellen. Breng op dezelfde wijze ca. 50 ml van de aerosol en weeg nogmaals om de ingebrachte hoeveelheid monster precies vast te stellen (M gram). Meng nauwkeurig. Injecteer 10 µl met behulp van de micro-injectiepuitspuit voor gassen (5.2.2) in de gaschromatograaf. Herhaal de injecties nog vier maal.
- 5.3.2. *Bereiding van de standaardoplossing*  
Weeg in een maatkolf van 50 ml nauwkeurig ca. 500 mg van nitromethaan (5.1.4) met 500 mg chloroform (5.1.1) of ca. 210 mg 2,4-dimethylheptaan (5.1.2). Vul met ethanol (5.1.3) aan tot de merkstreep. Meng nauwkeurig. Pipetteer 5 ml van de verkregen oplossing in een maatkolf van 20 ml en vul aan met ethanol (5.1.3) tot de merkstreep. Meng nauwkeurig. Injecteer ca. 10 µl met behulp van de micro-injectiepuitspuit voor gassen (5.2.2) in de gaschromatograaf en herhaal dit nog vier maal.
- 5.3.3. *Gaschromatografische condities*
- 5.3.3.1. Kolom  
De kolom bestaat uit een voorstuk gevuld met didecylftalaat op Gaschrom Q als stationaire fase, en een tweede stuk gevuld met Ucon 50HB 280X op Gaschrom Q als stationaire fase.

De kolom moet onder de gebruikte omstandigheden een resolutiegraad  $R$  bezitten van 1,2 of meer, waarbij

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

en

$r_1$  en  $r_2$  = retentietijden in minuten,  
 $w_1$  en  $w_2$  = breedte der pieken op halve hoogte in mm,  
 $d'$  = papiersnelheid van de recorder in mm/minuut.

De volgende condities voldoen bij voorbeeld aan de genoemde voorwaarden:

Vorstuk:

materiaal: roestvrij staal,  
 lengte: 1,5 m,  
 diameter: 3 mm,  
 vulling: 20 % didecylftalaat op Gaschrom Q 100-120 mesh.

Tweede stuk:

materiaal: roestvrij staal,  
 lengte: 1,5 m,  
 diameter: 3 mm,  
 vulling: 20 % Ucon 50HB 280X op Gaschrom Q 100-120 mesh.

#### 5.3.3.2. Vlamionisatiedetector

Elektrometerinstelling  $8 \times 10^{-10}$  A.

#### 5.3.3.3. Temperatuur

Injecteur: 150 °C.

Detector: 150 °C.

Kolom: tussen 50-80 °C afhankelijk van de kolom en de gebruikte apparatuur.

#### 5.3.3.4. Gassen

Draaggas: stikstof.

Druk: 2,1 bar.

Debiet: 40 ml/minuut.

Hulpgassen volgens de specificaties van de fabrikant.

## 6. BEREKENING

### 6.1. Responsiefactor ( $K_n$ ) van nitromethaan, berekend op de gebruikte interne standaard (chloroform of 2,4-dimethylpiazin) in de standaardoplossing 5.3.1

$$K_n = \frac{m'_n}{m'_c} \times \frac{S'_c}{S'_n}$$

$K_n$ : responsiefactor van nitromethaan,

$m'_n$ : massa in gram van nitromethaan in de standaardoplossing 5.3.2,

$S'_n$ : piekoppervlak van nitromethaan van de standaardoplossing 5.3.2,

$m'_c$ : massa in gram van de interne standaard in de standaardoplossing 5.3.2,

$S'_c$ : piekoppervlak van de interne standaard in de referentiestandaardoplossing 5.3.2.

### 6.2. Gehalte van nitromethaan in het monster

Dit wordt berekend met de volgende formule uit de analyse van het monster (5.3.1):

$$\% \text{ (m/m) nitromethaan} = \frac{m_1}{M} \times \frac{K_n \times S_n}{S_1} \times 100$$

- $K_n$ : responsiefactor nitromethaan uit 6.1,  
 $S_n$ : piekoppervlak nitromethaan van het monster 5.3.1,  
 $m_e$ : massa in gram van de gebruikte interne standaard (chloroform of 2,4-dimethylheptaan) in 5.3.1,  
 $S_e$ : piekoppervlak van de gebruikte interne standaard in 5.3.1,  
 $M$ : massa in gram van het afgewogen aerosolmonster in 5.3.1.

#### 7. HERHAALBAARHEID <sup>(1)</sup>

Bij een gehalte van ca. 0,3 % nitromethaan mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,03 % bedragen.

### XVII. IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN THIOGLYCOLZUUR IN PERMANENTLOTIONS, ONTKRULLINGSMIDDELEN EN ONTHARINGSMIDDELEN

#### 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van thioglycolzuur in producten voor het krullen, ontkrullen van het haar en in ontharingsmiddelen, bij eventuele aanwezigheid van andere reductiemiddelen.

#### 2. DEFINITIE

Het gehalte aan thioglycolzuur wordt uitgedrukt in massaprocenten.

#### 3. BEGINSSEL

Thioglycolzuur wordt geïdentificeerd met een kleurreactie of door middel van dunnelaagchromatografie. De bepaling geschiedt iodometrisch en bij aanwezigheid van andere reductoren door middel van gaschromatografie.

#### 4. IDENTIFICATIE

##### 4.1. *Identificatie langs chemische weg*

##### 4.1.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

##### 4.1.1.1. Looddi(acefaat)-papier.

##### 4.1.1.2. Zoutzuur 1:1.

##### 4.1.2. *Werkwijze*

##### 4.1.2.1. Breng een druppel van het te analyseren monster op een stukje looddi(acefaat)-papier (4.1.1.1). Indien een diepgele kleur zichtbaar wordt, is thioglycolzuur waarschijnlijk aanwezig.

Gevoeligheid: 0,5 %.

##### 4.1.2.2. Het aantonen van sulfide.

Breng in een reageerbuis enige mg van het monster. Voeg 2 ml water en 1 ml zoutzuur (4.1.1.2) toe. Bij aanwezigheid van een sulfide ontwikkelt zich  $H_2S$  gas,

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

dat herkenbaar is aan de geur en aan de vorming van een zwarte neerslag van PbS op looddij(acetaat)-papier (4.1.1.1).  
Gevoeligheid: 50 ppm.

4.1.2.3. Het aantonen van sulfiet.

Werkwijze als 4.1.2.2.

Breng het mengsel aan de kook. Het ontstane SO<sub>2</sub> is herkenbaar aan de geur en aan de reducerende eigenschappen ten opzichte van b.v. permanganaat.

4.2. *Identificatie door middel van dunne-laagchromatografie*

4.2.1. *Reagentia*

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.2.1.1. Thioglycolzuur, iodometrisch op sterkte bepaald (hoger dan 98 %) (TGZ).

4.2.1.2. Dithiodiglycolzuur (gehalte hoger dan 99 %) (DTGZ).

4.2.1.3. Thiemelkzuur (gehalte hoger dan 95 %) (TMZ).

4.2.1.4. 3-Mercapto propionzuur (gehalte hoger dan 98 %) (MPZ).

4.2.1.5. 1-Thioglycerol (gehalte hoger dan 98 %) (TG).

4.2.1.6. Silcagel GHR of overeenkomstige kant-en-klare plaat van 0,25 mm dikte. Activeer de plaat bij 110 °C gedurende een half uur.

4.2.1.7. Aluminiumoxyde F254 type E, Merck (of gelijkwaardig) of overeenkomstige kant-en-klare plaat van 0,25 mm dikte.

4.2.1.8. Geconcentreerd zoutzuur ( $d_4^{20} = 1,19$ ).

4.2.1.9. Ethylacetaat.

4.2.1.10. Chloroform.

4.2.1.11. Di-isopropylether.

4.2.1.12. Tetrachloorkoolstof.

4.2.1.13. IJsazijn.

4.2.1.14. Kaliumiodideoplossing (1 % m/v).

4.2.1.15. Platinachlorideoplossing (0,1 % m/v).

4.2.1.16. Loopvloeistoffen:

4.2.1.16.1. Ethylacetaat-Chloroform-Di-isopropylether-IJsazijn (20 + 20 + 10 + 10, volume).

4.2.1.16.2. Chloroform-IJsazijn (90 + 20, volume).

4.2.1.17. Sproeivloeistoffen voor de detectie:

4.2.1.17.1. Meng vlak voor gebruik gelijke volumina van 4.2.1.14 en 4.2.1.15.

4.2.1.17.2. Los 5 gram broom op in 100 ml tetrachloorkoolstof (4.2.1.12).

4.2.1.17.3. Los 100 mg fluoresceïne op in 100 ml ethanol 95 %.

4.2.1.17.4. Los 10 gram hexa-ammoniumheptamolybdaat op in 90 ml water.

4.2.1.18. Referentieoplossingen:

4.2.1.18.1. Thioglycolzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.2. Dithiodiglycolzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.3. Thiemelkzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.4. 3-Mercaptopropionzuur (0,4 % m/v, in water).

