II

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

COMMISSION

CINQUIÈME DIRECTIVE 93/73/CEE DE LA COMMISSION

du 9 septembre 1993

relative aux méthodes d'analyse nécessaires aux contrôles de la composition des produits cosmétiques

LA COMMISSION DES COMMUNAUTÉS EUROPÉENNES,

vu le traité instituant la Communauté économique européenne,

vu la directive 76/768/CEE du Conseil, du 27 juillet 1976, concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques (1), modifiée en dernier lieu par la directive 93/35/CEE (2), et notamment son article 8 paragraphe 1,

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

considérant qu'il convient d'établir le plus rapidement possible toutes les méthodes d'analyse nécessaires et que, pour atteindre ce but, quatre étapes ont été réalisées par la directive 80/1335/CEE de la Commission (3), modifiée par la directive 87/143/CEE (4), par la directive 82/434/CEE de la Commission (5), modifiée par la directive 90/207/CEE (6), et par les directives 83/514/CEE (7) et 85/490/CEE de la Commission (8) ; que l'identification et le dosage du nitrate d'argent, l'identification et le dosage du disulfure de sélénium dans les shampooings antipelliculaires, le dosage du baryum et du strontium solubles dans des pigments sous forme de sels ou de laques, l'identification et le dosage de l'alcool benzylique, l'identification du zirconium, le dosage du zirconium, de l'aluminium et du chlore dans les antisudoraux autres que les aérosols et l'identification et le dosage de l'hexamidine, de la dibromohexamidine, de la dibromopropamidine et de la chlorhexidine constituent une cinquième étape ;

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

A ARRÊTÉ LA PRÉSENTE DIRECTIVE :

Article premier

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

— l'identification et le dosage du nitrate d'argent,

— l'identification et le dosage du disulfure de sélénium dans les shampooings antipelliculaires,

— le dosage du baryum et du strontium solubles dans des pigments se présentant sous forme de sels ou de laques,

— l'identification et le dosage de l'alcool benzylique,

— l'identification du zirconium et le dosage du zirconium, de l'aluminium et du chlore dans les antisudoraux autres que les aérosols,

— l'identification et le dosage de l'hexamidine, de la dibromohexamidine, de la dibromopropamidine et de la chlorhexidine

soient effectués selon les méthodes décrites à l'annexe.

(1) JO n° L 262 du 27. 9. 1976, p. 169.
(2) JO n° L 151 du 23. 6. 1993, p. 32.
(3) JO n° L 383 du 31. 12. 1980, p. 27.
(4) JO n° L 57 du 27. 2. 1987, p. 56.
(5) JO n° L 185 du 30. 6. 1982, p. 1.
(6) JO n° L 108 du 28. 4. 1990, p. 92.
(7) JO n° L 291 du 24. 10. 1983, p. 9.
(8) JO n° L 295 du 7. 11. 1985, p. 30.

Article 2

1. Les États membres mettent en vigueur les dispositions législatives, réglementaires ou administratives nécessaires pour se conformer à la présente directive au plus tard le 30 septembre 1994. Ils en informent immédiatement la Commission.

Lorsque les États membres adoptent ces dispositions, celles-ci contiennent une référence à la présente directive ou sont accompagnées d'une telle référence lors de leur publication officielle. Les modalités de cette référence sont arrêtées par les États membres.

2. Les États membres communiquent à la Commission le texte des dispositions de droit interne qu'ils adoptent dans le domaine régi par la présente directive.

Article 3

Les États membres sont destinataires de la présente directive.

Fait à Bruxelles, le 9 septembre 1993.

Par la Commission

Christiane SCRIVENER

Membre de la Commission

ANNEXE

IDENTIFICATION ET DOSAGE DU NITRATE D'ARGENT DANS LES PRODUITS COSMÉTIQUES

A. Identification

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit l'identification du nitrate d'argent en tant qu'argent dans les produits cosmétiques aqueux.

2. *Principe*

L'argent est identifié par le précipité blanc caractéristique formé avec les ions chlorure.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Solution d'acide chlorhydrique 2 M

3.2. Solution d'ammoniaque : diluer une solution concentrée d'ammoniaque (d_{20} = 0,88 g/ml) en ajoutant la même quantité d'eau et mélanger.