4.2.1.18.5. 1-Thioglycerol (0,4 % m/v, in water).

**4.2.2. Apparatuur**

Gebruikelijke apparatuur voor de dunnelaagchromatografie.

**4.2.3. Werkwijze****4.2.3.1. Behandeling van de monsters**

Zuur het monster aan tot pH = 1 met enkele druppels geconcentreerd zoutzuur (4.2.1.8) en filtreer zo nodig. In bepaalde gevallen kan het nuttig zijn het te analyseren monster te verdunnen. Zuur in dat geval eerst aan met geconcentreerd zoutzuur alvorens over te gaan tot verdunnen.

**4.2.3.2. Dunnelaagchromatografie**

Breng op de startplaatsen van de dunnelaagplaat (4.2.1.6) 1 µl van het behandelde monster (4.2.3.1) en 1 µl van elk der vijf referentieoplossingen (4.2.1.18). Droog voorzichtig onder een stikstofstroom en ontwikkel de plaat met de loopvloeistoffen (4.2.1.16.1) of (4.2.1.16.2). Droog na het ontwikkelen de plaat zo snel mogelijk onder een stikstofstroom om oxydatie van de thiolen te voorkomen.

**4.2.3.3. Detectie**

Bespuut de plaat met de sproeivloeistof (4.2.1.17.1 of 4.2.1.17.3 of 4.2.1.17.4). Bij gebruik van sproeivloeistof (4.2.1.17.3) moet de plaat vervolgens worden geplaatst in een ontwikkelbak waarin zich een klein bakje met de broomoplossing (4.2.1.17.2) bevindt, totdat de vlekken zichtbaar zijn geworden. Indien de plaat met sproeireagens (4.2.1.17.4) wordt behandeld mag het drogen van de plaat niet langer duren dan een half uur.

**4.2.3.4. Interpretatie**

Vergelijk de R<sub>f</sub>-waarden en de verkregen kleuren der referentieoplossingen met die van het monster. Daarbij kan gebruik worden gemaakt van de volgende indicatieve tabel der R<sub>f</sub>-waarden:

	Loopvloeistoffen	
	4.2.1.16.1	4.2.1.16.2
Thioglycolzuur	0,25	0,80
Thiomelkzuur	0,40	0,95
Dithiodiglycolzuur	0,00	0,35
3-Mercaptopropionzuur	0,45	0,95
1-Thioglycerol	0,45	0,35

**5. BEPALING (1)**

Elk monster wordt eerst iodometrisch bepaald.

**5.1. Iodometrie****5.1.1. Beginsel**

De bepaling geschiedt via oxydatie van de SH-groep met I<sub>2</sub> in zuur milieu volgens de vergelijking:

**5.1.2. Reagentia**

Standaardiodiumoplossing 0,1 N.

(1) Bij de monsternamen dienen de voorwaarden zoals beschreven in Richtlijn 80/1335/EEG van 22 december 1980 in acht te worden genomen.



5.1.3. *Apparatuur*  
Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.

5.1.4. *Werkwijze*  
Weeg in een erlenmeyer van 150 ml met stop, waarin 50 ml gedestilleerd water zit, nauwkeurig een hoeveelheid van 0,5 tot 1 gram van het monster af. Voeg ca. 5 ml zoutzuur 1:1 (4.1.1.2) toe. De pH is dan ca. 0. Titreer met 0,1 N jodiumoplossing (5.1.2) totdat een lichtgele kleur verschijnt. (Men kan bij deze titratie zonodig gebruik maken van stijfjel als indicator, dat in blauw omslaat.)

5.1.5. *Berekening*  
Het thioglycolzuurgehalte wordt berekend met de volgende formule:

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

waarin:

m: massa in gram van het monster,  
n: ml verbruikte standaard 0,1 N jodiumoplossing.

5.1.6. *Opmerking*  
Indien de als thioglycolzuur iodometrisch gemeten waarde de maximaal toelaatbare concentratie niet overschrijdt, zijn de verdere bepalingen overbodig.  
Indien de gemeten iodometrische waarde gelijk of hoger ligt dan de maximaal toelaatbare concentratie en als de aanwezigheid van een of meer reductiemiddelen is aangetoond (4.1.2.2 en 4.1.2.3), dient aansluitend de volgende gaschromatografische bepaling te worden uitgevoerd.

5.2. *Gaschromatografie*

5.2.1. *Beginsel*  
Het thioglycolzuur wordt uit het produkt geïsoleerd door het neer te slaan als cadmiumdi(acetaat). Vervolgens wordt het thioglycolzuur gemethyleerd met diazomethaan en tenslotte wordt het methylester gaschromatografisch bepaald met methylcaprylaat als interne standaard.

5.2.2. *Reagentia*  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

5.2.2.1. Thioglycolzuur, iodometrisch op sterkte bepaald (hoger dan 98 %).

5.2.2.2. Geconcentreerd zoutzuur  $d_{4}^{20} = 1,19$ .

5.2.2.3. Methanol.

5.2.2.4. Cadmiumacetaat 2 H<sub>2</sub>O: 10 % (m/v) in water.

5.2.2.5. Methylcaprylaat: 2 % (m/v) in methanol.

5.2.2.6. Acetaat-bufferoplossing van pH 5:  
natriumacetaat, 3 H<sub>2</sub>O: 77 gram,  
ijszijn: 27,5 ml,  
opgelost in gedemineraliseerd water tot 1 liter.

5.2.2.7. HCl 3 N in methanol, vers bereid.

5.2.2.8. N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine.

5.2.2.9. Natriumhydroxideoplossing 5 N.

5.2.2.10. Standaardoplossing jodium 0,1 N.

- 5.2.2.11. Ether.
- 5.2.2.12. Uit N-methyl-N-nitroso-p-toluënsulfonamide bereide oplossing van diazomethaan volgens Fieser (Reagents for Organic Synthesis, Ed. Wiley, 1967). De verkregen oplossing bevat ca. 1,5 gram diazomethaan in 100 ml ether.  
*NB: Aangezien diazomethaan een giftig en instabiel gas is, dienen alle proeven in een zuurkast met krachtige luchtafvoer te worden uitgevoerd en dient geen glaswerk met geslepen onderdelen te worden gebruikt.*
- 5.2.3. *Apparatuur*
- 5.2.3.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 5.2.3.2. Apparaat ter in-situ bereiding van diazomethaan zoals beschreven in An. Chem. 1973 45, 2302.
- 5.2.3.3. Apparaat ter bereiding van diazomethaan volgens Fieser (5.2.2.12).
- 5.2.4. *Monsterbereiding*
- Weeg in een centrifugebuis van 50 ml nauwkeurig een zodanige hoeveelheid van het monster af, dat overeenkomt met een vermoedelijke hoeveelheid van ca. 50-70 mg thioglycolzuur. Zuur aan met enkele druppels geconcentreerd zoutzuur (5.2.2.2) tot een pH van ca. 3.
- Voeg toe 5 ml demi-water en 10 ml acetaatbuffer (5.2.2.6). Controleer met pH papier dat de pH ca. 5 is.
- Voeg daarna 5 ml cadmiumdi(acetaat)oplossing (5.2.2.4) toe.
- Wacht 10 minuten en centrifugeer dan gedurende 15 minuten bij 4 000 g.
- Verwijder de bovenstaande vloeistof. Het kan voorkomen, dat deze een onoplosbaar vet bevat (in het geval van een crème), maar dit kan gemakkelijk worden onderscheiden van het cadmium mercaptide, dat zich als een compacte massa op de bodem van de buis heeft afgezet.
- Controleer of er geen neerslag meer wordt gevormd als aan de bovenstaande vloeistof enkele druppels cadmiumdi(acetaat) (5.2.2.4) wordt toegevoegd.
- Controleer door middel van een iodometrische titratie voor het geval reducerende stoffen (anders dan de thiolen; zie 4.1.2.2 en 4.1.2.3) afwezig zijn, dat het verlies aan thiolen in de bovenstaande vloeistof niet meer bedraagt dan 8 % t.o.v. de oorspronkelijke hoeveelheid.
- Voeg 10 ml methanol (5.2.2.3) toe aan het precipitaat in de centrifugebuis en dispergeer nauwkeurig het precipitaat met behulp van een glazen staaf. Centrifugeer opnieuw gedurende 15 minuten bij 4 000 g. Decariteer de bovenstaande vloeistof en controleer tevens iodometrisch de afwezigheid van thiolen.
- Herhaal opnieuw deze bewerking.
- Voeg aan het neerslag in de centrifugebuis toe:
- 2 ml methylcaprylaatoplossing (5.2.2.5) en 5 ml HCl-oplossing in methanol (5.2.2.7). Het neerslag lost hierbij op. Het kan voorkomen dat een lichte troebelings achterblijft van mogelijke verontreinigingen. Men verkrijgt oplossing S. Van de aldus verkregen oplossing S wordt een aliquot gedeelte iodometrisch bepaald ter controle van de hoeveelheid thiolen, die gelijk moet zijn aan 90 % of meer t.o.v. de onder 5.1 verkregen waarde.
- 5.2.5. *Methylering*
- De methylering wordt uitgevoerd met ex-tempore bereide diazomethaan volgens (5.2.5.1) of met een vooraf bereide oplossing volgens (5.2.5.2).
- 5.2.5.1. Methylering met in-situ bereide diazomethaan
- Breng in het apparaat (5.2.3.2) 1 ml ether (5.2.2.11).
- Voeg daaraan toe 50 µl van de oplossing S (5.2.4).