3.3. Acide nitrique 2 M

4. *Appareillage*

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. Centrifugeuse

5. *Mode opératoire*

5.1. Dans un tube à centrifuger, ajouter à environ 1 g d'échantillon quelques gouttes d'acide chlorhydrique 2 M (3.1) jusqu'à précipitation complète. Mélanger et centrifuger.

5.2. Éliminer le surnageant, laver le précipité avec 5 gouttes d'eau froide. Éliminer les produits de lavage.

5.3. Ajouter un volume d'eau égal à celui du précipité dans le tube. Chauffer jusqu'à ébullition et mélanger.

5.4. Centrifuger à chaud et éliminer le liquide surnageant.

5.5. Ajouter au précipité quelques gouttes de solution d'ammoniaque (3.2), mélanger, centrifuger et séparer.

5.6. Sur une lamelle de verre, ajouter à une goutte du liquide surnageant quelques gouttes d'acide nitrique 2 M dilué (3.3).

5.7. Un précipité blanc indique la présence d'argent.

B. Dosage

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit le dosage du nitrate d'argent en tant qu'argent dans les produits cosmétiques destinés à colorer les cils ou les sourcils.

2. *Principe*

L'argent est dosé dans le produit par spectrométrie d'absorption atomique.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Solution d'acide nitrique (0,02 M)

3.2. Solutions d'argent titrées

3.2.1. Solution mère de nitrate d'argent : 1 000 µg/ml dans une solution d'acide nitrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent).

3.2.2. Solution diluée d'argent (100 µg/ml) : à l'aide d'une pipette, transférer 10 ml de la solution mère (3.2.1) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec une solution d'acide nitrique 0,02 M (3.1) et mélanger. Cette solution titrée doit être fraîchement préparée et stockée dans un flacon en verre teinté.

4. *Appareillage*

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. Spectromètre d'absorption atomique équipé d'une lampe cathodique creuse à l'argent.

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

Dans une fiole jaugée de 1 000 ml, peser avec précision environ 0,1 g (m gramme) d'un échantillon homogène du produit, compléter au trait avec de l'acide nitrique 0,02 M (3.1) et mélanger.

5.2. Absorption atomique

Longueur d'onde : 338,3 nm

Flamme : air-acétylène

Correction de base : oui

Conditions de la combustion : pauvre. Pour une absorption maximale, il sera nécessaire d'optimiser les conditions de la combustion et la hauteur de la flamme.

5.3. Étalonnage

5.3.1. À l'aide d'une pipette, introduire respectivement : 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 et 5,0 ml de la solution diluée d'argent (3.2.2) dans des fioles jaugées de 100 ml. Compléter au trait avec de l'acide nitrique (3.1) et mélanger. Les solutions étalons ainsi obtenues contiennent respectivement 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 et 5,0 µg d'argent par millilitre.

5.3.2. Mesurer la valeur d'absorption de la solution d'acide nitrique 0,02 M (3.1). Cette valeur représente le blanc de la courbe étalon.

Mesurer l'absorption de chaque standard (5.3.1) et tracer la courbe reliant les valeurs d'absorption à la concentration en argent.

5.4. Dosage

Mesurer l'absorption de la solution échantillon (5.1). À l'aide de la courbe d'étalonnage, déduire la concentration en argent correspondant à la valeur d'absorption de la solution échantillon.

6. *Calcul*

Calculer la teneur en nitrate d'argent, en pourcentage de masse (% m/m) à l'aide de la formule :

$$\% \text{ (m/m) de nitrate d'argent} = \frac{1{,}5748 \times c}{10 \times m}$$

où :

m = masse, exprimée en grammes, de l'échantillon utilisé pour l'analyse (5.1),

c = concentration en argent de la solution échantillon (5.1), exprimée en microgrammes par millilitre, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

7. *Répétabilité*(1)

Pour une teneur en argent de 4 % (m/m), la différence entre les résultats des deux déterminations effectuées en parallèle sur le même échantillon ne devrait pas excéder 0,05 % (m/m).

IDENTIFICATION ET DOSAGE DU DISULFURE DE SÉLÉNIUM DANS LES SHAMPOOINGS ANTIPELLICULAIRES

A. Identification

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode concerne l'identification du disulfure de sélénium en tant que sélénium dans les shampooings antipelliculaires.

2. *Principe*

Le sélénium est mis en évidence par la couleur caractéristique jaune à orange produite par réaction avec l'urée et l'iodure de potassium.

(1) ISO 5725

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être analytiquement purs.

3.1. Acide nitrique concentré (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Urée

3.3. Solution d'iodure de potassium à 10 % (m/v) : dissoudre 10g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau

4. *Appareillage*

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. Tubes de digestion de 100 ml

4.3. Bloc chauffant digesteur

4.4. Papier filtre (Whatman n° 42 ou équivalent) ou membrane filtrante de 0,45 µm

5. *Mode opératoire*

5.1. Introduire environ 1 g de shampooing dans un tube de digestion (4.2), ajouter 2,5 ml d'acide nitrique concentré (3.1) et faire digérer à 150 °C pendant 30 minutes dans le bloc chauffant (4.3).

5.2. Diluer l'échantillon digéré avec 25 ml d'eau et filtrer à l'aide d'un filtre en papier ou sur membrane 0,45 µm (4.4).

5.3. À 2,5 ml du filtrat, ajouter 5 ml d'eau et 2,5 g d'urée (3.2) puis porter à ébullition. Laisser refroidir, puis ajouter 1 ml de solution d'iodure de potassium (3.3).

5.4. Une couleur jaune à orange qui fonce rapidement au repos indique la présence de sélénium.

B. Dosage

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode est applicable au dosage du disulfure de sélénium en tant que sélénium dans les shampooings antipelliculaires contenant jusqu'à 4,5 % (m/m) de disulfure de sélénium.

2. *Principe*

L'échantillon est digéré à l'aide d'acide nitrique, puis la concentration en sélénium du digestat obtenu est évaluée par spectrométrie d'absorption atomique.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être analytiquement purs.

3.1. Acide nitrique concentré (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Solution d'acide nitrique 5 % (v/v) : dans un becher, ajouter 50 ml d'acide nitrique concentré (3.1) à 500 ml d'eau en remuant constamment. Transférer cette solution dans une fiole jaugée d'un litre et compléter jusqu'au trait avec de l'eau.

3.3. Solution mère de sélénium, 1 000 µg/ml dans une solution d'acide nitrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent).

4. *Appareillage*

4.1. Équipement normal de laboratoire

4.2. Tube de digestion de 100 ml

4.3. Bloc chauffant digesteur

4.4. Papier filtre (Whatman n° 42 ou équivalent) ou membrane filtrante 0,45 µm.

4.5. Spectromètre d'absorption atomique avec lampe à cathode creuse au sélénium.

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

5.1.1. Peser avec précision environ 0,2 g (m gramme) d'un échantillon homogène de shampooing et l'introduire dans le tube de digestion (4.2).

5.1.2. Ajouter 5 ml d'acide nitrique concentré (3.1) et faire digérer à 150 °C pendant une heure dans un bloc chauffant (4.3).

5.1.3. Laisser refroidir la solution, puis diluer avec 100 ml d'eau. Filtrer à l'aide d'un filtre en papier ou sur membrane 0,45 µm (4.4) et conserver le filtrat pour le dosage.

5.2. Conditions de l'absorption atomique

Flamme : air-acétylène

Longueur d'onde : 196 nm

Correction de base : oui

Conditions du combustible : pauvre. Pour une absorbance maximale, il sera nécessaire d'optimiser la hauteur du brûleur et les conditions du combustible.

5.3. Étalonnage

5.3.1. Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 et 5,0 ml de la solution mère titrée de sélénium (3.3). Compléter au trait avec une solution d'acide nitrique 5 % (v/v) (3.2) et mélanger. Ces solutions contiennent respectivement 10, 20, 30, 40 et 50 µg de sélénium par millilitre.

5.3.2. Mesurer l'absorption de la solution d'acide nitrique 5 % (v/v) (3.2) et utiliser cette valeur comme zéro de la concentration en sélénium pour la courbe d'étalonnage. Mesurer l'absorption de chaque solution standard (5.3.1). Tracer une courbe d'étalonnage reliant la valeur d'absorption à la concentration en sélénium.