Voer de methylering uit volgens (5.2.3.2) met 300 mg N-methyl-N-nitroso-N'-nitroguanidine. Controleer na 15 minuten of de etheroplossing nog geel is (hetgeen wijst op overmaat diazomethaan) en giet deze in een goed sluitend kolfje van 2 ml over. Zet dit gedurende een nacht in een vrieskast.

Voer gelijktijdig twee methyleringen uit.

5.2.5.2. **Methylering met voorafbereide diazomethaan**

Breng in een kolf van 5 ml met stop 1 ml vooraf bereide diazomethaan (5.2.5.2), en vervolgens 50 µl van de oplossing S (5.2.4). Laat het mengsel gedurende een nacht in een vrieskast staan.

5.2.6. **Bereiding van de standaard**

Bereid een standaardoplossing van thioglycolzuur van bekende titer, bevattende ca. 60 mg thioglycolzuur per ml. Dit is oplossing E. Voer hiertoe de bewerkingen uit zoals beschreven in (5.2.3), (5.2.4) en 5.2.5).

5.2.7. **Gaschromatografische condities**

5.2.7.1. Kolom van roestvrij staal, 2 meter lang en een diameter van 3 mm.

5.2.7.2. Vulling: 20 % Didecyl phthalate op Chromosorb WAW 80/100 mesh.

5.2.7.3. Vlamionisatiedetector. Ingesteld op een gevoeligheid van  $8 \cdot 10^{-16}$ A.

5.2.7.4. Gassen:

Dragergas: stikstof 2,2 bar druk en 35 ml/min snelheid.

Hulpgas: waterstof 1,8 bar druk en 15 ml/min snelheid.

5.2.7.5. Temperatuur:

Injector 200 °C; detector 200 °C; kolom 90 °C.

5.2.7.6. Recorder-papiersnelheid: 5 mm/ minuut.

5.2.7.7. Hoeveelheid per injectie: 3 µl.

5.2.7.8. Verricht 5 injecties per gemethyleerde oplossing.

**NB:** Bovengenoemde gaschromatografische condities zijn indicatief bedoeld. In ieder geval moet onder de gebruiksomstandigheden de kolom een resolutiegraad R bezitten van 1,5 of meer, waarbij

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

en

$r_1$  en  $r_2$ : retentietijden in minuten,

$w_1$  en  $w_2$ : breedte der pieken op halve hoogte in mm,

$d'$ : papiersnelheid van de recorder in mm/minuut.

Het verdient aanbeveling om na iedere gaschromatografische bepaling de kolomtemperatuur te programmeren van 90 °C naar 150 °C met 10 °C/minuut, ten einde stoffen te verwijderen die een volgende meting zouden kunnen storen.

**5.2.8. Berekening****5.2.8.1. Responsiefactor van thioglycolzuur: kroz**

Deze wordt berekend uit het chromatogram van het standaardmonster 5.2.6 met de formule:

$$k_{roz} = \frac{m_{roz} \cdot S_c}{m_c \cdot S_{roz}}$$

waarin:

- $m_{roz}$ : massa in mg van TGZ in het standaardmengsel 5.2.6,  
 $m_c$ : massa in mg van methylcaprylate in het standaardmengsel 5.2.6,  
 $S_{roz}$ : piekoppervlak van TGZ in het standaardmengsel 5.2.6,  
 $S_c$ : piekoppervlak van methylcaprylate in het standaardmengsel 5.2.6.

**5.2.8.2. Gehalte TGZ in het monster**

Dit wordt berekend met de volgende formule:

$$\% \text{ TGZ (m/m)} = \frac{m_c}{M} \cdot \frac{k_{roz} S_{roz}}{S_c} \cdot 100$$

waarin:

- $m_c$ : massa in mg van methylcaprylate in het monster,  
 $M$ : massa in mg van de inweeg (5.2.4),  
 $k_{roz}$ : responsiefactor TGZ (5.2.8.1),  
 $S_{roz}$ : piekoppervlak TGZ,  
 $S_c$ : piekoppervlak methylcaprylate.

**6. HERHAALBAARHEID (1)**

Voor een gehalte van thioglycolzuur van 8 % (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee bepalingen gelijk uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,8 % bedragen.

**XVIII. IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN HEXACHLOROFEEN****A. IDENTIFICATIE****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode is toepasbaar voor alle cosmetische produkten.

**2. BEGINSSEL**

Hexachlorofoen aanwezig in een monster wordt met ethylacetaat geëxtraheerd en geïdentificeerd met dunnelaagchromatografie.

**3. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

**3.1. Zwavelzuur 1N.****3.2. Celite AW.****3.3. Ethylacetaat.**

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 3.4.       Loopploeistof: Benzene met 1 % ijszijn (v/v).
- 3.5.       Sproeiareagens nr. 1:  
Rhodamine B oplossing: los 100 mg Rhodamine B op in een mengsel van 150 ml ether, 70 ml ethanol en 16 ml water.
- 3.6.       Sproeiareagens nr. 2:  
— 2,6-dibroom-4-(chloromino)cyclohexa-2,5-dienon: los 400 mg van deze stof op in 100 ml methanol (vers te bereiden).  
— natriumcarbonaatoplossing: los 10 gram van deze stof op in 100 ml water.
- 3.7.       Referentieoplossing: 0,05 % (m/v) hexachlorofoon in ethylacetaat.

#### 4.       HULPMIDDELEN

- 4.1.       Silicagel F 254 DLC platen 20 × 20 cm.
- 4.2.       Gebruikelijke hulpmiddelen voor dunnelaagchromatografie.
- 4.3.       Thermostaatbad voor 26 °C voor de chromatografietank.

#### 5.       VOORBEREIDING VAN HET MONSTER

- 5.1.       Meng nauwkeurig 1 gram gehomogeniseerd monster met 1 gram Celite AW (3.2) en 1 ml zwavelzuur (3.1).
- 5.2.       Verwarm bij 100 °C gedurende 2 uren.
- 5.3.       Koel af en verpulver tot fijn poeder.
- 5.4.       Extraheer met 2 × 10 ml ethylacetaat (3.3).  
Centrifugeer na iedere extractie en verzamel de ethylacetaatoplossingen.
- 5.5.       Damp droog bij 60 °C.
- 5.6.       Los het residu op in 2 ml ethylacetaat (3.3).

#### 6.       WERKWIJZE

- 6.1.       Breng 2 µl van het monsterextract (5.6) en 2 µl van de referentieoplossing (3.7) op de dunnelaagplaat (4.1).
- 6.2.       Verzadig de chromatografietank bij 26 °C (4.3) met de loopploeistof (3.4).
- 6.3.       Ontwikkel de dunnelaagplaat in de chromatografietank over een loopafstand van ca. 15 cm.
- 6.4.       Droog de plaat bij 105 °C.
- 6.5.       Hexachlorofoenvlekken worden zichtbaar gemaakt volgens 6.5.1. of 6.5.2.

- 6.5.1. Besproei met reagens nr. 1 (3.5). Neem na 30 minuten de plaat onder UV (254 nm) waar.
- 6.5.2. Besproei met reagens nr. 2 (3.6), nl. met de 2,6-dibroom-4-(chlorimino)cyclohexa-2,5-dienonoplossing en vervolgens met de natriumcarbonaatoplossing. Neem na ca. 10 minuten drogen bij kamertemperatuur de vlekken bij daglicht waar.