5.4. Dosage

Mesurer l'absorption de la solution échantillon (5.1.3). À l'aide de la courbe d'étalonnage, déduire la concentration de sélénium correspondant à la valeur d'absorption obtenue.

6. *Calcul*

Calculer la teneur en disulfure de sélénium, en pourcentage de masse (% m/m) à l'aide de la formule :

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

où :

m = masse exprimée en grammes de l'échantillon utilisé pour l'analyse (5.1.1),

c = concentration de sélénium de l'échantillon, exprimée en microgrammes par millilitre, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

7. *Répétabilité*(1)

Pour une teneur en disulfure de sélénium de 1 % (m/m) la différence entre les résultats des deux déterminations effectuées en parallèle sur le même échantillon ne devrait pas excéder 0,05 % (m/m).

DOSAGE DU BARYUM ET DU STRONTIUM SOLUBLES DANS DES PIGMENTS SE PRÉSENTANT SOUS FORME DE SELS OU DE LAQUES

A. Dosage du baryum soluble

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit l'extraction et le dosage du baryum soluble présent dans des pigments se présentant sous forme de sels ou de laques.

2. *Principe*

Le pigment est extrait à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 0,07 M dans des conditions définies et la quantité de baryum soluble présente dans le solvant d'extraction est dosée par spectrométrie d'absorption atomique.

(1) ISO 5725

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Éthanol absolu

3.2. Solution d'acide chlorhydrique 0,07 M

3.3. Solution d'acide chlorhydrique 0,5 M

3.4. Solution de chlorure de potassium 8 % (m/v) : dissoudre 16 g de chlorure de potassium dans 200 ml de solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2).

3.5. Solutions titrées de baryum

3.5.1. Solution mère de baryum à 1 000 µg/ml dans une solution d'acide nitrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent)

3.5.2. Solution diluée de baryum à 200 µg/ml : introduire à l'aide d'une pipette 20,0 ml de solution mère de baryum (3.5.1) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec une solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) et mélanger.

4. *Appareillage*

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. pH-mètre d'une précision de ± 0,02 unité

4.3. Agitateur mécanique à arbre oscillant

4.4. Membrane filtrante de porosité 0,45 µm

4.5. Spectromètre d'absorption atomique à lampe à cathode creuse au baryum

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

5.1.1. Peser avec précision environ 0,5 g (m gramme) de pigment dans une fiole conique qui offre un volume suffisant pour une agitation efficace (ne pas utiliser de fiole de volume inférieur à 150 ml).

5.1.2. À l'aide d'une pipette, ajouter 1,0 ml d'éthanol (3.1) et faire tourner la fiole de façon à ce que le pigment soit complètement mouillé. À l'aide d'une burette ajouter la quantité de solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) nécessaire pour obtenir un rapport volume d'acide/masse de pigment d'exactement 50 millilitres par gramme. Le volume total du solvant d'extraction, y compris l'éthanol, correspond à V ml. Agiter le contenu de la fiole pendant 5 secondes pour assurer un mélange intime des différents éléments.

5.1.3. À l'aide d'un pH-mètre (4.2), mesurer le pH de la suspension obtenue, et s'il est supérieur à 1,5 ajouter goutte à goutte la solution d'acide chlorhydrique 0,5 M (3.3) jusqu'à ce que le pH soit compris entre 1,4 et 1,5.

5.1.4. Boucher et agiter immédiatement la fiole pendant 60 minutes à l'aide d'un agitateur (4.3). Cet agitateur doit être actionné à une vitesse suffisante pour produire de la mousse. Filtrer sur membrane de porosité 0,45 µm (4.4) et récupérer le filtrat (ne pas centrifuger avant filtration). À l'aide d'une pipette, introduire 5,0 ml du filtrat dans une fiole jaugée de 50 ml et ajuster au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2), puis mélanger. Cette solution est également utilisée pour la détermination du strontium (partie B).

5.1.5. Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 5,0 ml de solution de chlorure de potassium (3.4) et une partie aliquote (W_{Ba} ml) de filtrat dilué (5.1.4) suffisante pour obtenir une concentration comprise entre 3 et 10 µg par millilitre (10 ml devraient constituer un point de départ satisfaisant). Ajuster au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) et mélanger.

5.1.6. Déterminer la concentration en baryum du filtrat (5.1.5) par spectrométrie d'absorption atomique extemporanément.

5.2. Conditions de l'absorption atomique

Flamme : protoxyde d'azote/acétylène

Longueur d'onde : 553,5 nm

Correction de base : non

Conditions du combustible : pauvre. Pour une absorbance maximale, il sera nécessaire d'optimiser la hauteur du brûleur et les conditions du combustible.

5.3. Étalonnage

5.3.1. Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 et 5,0 ml de solution diluée de baryum (3.5.2), puis 5,0 ml de solution de chlorure de potassium (3.4). Compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique (3.2) et mélanger. Ces solutions contiennent respectivement 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 et 10,0 µg de baryum par millilitre.

Parallèlement préparer un blanc sans baryum.

5.3.2. Mesurer l'absorbance de la solution d'essai à blanc (5.3.1) et utiliser la valeur obtenue comme zéro de concentration en baryum pour la courbe d'étalonnage. Mesurer l'absorption de chaque solution standard (5.3.1). Tracer la courbe d'étalonnage reliant les valeurs d'absorption à la concentration en baryum.

5.4. Dosage

Mesurer l'absorption de la solution échantillon (5.1.5). À l'aide de la courbe d'étalonnage, déduire la concentration en baryum correspondant à la valeur d'absorption obtenue.

6. *Calcul*

La teneur en baryum soluble (% m/m) du pigment s'obtient à l'aide de la formule :

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

où :

m = masse, exprimée en grammes, de l'échantillon utilisé pour l'analyse (5.1.1),

c = concentration en baryum de la solution échantillon (5.1.5), exprimée en microgrammes par millilitre, obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage,

V = volume total du solvant d'extraction exprimé en millilitres (5.1.2),

W_{Ba} = volume d'extrait en ml prélevé en 5.1.5.

7. *Répétabilité*

La meilleure estimation possible pour la répétabilité (ISO 5725) de cette méthode est de 0,30 % pour une teneur en baryum soluble de 2 % (m/m).

8. *Remarques*

8.1. Dans certaines conditions, l'absorption du baryum peut être augmentée par la présence de calcium ; cela peut être contrecarré par l'addition d'ions Mg à la concentration de 5 g/l (1).

8.2. L'utilisation de la spectrométrie à plasma à couplage inductif est autorisée en remplacement de la spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

B. Dosage du strontium soluble

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit l'extraction et le dosage du strontium soluble présent dans des pigments se présentant sous forme de sels ou de laques.

2. *Principe*

Le pigment est extrait à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 0,07 M dans des conditions définies, et la quantité de strontium soluble présente dans le solvant d'extraction est dosée par spectrométrie d'absorption atomique.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Éthanol absolu

3.2. Solution d'acide chlorhydrique 0,07 M

3.3. Solution de chlorure de potassium 8 % (m/v) : dissoudre 16 g de chlorure de potassium dans 200 ml de solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2)

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

3.4. Solutions titrées de strontium

3.4.1. Solution mère de strontium, à 1 000 µg/ml dans une solution d'acide nitrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent)

3.4.2. Solution diluée de strontium à 100 µg/ml : introduire à l'aide d'une pipette 10,0 ml de solution mère de strontium (3.4.1) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec une solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) et mélanger.

4. *Appareillage*

4.1. Matériel courant de laboratoire

4.2. Filtre à membrane de porosité 0,45 µm

4.3. Spectromètre d'absorption atomique à lampe à cathode creuse au strontium

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

La solution préparée en A 5.1.4 est utilisée pour doser le contenu en strontium soluble.

5.1.1. Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 5,0 ml de solution de chlorure de potassium (3.3) et une partie aliquote (W_{Sr} ml) de filtrat dilué (A 5.1.4) suffisante pour obtenir une concentration en strontium comprise entre 2 et 5 µg par millilitre (25 ml devraient constituer un point de départ satisfaisant). Compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) et mélanger.

5.1.2. Déterminer la concentration en strontium du filtrat (5.1.1) par spectrométrie d'absorption atomique extemporanément.