## 7. INTERPRETATIE DER RESULTATEN

- 7.1. Sproei reagens nr. 1 (3.5):  
De kleur van een hexachlorofoenvlek is blauwachtig op een geel-oranje achtergrond en de Rf is ca. 0,5.
- 7.2. Sproei reagens nr. 2 (3.6):  
De kleur is hemelsblauw tot turkoois op een witte achtergrond en de Rf is ca. 0,5.

## B. BEPALING

### 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

De methode is toepasbaar op alle cosmetische produkten.

### 2. DEFINITIE

Het volgens deze methode gemeten gehalte aan hexachlorofoen wordt uitgedrukt in massaprocenten (m/m) hexachlorofoen.

### 3. BĒGINSEL

Na omzetting in het methyl derivaat, wordt hexachlorofoen gaschromatografisch bepaald met een electron-capture detector. Daarbij wordt gebruik gemaakt van een interne standaard.

### 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

- 4.1. Ethylacetaat.
- 4.2. N-methyl-N-nitroso-p-tolueensulfoamide (Diazald).
- 4.3. Ether.
- 4.4. Methanol.
- 4.5. 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol (Carbitol).
- 4.6. Mierenzuur.
- 4.7. Kaliumhydroxide 50% (m/m) in water; dagelijks vers te bereiden.

- 4.8. Hexaan voor spectroscopie.
  - 4.9. Bromochlorofoen (Standaard nr. 1).
  - 4.10. 4,4, 6,6-tetrachloor-2,2'-thiodifenol (Standaard nr. 2).
  - 4.11. Triclosan (Standaard nr. 3).
  - 4.12. Aceton.
  - 4.13. Zwavelzuur 8 N.
  - 4.14. Celite AW.
  - 4.15. Mierenzuur 10 % (v/v) in ethylacetaat.
  - 4.16. Hexachlorofoen.
5. APPARATEN EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
  - 5.2. Mini-apparaat voor de bereiding van diazomethaan (lit.: Anal. Chem. 1973 45 2302-3).
  - 5.3. Gaschromatograaf met een electron-capture detector ( $^{63}\text{Ni}$ ).
6. WERKWIJZE
- 6.1. *Bereiding van de standaardoplossingen*

De interne standaard wordt gekozen uit 4.9, 4.10 en 4.11 op grond van de afwezigheid van storingen in het chromatogram door andere stoffen uit het produkt. In het algemeen is Standaard nr. 1 (4.9) het meest geschikt.

    - 6.1.1. Weeg nauwkeurig ca. 50 mg van Standaard nr. 1 (4.9) of Standaard nr. 2 (4.10) of Standaard nr. 3 (4.11) en 50 mg hexachlorofoen (4.16) in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul aan met ethylacetaat (4.1) tot 100 ml. Dit is oplossing A. Verdun 10 ml oplossing A met ethylacetaat tot 100 ml. Dit is oplossing B.
    - 6.1.2. Weeg nauwkeurig ca. 50 mg van Standaard nr. 1 (4.9) of Standaard nr. 2 (4.10) of Standaard nr. 3 (4.11) in een maatkolf van 100 ml. Los op en vul aan tot 100 ml met ethylacetaat (4.1). Dit is oplossing C.
  - 6.2. *Voorbereiding van het monster* <sup>(1)</sup>

Weeg nauwkeurig ca. 1 gram van het ghomogeniseerde monster en meng grondig met 1 ml zwavelzuur (4.13), 15 ml aceton (4.12) en 8 g Celite AW (4.14).

(1) In verband met de verschillende soorten produkten waarin hexachlorofoen kan voorkomen, is het belangrijk de terugvindingspercentages op hexachlorofoen voor het betreffende monster vooraf na te gaan. Indien lage waarden worden gevonden, zou bij voorbeeld verandering van extractie-oplosmiddel (b.v. benzeen i.p.v. ethylacetaat) aangebracht kunnen worden in het voorschrift (uiteraard met goedkeuring van de betrokken partijen).

Droog het mengsel door verwarming op een stoombad gedurende 30 minuten en vervolgens in een geventileerde oven gedurende anderhalf uur. Koel af en verpulver tot fijn poeder. Breng de poeder over in een glazen kolom en elueer met ethylacetaat. Verzamel 100 ml elusat. Voeg hierbij 2 ml van de interne standaardoplossing (oplossing C van 6.1.2) toe.

6.3. *Methylering van het monsterextract*

Koel alle reagentia en de apparatuur tot 0-4°C gedurende 2 uren. Breng 1,2 ml van de verkregen oplossing (6.2) en 0,1 ml methanol in het buitenste gedeelte van het diazomethaan mini-apparaat. Breng ca. 200 mg diazald (4.2) in het centrale reservoir en voeg daarbij toe 1 ml carbitol (4.5) en 1 ml ether (4.3). Los op. Assembleer het apparaat en plaats het voor de helft in een bad met smeltend ijs van 0°C. Breng nu met behulp van een injectiespuit ca. 1 ml gekoelde kaliumhydroxideoplossing (4.7) in het centrale reservoir. Ga na of de ontstane gele kleur door het gevormde diazomethaan niet meer verdwijnt. Indien dit toch gebeurt, moet de methylering herhaald worden met een nieuwe hoeveelheid van ca. 200 mg diazald (4.2)<sup>(1)</sup>. Verwijder na 15 minuten het apparaat uit het bad en plaats het gedurende 12 uren bij kamertemperatuur en in nog gesloten toestand op een veilige plaats. Open het apparaat en voeg enkele druppels waterzuuroplossing in ethylacetaat (4.15) aan de gemethyleerde oplossing toe om eventuele resten van het diazomethaan te vernietigen. Breng de vloeistof over in een maatkolf van 25 ml en vul aan met n-hexaan tot de merkstreef. Meng. Injecteer 1,5 µl in de gaschromatograaf.

6.4. *Methylering van de standaard*

Koel alle reagentia en het apparaat tot 0-4°C gedurende 2 uren. Breng in het buitenste compartiment van het diazomethaanapparaat:

0,2 ml oplossing B (6.1.1)  
1,0 ml ethylacetaat (4.1)  
0,1 ml methanol (4.4).

Voer de methylering als onder 6.3 uit.

Injecteer 1,5 µl in de gaschromatograaf.

7. GASCHROMATOGRAFIE

De stationaire fase moet een resolutiegraad (R) van ten minste 1,5 kunnen geven, waarbij

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

en:

r<sub>1</sub> en r<sub>2</sub>: retentietijden in minuten

w<sub>1</sub> en w<sub>2</sub>: piekbreedte op halve hoogte in mm

d': de papersnelheid van de recorder in mm per minuut.

De volgende condities geven bij voorbeeld de gewenste resultaten:

Materiaal van de kolom: roestvrij staal,

Lengte: 170 cm,

Diameter: 3 mm,

Vulling: 10 % OV-17 op Chromosorb WAW 80-100 mesh,

Temperatuur: kolom — detector — injector: 280°C,

Draaggas: zuurstofvrije stikstof

begindruk: 2,3 bar,

debiet: 30 ml/min.

<sup>(1)</sup> Het voorbestaan van deze gele vloeistof wijst op een teveel aan diazomethaan nodig voor een volledige methylering van het monster.



## 8. BEREKENING

## 8.1. Responsiefactor van hexachlorofoen

De responsiefactor  $k_h$  wordt berekend met betrekking tot de gekozen standaard in relatie tot het standaardmengsel:

$$k_h = \frac{m_h}{m_s} \times \frac{A_s}{A_h}$$

waarbij:

- h: hexachlorofoen,
- $k_h$ : responsiefactor van h,
- $m_h$ : massa in gram van h in het mengsel,
- $A_h$ : piekoppervlak van h,
- s: de gekozen interne standaard,
- $m_s$ : massa in gram van s in het mengsel,
- $A_s$ : piekoppervlak van s.

## 8.2. Gehalte aan hexachlorofoen

$$\% \text{ (m/m) hexachlorofoen} = \frac{m_s \times k_h \times A_h}{M \times A_s} \times 100$$

waarbij:

- h: hexachlorofoen,
- $k_h$ : responsiefactor van h,
- $A_h$ : piekoppervlak van h,
- s: de gekozen interne standaard,
- $m_s$ : massa in gram van s in het mengsel,
- $A_s$ : piekoppervlak van s,
- M: massa in gram van de monsterinweeg

## 9. HERHAALBAARHEID (1)

Bij een gehalte van 0,1 % (m/m) hexachlorofoen mag het verschil in meetuitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer dan 0,005 % bedragen.