5.2. Conditions de l'absorption atomique

Flamme : protoxyde d'azote/acétylène

Longueur d'onde : 460,7 nm

Correction de base : non

Conditions du combustible : pauvre. Pour une absorbance maximale, il sera nécessaire d'optimiser la hauteur du brûleur et les conditions du combustible.

5.3. Étalonnage

5.3.1. Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ; 4,0 et 5,0 ml de solution diluée de strontium (3.4.2). Introduire à l'aide d'une pipette 5,0 ml de solution de chlorure de potassium (3.3) et compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 0,07 M (3.2) et mélanger. Ces solutions contiennent respectivement 1,0 ; 2,0 ; 4,0 ; 5,0 µg de strontium par millilitre.

Parallèlement préparer un blanc sans strontium.

5.3.2. Mesurer l'absorption du blanc et utiliser la valeur obtenue comme zéro de concentration en strontium pour la courbe d'étalonnage. Mesurer l'absorption de chaque solution standard (5.3.1). Tracer la courbe d'étalonnage reliant les valeurs d'absorption à la concentration en strontium.

5.4. Dosage

Mesurer l'absorption de la solution échantillon (5.1.1). À l'aide de la courbe d'étalonnage, déduire la concentration en strontium correspondant à la valeur d'absorption obtenue.

6. *Calcul*

La teneur en strontium soluble (% m/m) du pigment s'obtient à l'aide de la formule :

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

où :

m = masse, exprimée en grammes, de l'échantillon utilisé pour l'analyse (A 5.1.1),

c = concentration en strontium de la solution échantillon (5.1.1), exprimée en microgrammes par millilitre, obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage,

V = volume total du solvant d'extraction exprimé en millilitres (5.1.2),

W_{Sr} = volume d'extrait en ml prélevé en 5.1.1.

7. *Répétabilité*

La meilleure estimation possible pour la répétabilité (ISO 5725) de cette méthode est de 0,09 % pour une teneur en strontium soluble de 0,6 % (m/m).

8. *Remarque*

L'utilisation de la spectrométrie à plasma à couplage inductif est autorisée en remplacement de la spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'ALCOOL BENZYLIQUE DANS LES PRODUITS COSMÉTIQUES

A. Identification

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit l'identification de l'alcool benzylique dans les produits cosmétiques.

2. *Principe*

L'alcool benzylique est identifié par chromatographie sur couche mince de gel de silice.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Alcool benzylique

3.2. Chloroforme

3.3. Éthanol absolu

3.4. n-Pentane

3.5. Solvant d'élution : oxyde de diéthyle

3.6. Solution titrée d'alcool benzylique : introduire 0,1 g d'alcool benzylique (3.1) dans une fiole jaugée de 100 ml, compléter au trait avec de l'éthanol (3.3) et mélanger.

3.7. Plaques de chromatographie sur couche mince en verre, dimensions 100 mm × 200 mm ou 200 mm × 200 mm recouvertes d'une couche de gel de silice 60 F_{254} (épaisseur 0,25 mm)

3.8. Révélateur : acide 12-molybdophosphorique 10 % (m/v) dans de l'éthanol (3.3)

4. *Appareillage*

4.1. Équipement de chromatographie sur couche mince

4.2. Cuve de chromatographie avec chambre à deux bacs, dimensions hors tout environ 80 mm × 230 mm × 240 mm

4.3. Papier pour chromatographie : Whatman ou équivalent

4.4. Lampe UV, longueur d'onde : 254 nm.

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

Peser 1,0 g du produit à analyser et le placer dans une fiole jaugée de 10 ml. Ajouter 3 ml de chloroforme (3.2) et agiter vigoureusement jusqu'à dispersion du produit. Compléter au trait avec de l'éthanol (3.3) et agiter vigoureusement afin d'obtenir une solution la plus claire possible.

5.2. Chromatographie sur couche mince

5.2.1. Saturer la cuve de chromatographie (4.2) avec du n-pentane (3.4) en procédant de la manière suivante : recouvrir la paroi de la chambre adjacente au bac arrière avec du papier pour chromatographie (4.3) en veillant à ce que le bord inférieur du papier plonge dans le bac. Transférer 25 ml de n-pentane (3.4) dans le bac arrière, en le versant sur la surface du revêtement de papier. Replacer immédiatement le couvercle et laisser reposer pendant 15 minutes.