## XIX. KWANTITATIEVE BEPALING VAN TOSYLCHLORAMIDENATRIUM (CHLORAMINE T)

## 1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De methode beschrijft de bepaling van het totaal toegevoegde tosylchloramidena-trium aan het cosmetisch produkt.

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

**2. DEFINITIE**

Het gehalte aan tosylchloramidenatrium bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten.

**3. BEGINSSEL**

Na toevoeging van zoutzuur en verwarming wordt het tosylchloramidenatrium volledig omgezet in 4-tolueensulfonamide, dat vervolgens na dunnelaagchromatografie fotodensitometrisch wordt bepaald.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

- 4.1. Tosylchloramidenatrium (chloramine T).
- 4.2. Standaardoplossing van 4-tolueensulfonamide. Los 50 mg 4-tolueensulfonamide op in ethanol tot een volume van 100 ml.
- 4.3. Zoutzuur, geconcentreerd  $d_4^{20} = 1,18$ .
- 4.4. Ether.
- 4.5. Ethanol 96 % (v/v).
- 4.6. Loopvloeistoffen voor dunnelaagchromatografie:
  - 4.6.1. Butanol-1/ethanol 96 % (4.5)/water (40+4+9, volume).
  - 4.6.2. Chloroform/aceton (6+4, volume).
- 4.7. Kant en klare dunnelaagplaten, silicagel 60, zonder fluoresceentie-indicator.
- 4.8. Kaliumpermanganaat.
- 4.9. Zoutzuur 15% (m/m).
- 4.10. Spreiervloeistof: 0,1 % (m/v) 0-toluidine in ethanol (4.5).

**5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**

- 5.1. Gebruikelijke hulpmiddelen voor het laboratorium.
- 5.2. Gebruikelijke apparatuur voor de dunnelaagchromatografie.
- 5.3. Fotodensitometrische apparatuur.

## 6. WERKWIJZE

6.1. *Hydrolyse*

Weeg nauwkeurig ca. 1 gram (m) van het monster in een rondbodemkolf van 50 ml. Voeg toe 5 ml water en 5 ml geconcentreerd zoutzuur (4.3). Kook het mengsel onder terugvloeiokoeling gedurende een uur. Breng de nog warme suspensie met wat water over in een maakolf van 50 ml. Koel af en vul aan met water tot de merkstreep. Centrifugeer het mengsel gedurende 5 minuten bij een snelheid van 3 000 omw. per minuut. Filtreer vervolgens de vloeistoffase.

6.2. *Extractie*

6.2.1. Pipetteer 30,0 ml filtraat (6.1) en extraheer dit met 3 × 15 ml ether (4.4). Verzamel de etherfracties in een maakolf van 50 ml en vul aan met ether (4.4) tot de merkstreep. Homogeniseer.

6.2.2. Pipetteer 25,0 ml van de etheroplossing (6.2.1) en damp dit droog onder een stikstofstroom. Los het residu op in 1,0 ml ethanol (4.5).

6.3. *Dunnelaagchromatografie*

6.3.1. Breng op de startplaats van een dunnelaagplaat (4.7) resp. 20- $\mu$ l van het ethanolextract (6.2.2) en 8, 12, 16, 20  $\mu$ l van de 4-tolueensulfonamidedandaard (4.2).

6.3.2. Ontwikkel de plaat met een der loopvloeistoffen 4.6.1 of 4.6.2 tot een hoogte van ca. 15 cm.

6.3.3. Droog de plaat zo goed mogelijk en plaats de plaat gedurende 2 tot 3 minuten in een chlooratmosfeer. Dit kan worden verkregen door in een afgesloten chromatografietank ca. 100 ml zoutzuur (4.9) te laten inwerken op ca. 2 gram kaliumpermanganaat (4.8). Verwijder vervolgens de overmaat chloor van de dunnelaagplaat door de plaat gedurende 5 minuten op 100 °C te verwarmen. Bespuit de plaat tenslotte met de sproeivloeistof 4.10.

6.4. *Fotodensitometrische meting*

Meet na ongeveer een uur de intensiteit van de violette vlek fotodensitometrisch bij 525 nm (5.3).

6.5. *Ijklijn*

Trek de ijklijn verkregen uit de gemeten waarden van de vier 4-tolueensulfonamidedaardvlekken door de piekhoogte uit te zetten tegen de hoeveelheden 4-tolueensulfonamide (4, 6, 8, 10  $\mu$ g).

## 7. OPMERKINGEN

De methode kan worden gecontroleerd door standaardoplossingen met 0,1 of 0,2% tosylchloramidenatrium op dezelfde manier te behandelen als het monster (6).

## 8. BEREKENING

Het gehalte in massaprocenten aan tosylchloramidenatrium kan worden berekend met de volgende formule:

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

waarin:

1,33: factor voor de omrekening van 4-tolueensulfonamide tot tosylchloramidenatrium,

a: massa 4-tolueensulfonamide van het monster in  $\mu\text{g}$ , bepaald met behulp van de ijklijn (6.5),

m: massa in gram van de monsterinweeg (6.1).

9. **HERHAALBAARHEID** <sup>(1)</sup>

Voor een gehalte aan tosylchloramidenatrium van 0,2 % (m/m) mag het verschil van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder, zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor hetzelfde monster niet meer bedragen dan 0,03 %.

**XX. KWANTITATIEVE BEPALING VAN FLUORVERBINDINGEN IN TANDPASTA'S**

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de bepaling van het totale fluorgehalte in tandpasta's voor gehalten lager dan 0,25 % fluor.

2. **DEFINITIE**

Het gehalte aan totaal fluor bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten (% m/m) fluor.

3. **BEGINSEL**

Het fluor van de betreffende fluorverbinding wordt omgezet in triëthylfluorsilaan (TEFS) door een rechtstreekse reactie met triëthylchlorosilaan (TECS) onder zure omstandigheden en dit wordt gelijktijdig geëxtraheerd met xyleen dat cyclohexaan als interne standaard bevat. De verkregen oplossing wordt geanalyseerd door middel van gaschromatografie.

4. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

4.1. Natriumfluoride, gedurende 1 uur op 120 °C gedroogd.

4.2. Water, tweemaal gedestilleerd of van gelijke kwaliteit.

4.3. Zoutzuur, geconcentreerd  $d_4^{20} = 1,19$ .

4.4. Cyclohexaan (CH).

4.5. Xyleen: mag geen piek in het chromatogram bevatten voorafgaande aan de oplosmiddelpiek bij de gaschromatografische analyse zoals beschreven in dit voorschrift (6.1); zonodig wordt via destillatie (5.8) het xyleen gezuiverd.

<sup>(1)</sup> Bepaald volgens ISO 5725.

- 4.6. Triethylchlorosilaan (TECS, Merck of gelijke kwaliteit).
- 4.7. Standaardoplossing van fluoride:
- 4.7.1. Standaardoplossing 0,250 mg fluor/ml.  
Weeg nauwkeurig 138,1 mg natriumfluoride (4.1) en los dit op in water (4.2). Breng dit kwantitatief over in een maatkolf van 250 ml (5.5) en vul aan tot de streep met water (4.2). Meng.
- 4.7.2. Verdun de standaardoplossing 0,050 mg fluor/ml.  
Pipetteer 20,0 ml van de oplossing (4.7.1) in een maatkolf van 100 ml en vul aan tot de streep met water (4.2). Meng.
- 4.8. Oplossing van de interne standaard:  
Meng 1,0 ml cyclohexaan (4.4) met 5,0 ml xyleen (4.5).
- 4.9. Oplossing van trichlorosilaan met de interne standaard:  
Breng met een pipet (5.7) 0,6 ml TECS (4.6) en 0,12 ml interne standaardoplossing (4.8) over in een maatkolf van 10 ml. Vul aan tot de streep met xyleen (4.5). Meng.  
NB: Deze oplossing vers bereiden.
- 4.10. Perchloorzuur 70 % m/v.
- 4.11. Perchloorzuur 20 % m/v in water (4.2).
5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN
- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Gaschromatograaf voorzien van een vlamionisatiedetector.
- 5.3. Vortex homogenisator of gelijkwaardig apparaat.
- 5.4. Schudapparaat Buhler type SMB1 of gelijkwaardig apparaat.
- 5.5. Maatkolven van polypropyleen, 100 en 250 ml.
- 5.6. Glazen centrifugebuizen, 20 ml, voorzien van met teflon beklede schroefdoppen: Sovirel type 611-56 of gelijkwaardig.  
Reinig de huizen en schroefdoppen als volgt: week ze een aantal uren in perchloorzuur 20 % (4.11), spoel vervolgens vijfmaal met water (4.2) en droog ze bij 100 °C.
- 5.7. Pipetten, met of zonder met doseren van hoeveelheden van 50 tot 200 µl en voorzien van wegwerppunten.
- 5.8. Destilleerapparaat voorzien van een Schneider met drie hollen of een gelijkwaardige Vigreux-kolom.