5.2.2. Déposer 10 µl de solution échantillon (5.1) et 10 µl de solution standard (3.6). Sur la ligne de dépôt (3.7), laisser sécher.

5.2.3. À l'aide d'une pipette, introduire 10 ml d'oxyde de diéthyle (3.5) dans le bac avant de la cuve et placer immédiatement la plaque (5.2.2) dans ce bac. Replacer immédiatement le couvercle sur la cuve et développer la plaque sur 150 mm. Retirer la plaque de la cuve et laisser sécher à température ambiante.

5.2.4. Observer la plaque (5.2.3) sous UV et marquer la position des taches violettes. Vaporiser sur la plaque le réactif révélateur (3.8) puis chauffer à 120 °C pendant une quinzaine de minutes. L'alcool benzylique apparaît sous forme d'une tache bleu foncé.

5.2.5. Calculer le R_f obtenu avec la solution standard d'alcool benzylique. Une tache bleu foncé avec même R_f, obtenue avec la solution échantillon, confirme la présence d'alcool benzylique.

Limite de détection : 0,1 µg d'alcool benzylique.

B. Dosage

1. *Objet et champ d'application*

Cette méthode décrit le dosage de l'alcool benzylique dans les produits cosmétiques.

2. *Définition*

La quantité d'alcool benzylique déterminée par cette méthode est exprimée en pourcentage de masse (% m/m).

3. *Principe*

L'échantillon est extrait à l'aide de méthanol et la quantité d'alcool benzylique présente dans l'extrait est dosée par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP).

4. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique et convenir pour la CLHP.

4.1. Méthanol

4.2. 4-Éthoxyphénol

4.3. Alcool benzylique

4.4. Phase mobile : méthanol (4.1)/eau (45 : 55 ; v/v)

4.5. Solution mère d'alcool benzylique : peser avec précision environ 0,1 g d'alcool benzylique (4.3) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec du méthanol (4.1) puis mélanger.

4.6. Solution d'étalon interne : peser avec précision environ 0,1 g de 4-éthoxyphénol (4.2) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au trait avec du méthanol (4.1) puis mélanger.

4.7. Solutions étalons : dans une série de fioles jaugées de 25 ml, introduire à l'aide d'une pipette les volumes de solution mère d'alcool benzylique (4.5) et de solution d'étalon interne (4.6) conformément au tableau ci-dessous. Compléter ensuite jusqu'au trait avec du méthanol (4.1) et mélanger.

Solution étalon	Alcool benzylique		4-Éthoxyphénol	
	ml (4.5) ajouté(s)	µg/ml (*)	ml (4.6) ajoutés	µg/ml (*)
I	0,5	20	2,0	80
II	1,0	40	2,0	80
III	2,0	80	2,0	80
IV	3,0	120	2,0	80
V	5,0	200	2,0	80

(*) Ces valeurs sont données à titre indicatif et correspondent aux concentrations des solutions mères préparées à l'aide de solutions d'alcool benzylique (4.5) et de 4-éthoxyphénol (4.6) contenant exactement 0,1 % (m/v) d'alcool benzylique et 0,1 % (m/v) de 4-éthoxyphénol, respectivement.

5. *Appareillage*

5.1. Équipement normal de laboratoire

5.2. Équipement de chromatographie haute performance avec détecteur ultraviolet à longueur d'onde variable et boucle d'injection de 10 µl

5.3. Colonne en acier inoxydable, 250 mm × 4,6 mm, remplie avec du Spherisorb ODS 5 µm ou équivalent.

5.4. Bain-marie

5.5. Bain à ultrasons

5.6. Centrifugeuse

5.7. Tubes de centrifugations de capacité 15 ml

6. *Mode opératoire*

6.1. Préparation de l'échantillon

6.1.1. Peser avec précision environ 0,1 g (m gramme) d'échantillon dans un tube à centrifuger (5.7) et ajouter 5 ml de méthanol (4.1).

6.1.2. Chauffer pendant 10 minutes au bain-marie (5.4) à 50 °C puis placer dans un bain à ultrasons (5.5) jusqu'à dispersion complète de l'échantillon.