**6. WERKWIJZE****6.1. Analyse van het monster**

- 6.1.1. Neem een ongeopende tube tandpasta. Open de tube. Breng de gehele inhoud over in een plastic vat, meng grondig, en bewaar dit zodanig dat de inhoud goed blijft.
- 6.1.2. Weeg nauwkeurig ca. 150 mg (m) van het monster (6.1.1) in een centrifugebuis (5.6), voeg 5 ml water (4.2) toe en homogeniseer (5.3).
- 6.1.3. Voeg 1,0 ml xyleen (4.5) toe.
- 6.1.4. Voeg druppelgewijs 5 ml zoutzuur (4.3) en homogeniseer (5.3).
- 6.1.5. Pipetteer 0,5 ml van de oplossing van TECS met de interne standaard (4.9) in de centrifugebuis (5.6).
- 6.1.6. Sluit de centrifugebuis af en meng grondig gedurende 45 minuten met behulp van het Buhler schudapparaat (5.4) bij een snelheid van 150 slagen/minuut.
- 6.1.7. Centrifugeer 10 minuten bij een snelheid waarbij een goede fasenscheiding wordt verkregen. Schroef de dop van de buis en scheid de organische fase af. Injecteer 3 µl hiervan in de gaschromatograaf (5.2).  
*NB:* Het duurt ca. 20 minuten voordat alle componenten uit de kolom zijn gekomen.
- 6.1.8. Herhaal de injectie. Bereken de gemiddelde verhouding van de piekoppervlakken ATEFS/ACH en lees de corresponderende hoeveelheid fluor af in mg (m<sub>1</sub>) op de ijklijn (6.3).
- 6.1.9. Bereken het fluorgehalte van het monster volgens de formule (7).

**6.2. Gaschromatografische condities****6.2.1. Kolom**

Materiaal: roestvrij staal,

Lengte: 180 cm,

Diameter: 3 mm,

Vulling: Gaschrom Q 80 — 100 mesh,

Stationaire fase: 20% siliconenolie DC 200 of gelijkwaardig.

Breng de kolom gedurende een nacht bij 100 °C in evenwicht; gassnelheid 25 ml/minuut. Dit moet tijdens de bepalingen iedere nacht worden herhaald.

Breng de kolom na 4 of 5 injecties ook opnieuw in evenwicht door een half uur op 100 °C te verwarmen.

Temperatuur:

kolom 70 °C

injector 150 °C

detector 250 °C

Dragergas: stikstof 35 ml/minuut.

**6.3. IJklijn**

- 6.3.1. Breng met een pipet in een reeks van 6 reageerbuizen (5.6) 0 — 1,0 — 2,0 — 3,0 — 4,0 — 5,0 ml van de verdunde standaardoplossing (4.7.2). Breng het volume in elke buis tot 5,0 ml met water (4.2).

- 6.3.2. Voer de handelingen uit zoals beschreven onder 6.1.3 tot en met 6.1.6.
- 6.3.3. Injecteer 3 µl van de verkregen organische fase in de gaschromatograaf (5.2).
- 6.3.4. Herhaal de injectie. Bereken de gemiddelde piekoppervlakkenverhouding  $A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$ .
- 6.3.5. Zet de massa (in mg) fluor van de standaarden (6.3.1) grafisch uit tegen de piekoppervlakkenverhouding  $A_{\text{TEFS}}/A_{\text{CH}}$  en trek de ijklijn.

## 7. BEREKENING

De formule voor de berekening is:

$$\% \text{ (m/m) fluor} = \frac{m_1}{m} \times 100$$

waarbij:

m: massa inweeg van het monster (6.1.2) in mg,

m<sub>1</sub>: mg fluor afgelezen uit de ijklijn (6.3).

## 8. HERHAALBAARHEID (1)

Voor een totaal fluorgehalte van ca. 0,15 % (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee naast elkaar op hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer bedragen dan 0,012 %.

## XXI. IDENTIFICATIE EN KWANTITATIEVE BEPALING VAN ORGANISCHE KWIKVERBINDINGEN

### DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

De methode beschrijft de identificatie en de bepaling van organische kwikverbindingen, die als conserveermiddelen in oogkosmetica kunnen worden toegepast. Zij is toepasbaar op thiomersal (INN) (natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoaat) en fenylmercurizouten.

### A. IDENTIFICATIE

#### 1. PRINCIPE

De organische kwikverbindingen worden omgezet in dithizonaten en na extractie met tetrachloorkoolstof door middel van dunnelaagchromatografie geïdentificeerd. De vlekken van dithizonaat zijn te herkennen aan de oranje kleur.

#### 2. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

#### 2.1. Zwavelzuur 25 % (v/v).

(1) Bepaald volgens ISO 5725.

- 2.2. 1,5-difeny1-3-thiocarbazon(dithizon)oplossing: 0,8 mg dithizon opgelost in 100 ml tetrachloorkoolstof (2.4).
  - 2.3. Stikstof.
  - 2.4. Tetrachloorkoolstof.
  - 2.5. Loopvloeistof: Hexaanaceton (90 + 10,v).
  - 2.6. Standaardoplossingen 0,001 % in water:  
natrium-2-(ethylmercuriothio)benzoaat,  
ethylkwikchloride of methylkwikchloride,  
feny1kwiknitraat of feny1kwikacetaat,  
kwikdichloride of kwikdi(acetaat).
  - 2.7. Kant en klare silicagel dunnelaagplaten (Merck 5721 of equivalent).
  - 2.8. Natriumchloride.
3. HULPMIDDELEN
- 3.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
  - 3.2. Hulpmiddelen voor de dunnelaagchromatografie.
  - 3.3. Fasescheidend filtreerpapier.
4. WERKWIJZE
- 4.1. *Extractie*
    - 4.1.1. Homogeniseer 1 gram van het monster en 20 ml water in een centrifugebuis. Verwarm zonodig in een warmwaterbad, doch bij niet hoger dan 60 °C. Voeg 4 g NaCl (2.7) toe, meng en koel af.
    - 4.1.2. Centrifugeer om een fasescheiding te verkrijgen het mengsel gedurende 20 minuten bij een snelheid van 4 500 omw. per min. Decanteer de vloeibare fase in een scheidrechter en voeg 25 ml zwavelzuur (2.1) toe. Voer de nu volgende bewerkingen separaat doch tegelijkertijd uit met de verkregen vloeistof en met 20 ml van elk der standaardoplossingen van 2.6, waaraan 25,0 ml zwavelzuur (2.1) zijn toegevoegd.
    - 4.1.3. Extraheer meerdere malen elk der bovengenoemde oplossingen met 2 ml dithizon-oplossing (2.2) tot de onderste fase groen blijft.
    - 4.1.4. Filtreer de verkregen organische fasen met een fasescheidend filter (3.3).
    - 4.1.5. Damp de verzamelde filtraten droog in een stikstof (2.3) atmosfeer.
    - 4.1.6. Los elk der residu's op in 0,5 ml tetrachloorkoolstof (2.4) en gebruik de verkregen oplossingen zo snel mogelijk voor de dunnelaagchromatografie (4.2.1).



4.2. *Dunnelaagchromatografie*

4.2.1. Breng zo snel mogelijk na de bereiding 50 µl van elk der onder 4.1.6 verkregen oplossingen op de startplaats van een dunnelaagplaat (2.7).

Behandel gelijktijdig zoals aangegeven in 4.1, 10 ml van de standaardoplossing (2.6) en breng 50 microliter van de verkregen oplossingen aan op dezelfde plaat (4.1.6).

4.2.2. Ontwikkel de plaat met loopvloeistof (2.5) tot een hoogte van 15 cm is bereikt.

De verkregen dithizonaten zijn reeds gekleurd. De oranjekleur is alleen stabiel als de plaat onmiddellijk na de verdamping van de loopvloeistof met een glazen plaat wordt afgedekt.

De volgende tabel van verkregen Rf-waarden kan nuttig zijn voor de identificatie der dithizonaatvlekken:

	Rf-waarden	Kleur
thiomersal	0,33	oranje
ethylkwikchloride	0,29	oranje
methykwikchloride	0,29	oranje
fenykwikzouten	0,21	oranje
kwikdichloride	0,10	oranje
kwikdi(acetaat)	0,10	oranje
1,5-difeny-3-thiocarbazon	0,09	rose

**B. BEPALING**

## 1. DEFINITIE

Het gehalte aan organisch kwikverbinding in een produkt bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in % (m/m) kwik (Hg).

## 2. BEGINSSEL

De methode bestaat uit de bepaling van totaal kwik. Het is daarom noodzakelijk om vooraf aan te tonen, dat anorganisch kwik afwezig is in het monster (zie onder A. Identificatie). Na natte mineralisatie wordt het kwik bepaald volgens de koude vlamloze atoomabsorptiemethode.

## 3. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

3.1. Salpeterzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,41$ ).

3.2. Zwavelzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,84$ ).

3.3. Water, gebidestilleerd.

3.4. Kaliumpermanganaat: 7% (m/v) in water.

3.5. Hydroxylamoniumchloride: 1,5% (m/v) in water.

3.6. Dikaliumperoxodistilfaat: 5% (m/v) in water.

- 3.7. Tindichloride: 10 % (m/v) in water.
- 3.8. Zoutzuur, geconcentreerd ( $d_4^{20} = 1,18$ ).
- 3.9. Glaswol, geïmpregneerd met 1 % (m/v) palladiumdichloride in water en vervolgens gedroogd.

#### 4. APPARATEN EN HULPMIDDELEN

- 4.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 4.2. Apparaat voor koude vlamloze atoomabsorptie en het benodigde glaswerk. Minimumweglengte van de meetcel 10 cm.

#### 5. WERKWIJZE

Neem de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor de microbepaling van kwik.

##### 5.1. Mineralisatie

- 5.1.1. Weeg nauwkeurig ca. 150 mg (m) van het monster. Voeg 10 ml salpeterzuur (3.1) toe en verwarm het mengsel gedurende 3 uren in een waterbad van 55 °C in een hermetisch afgesloten vat en onder regelmatig omzwenken. Voer parallel een blanco bepaling uit.
- 5.1.2. Koel af en voeg 10 ml zwavelzuur (3.2) toe. Verwarm het mengsel nogmaals gedurende 30 minuten op een waterbad van 55 °C.
- 5.1.3. Plaats het vat op een witte glazen plaat en voeg voorzichtig 20 ml water (3.3) toe.
- 5.1.4. Voeg in hoeveelheden van ca. 2 ml kaliumpermanganaat (3.4) toe tot een blijvende paarse kleur. Verwarm dan de oplossing gedurende 15 minuten op een waterbad van 55 °C.
- 5.1.5. Voeg 4 ml dikaliumperoxydulfat (3.6) toe en verwarm dan gedurende 30 minuten op het waterbad van 55 °C.
- 5.1.6. Koel af en breng de inhoud van het vat over in een maatkolf van 100 ml. Spoel na met 5 ml hydroxylammoniumchloride (3.5) en vervolgens nog met 4 × 10 ml water (3.3). De aldus verkregen oplossing moet kleurloos zijn. Vul aan tot de merkstreep met water (3.3). Homogeniseer.

##### 5.2. Bepaling

- 5.2.1. Breng 10 ml van de verkregen oplossing (5.1.6) in het vat dat bestemd is voor de koude vlamloze atoomabsorptiemethode (4.2). Verdun met 100 ml water (3.3) en vervolgens met 5 ml zwavelzuur (3.2) en 5 ml tindichloride (3.7). Meng na iedere toevoeging. Na 30 seconden zijn  $Hg^{2+}$  ionen gereduceerd tot metallisch kwik. Voer dan de bepaling uit en noteer de aflezing op het instrument.
- 5.2.2. Plaats het met palladiumdichloride geïmpregneerde glaswol (3.9) tussen het reductievat en de meetcel van het instrument (4.2). Herhaal de meting zoals beschreven onder 5.2.1. Indien de aflezing n op het instrument niet gelijk is aan 0, dan is de mineralisatie (5.1) niet volledig en dient de bepaling opnieuw te worden uitgevoerd.

**6. BEREKENING**

Het gehalte aan kwik in het monster uitgedrukt in massaprocenten wordt berekend met de volgende formule:

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

waarbij:

n: hoeveelheid kwik in  $\mu\text{g}$  bij de bepaling onder 5.2.1,

m: massa van de monsterinweeg (5.1.1) in mg.

**7. OPMERKINGEN**

7.1. Om de mineralisatie te vergemakkelijken is het soms nodig het monster vooraf te verdunnen.

7.2. Indien het vermoeden bestaat, dat het kwik door absorptie aan het substraat is gebonden, is het noodzakelijk een standaard additiebepaling (bepaling onder toevoeging) uit te voeren.

**8. HERHAALBAARHEID (1)**

Voor een kwikgehalte van 0,007 % mag het verschil tussen de uitkomsten van twee naast elkaar op hetzelfde monster uitgevoerde bepalingen niet meer bedragen dan 0,00035 %.

**XXII. KWANTITATIEVE BEPALING VAN ALKALI- EN AARDALKALISULFIDEN****1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED**

De methode beschrijft de bepaling van sulfide in cosmetische produkten. De aanwezigheid van thiolen en andere reducerende stoffen (sulfieten inbegrepen) storen de bepaling niet.

**2. DEFINITIE**

Het gehalte aan sulfide bepaald volgens deze methode wordt uitgedrukt in massaprocenten zwavel.

**3. BEGINSSEL**

Na aanzuren wordt het gevormde waterstofsulfide met behulp van een stikstofstroom uit de oplossing verdreven en gefixeerd als cadmiumsulfide. Na filtratie en uitwassen van het gevormde cadmiumsulfide wordt deze stof iodometrisch bepaald.

**4. REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

(1) Bepaald volgens ISO 5725 norm.

- 4.1. Zoutzuur, geconcentreerd,  $d_4^{20} = 1,19$ .
- 4.2. Gestelde thioosulfaatoplossing 0,1 N.
- 4.3. Jodiumoplossing 0,1 N.
- 4.4. Dinatriumsulfide.
- 4.5. Cadmiumdi(acetaat).
- 4.6. Ammonia, geconcentreerd,  $d_4^{20} = 0,90$ .
- 4.7. Ammoniakale cadmiumdi(acetaat)oplossing: los 10 g cadmiumdi(acetaat) (4.5) in ca. 50 ml water op, voeg ammoniak (4.6) toe tot de neerslag is opgelost (ca. 20 ml) en vul aan met water tot een volume van 100 ml.
- 4.8. Stikstof.
- 4.9. Ammoniakoplossing 1 M.

## 5. HULPMIDDELEN

- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumapparatuur.
- 5.2. Driehalskolf van 100 ml met slijpstukken, bedoeld voor respectievelijk een scheitrichter, een gasinleidbuis en een gasafvoerbuis met passende slijpstukken.
- 5.3. Twee conische kolven van 150 ml met ingeslepen hals, voorzien van een gasinleidbuis met zij-uitgang en een gasafvoerstuk.
- 5.4. Trechter met lange steel.

## 6. WERKWIJZE

- 6.1. *Verdrijven van zwavelwaterstof*
  - 6.1.1. Kies een verpakkingseenheid van het monster uit, dat niet eerder geopend is geweest. Weeg nauwkeurig een hoeveelheid (mg) monster af, dat overeenkomt met ten hoogste 30 mg sulfide (berekend als zwavel), in de driehalskolf (5.2). Voeg 60 ml water toe en twee druppels van een antischuimmiddel.
  - 6.1.2. Vul elk der beide conische kolven (5.3) met 50 ml ammoniakale cadmiumacetaatoplossing (4.7).
  - 6.1.3. Breng de druppeltrechter, de gasinleidbuis en de gasafvoerbuis (5.3) aan op de driehalskolf (5.2). Verbind de gasafvoerbuis ervan met behulp van een PVC-slang met de conische kolven (5.3).

**NB:** Controleer de gasdichtheid van het apparaat door onder de voorgeschreven omstandigheden (6.1.4 tot 6.1.3) de bepaling uit te voeren met 10 ml van een standaard dinatriumsulfide(4.4)-oplossing.

De bij de bepaling gevonden sulfide (jodometrisch bepaald) mag ten hoogste 3% afwijken van de ingevoerde (eveneens jodometrisch bepaalde) hoeveelheid.

- 6.1.4. Laat gedurende 15 minuten de stikstof (4.8) door het apparaat stromen met een snelheid van ca. 2 bellen per seconde om de lucht te verdrijven.
- 6.1.5. Verwarm de kolf (5.2) op  $85^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$
- 6.1.6. Stop de stikstofstroom en voeg druppelgewijs 40 ml zoutzuur (4.1) toe.
- 6.1.7. Wanneer de scheitrechter bijna leeg is (de resterende hoeveelheid dient ter afsluiting) wordt de stikstofstroom weer aangezet.
- 6.1.8. Zet de verwarming na 30 minuten af. Laat de kolf afkoelen en leid dan nog gedurende ten minste 90 minuten stikstof door.
- 6.2. Titratie
- 6.2.1. Filtreer de cadmiumsulfide met een filter met lange steel (5.4).
- 6.2.2. Spoel de konische kolven (5.3) met ammoniak (4.9) en giet dit op de filter. Spoel tenslotte nog met water en gebruik dit water om het neerslag op de filter uit te wassen.
- 6.2.3. Was het neerslag nog uit met 100 ml water.
- 6.2.4. Breng het filterpapier met neerslag in de eerste konische kolf waar het neerslag is gevormd. Voeg 25,0 ml ( $n_1$ ) jood (4.3) toe en vervolgens ca. 20 ml zoutzuur (4.1) en 50 ml water. Meng.
- 6.2.5. Titreer de overmaat jood met thiosulfaat 0,1 N ( $n_2$  ml)

## 7 BEREKENING

Het gehalte aan sulfide (uitgedrukt als zwavel) in het monster wordt berekend met de volgende formule:

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

waarin:

- $n_1$  = ml toegevoegde joodoplossing (6.2.4),  
 $x_1$  = normaliteit van die oplossing (4.3),  
 $n_2$  = ml thiosulfaat bij de terugtitratie (6.2.5),  
 $x_2$  = normaliteit thiosulfaatoplossing (4.2),  
 $m$  = monsterinweeg (6.1.1) in gram.

## 8 HERHAALBAARHEID (bepaald volgens ISO 5725)

Voor een sulfidegehalte van ca. 2% (m/m) mag het verschil tussen de uitkomsten van twee bepalingen gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden en voor het zelfde monster niet meer bedragen dan 0,2 %.

Ons bekend om te worden gevoegd bij Ons besluit van 5 november 1985.

VAN KONINGSWEGE :

De Minister van Sociale Zaken,

J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid en Leefmilieu,

F. AERTS.

## Annexe

## XIII. 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 ( $\text{CHCl}_3$ ).4.2. Tétrachlorure de carbone ( $\text{CCl}_4$ ).4.3. Dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).4.4. 1,1,1-trichloroéthane ( $\text{CH}_3\text{CCl}_3$ ).

## 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. Flaçon 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  $\text{CHCl}_3$  (4.1) équivalente à la quantité présumée de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$  contenue dans l'échantillon. Homogénéiser.

- 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  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et/ou  $\text{CH}_3\text{CCl}_3$  contenue dans l'échantillon. Homogénéiser. Rincer le volume mort de la valve du flacon transfert avec 0,5 ml de  $\text{CCl}_4$  (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%	Halcomid 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 :

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

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

CHCl<sub>3</sub> (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<sub>p</sub> = son coefficient de proportionnalité,

m<sub>p</sub> = sa masse dans le mélange,

A<sub>p</sub> = l'aire de son pic.

Soit la substance a :

k<sub>a</sub> = son coefficient de proportionnalité choisi égal à 1,

m<sub>a</sub> = sa masse dans le mélange,

A<sub>a</sub> = 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 CHCl<sub>3</sub> : k = 1) :

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

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

9.2. *Calcul des pourcentages de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub> présents dans l'échantillon à analyser*

Soit :

k<sub>1</sub> = le coefficient de proportionnalité de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

k<sub>2</sub> = le coefficient de proportionnalité de CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub>,

m<sub>a</sub> = la masse de CHCl<sub>3</sub>,

m<sub>e</sub> = la masse de l'échantillon à analyser,

A<sub>a</sub> = l'aire du pic de CHCl<sub>3</sub>,

A<sub>1</sub> = l'aire du pic de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,

A<sub>2</sub> = l'aire du pic de CH<sub>3</sub>CCl<sub>3</sub>.

On aura :

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

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

## 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.



**XIV. 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 photocolorimétrie 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 ( $\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ ).
- 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. Célite 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. *Liquor 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 dihydrogénééthylènediaminotétracétate de disodium à 5 % (m/v).
- 4.22. *Solution tampon de pH 7*
- Peser 27 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  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. *Echantillons solides et crèmes*

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 %.

## XV. 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<sub>3</sub>.

### 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, hydrogencarbonate, 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. Antirousse liquide.

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

#### 4.7. Indicateur : mélange 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 4725.

## 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  $\text{NH}_3$ .
- 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. Dosier 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 :

 $V_1$  (ml) = le volume de la solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N (4.6) utilisé, $T_1$  = le titre de la solution d'hydroxyde de sodium 0,5 N (4.6), $T_2$  = 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  $\text{NH}_3$  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 %.

## XVI. 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.



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  $3 \times 10^{-10}$ A.

#### 5.3.3.3. Température

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%.

### XVII. IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'ACIDE THIOLYCOLIQUE 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'H<sub>2</sub>S 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' $H_2S$  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  $SO_2$  après passage en milieu acide**

Procéder comme en 4.1.2.2. Porter à ébullition.

Le  $SO_2$  est reconnaissable à son odeur et à ses propriétés réductrices vis-à-vis de  $MnO_4^-$  — 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  $\geq 98\%$  (ATG).

4.2.1.2. Acide dithioglycolique, pureté  $\geq 99\%$  (ADTG).

4.2.1.3. Acide thiolactique, pureté  $\geq 95\%$  (ATL).

4.2.1.4. Acide 3-mercaptopropionique, pureté  $\geq 98\%$  (AMP).

4.2.1.5. 1-thioglycérol, pureté  $\geq 98\%$  (TG).

4.2.1.6. Gel de silice GHR ou plaques prêtes à l'emploi correspondantes d'épaisseur 0,25 mm activées à  $110^\circ C$  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  $CCl_4$  (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 dithioglycolique 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 R<sub>f</sub> et la couleur des solutions de référence avec celle de la solution échantillon. Les R<sub>f</sub> 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 R<sub>f</sub> 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
l-thioglycérol	0,35	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 I<sub>2</sub> 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 méthyle 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  $d_{20}^{20} = 1,19$ .

## 5.2.2.3. Méthanol.

5.2.2.4. Solution aqueuse de di(acétate) de cadmium  $2 H_2O$  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,  $3 H_2O$  : 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. Diéthoxyde.
- 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 diéthoxyde (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 x g.  
Décanter 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 diéthoxyde (5.2.2.11), introduire

- 50 µl de la solution S. Méthylar 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
- Phthalate 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 méthylié.
- 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.

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

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<sup>(1)</sup>

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 %.

## XVIII. 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. Cérite 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 x 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 (4.3) et 1 ml de diéthylxyde (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) <sup>(1)</sup>.

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.

<sup>(1)</sup> 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 %.

## XIX. 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. Butanol-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 diéthyloéther (4.4). Sécher si nécessaire les phases éthérées et les recueillir dans une fiole jaugée de 50 ml. Compléter au trait avec du diéthyloéther (4.4).

6.2.2. Prélever 25 ml de l'extrait éthéré, 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  $\mu$ l du résidu dissous dans l'éthanol (6.2).

Déposer de la même façon 8, 12, 16 et 20  $\mu$ l 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  $\mu$ g) 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,

$a$  ( $\mu\text{g}$ ) = quantité de 4-toluène sulfonamide exprimée en  $\mu\text{g}$  contenue dans l'échantillon et lue sur la droite d'étalonnage,

$m$  ( $\text{g}$ ) = 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%.

### XX. 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  $d_{20}^{20} = 1,19$ .

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 SMB<sub>1</sub> 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 téflon 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 (m).
- 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),

m<sub>1</sub> = 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 %.

## XXI. 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. DOSAGE

## 1. 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-jugée 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  $\mu\text{g}$  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.

**XXII. 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 minutes 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 de l'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 minutes 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. Titrage

- 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. Dosier 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:

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

où

- $n_1$  = nombre de ml de solution d'iode utilisée (4.3),  
 $x_1$  = normalité de cette solution,  
 $n_2$  = nombre de ml de 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 REPETABILITE (selon la norme ISO 5725)

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 %

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 5 novembre 1985.

Par le Roi:  
 Le Ministre des Affaires sociales,

J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique et à l'Environnement,  
 F. AERTS.