6.1.3. Laisser refroidir puis centrifuger à 3 500 t/m pendant 5 minutes.

6.1.4. Transférer le liquide surnageant dans une fiole jaugée de 25 ml.

6.1.5. Procéder à une nouvelle extraction de l'échantillon à l'aide de 5 ml supplémentaires de méthanol (4.1). Combiner les extraits obtenus dans la fiole jaugée de 25 ml.

6.1.6. Introduire à l'aide d'une pipette 2,0 ml de solution d'étalon interne (4.6) dans la fiole jaugée de 25 ml (6.1.5). Compléter au trait avec du méthanol (4.1) et mélanger. Cette solution est utilisée lors de l'analyse par chromatographie décrite au point 6.4.

6.2. Chromatographie

6.2.1. Installer l'équipement de chromatographie en phase liquide à haute performance (5.2) de la manière habituelle. Régler le débit de la phase mobile (4.4) à 2,0 ml par minute.

6.2.2. Régler la longueur d'onde du détecteur UV (5.2) à 210 nm.

6.3. Étalonnage

6.3.1. Injecter 10 µl de chaque solution étalon (4.7) et mesurer les surfaces des pics d'alcool benzylique et de 4-éthoxyphénol.

6.3.2. Pour chaque concentration de solution étalon (4.7), calculer le rapport entre les surfaces des pics d'alcool benzylique et de 4-éthoxyphénol. Tracer la courbe d'étalonnage avec ces rapports en ordonnée et en abscisse les concentrations correspondantes d'alcool benzylique exprimées en µg par millilitre.

6.4. Dosage

6.4.1. Injecter 10 µl de solution échantillon (6.1.6) et mesurer les surfaces des pics d'alcool benzylique et de 4-éthoxyphénol. Calculer le rapport entre les surfaces. Répéter l'opération avec 10 µl de la solution échantillon jusqu'à obtention de résultats cohérents.

6.4.2. À l'aide de la courbe d'étalonnage 6.3.2, déduire la concentration en alcool benzylique correspondant au rapport entre les surfaces des pics d'alcool benzylique et de 4-éthoxyphénol.

7. *Calcul*

Calculer la teneur en alcool benzylique de l'échantillon en pourcentage de masse à l'aide de la formule :

$$\% \text{ (m/m) d'alcool benzylique} = \frac{c}{400 \times m}$$

où

m = masse, exprimée en grammes, de l'échantillon utilisé pour l'analyse (6.1.1),

c = concentration en alcool benzylique dans la solution échantillon 6.1.6, exprimée en microgrammes par millilitre, obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage.

8. *Répétabilité* (1)

Pour une teneur en alcool benzylique de 1 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages effectués en parallèle sur le même échantillon ne devrait pas excéder 0,10 %.

(1) ISO 5725

IDENTIFICATION DU ZIRCONIUM ET DÉTERMINATION DU ZIRCONIUM, DE L'ALUMINIUM ET DU CHLORE DANS LES ANTISUDORAUX AUTRES QUE LES AÉROSOLS

La méthode comprend cinq étapes :

A. Identification du zirconium

B. Détermination du zirconium

C. Détermination de l'aluminium

D. Détermination du chlore

E. Calcul des rapports des atomes de zirconium avec les atomes d'aluminium, et des atomes de zirconium et d'aluminium avec les atomes de chlore

A. Identification du zirconium

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode concerne l'identification du zirconium dans les produits cosmétiques antisudoraux autres que les aérosols. Il n'a pas été envisagé de méthodes pour l'identification du complexe hydroxyde chlorure d'aluminium zirconium [$Al_xZR(OH)_yCl_z.nH_2O$].

2. *Principe*

Le zirconium est identifié par le précipité rouge-violet caractéristique produit avec de l'alizarine S en milieu fortement acide.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de pureté analytique.

3.1. Acide chlorhydrique concentré (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Solution d'alizarine S (Cl. 58005) : alizarine sulfonate de sodium aqueux à 2 % (m/v).

4. *Appareillage*

4.1. Équipement usuel de laboratoire

5. *Mode opératoire*

5.1. Ajouter 2 ml d'eau à environ 1 g d'échantillon dans un tube à essai. Boucher et agiter.

5.2. Ajouter trois gouttes de solution d'alizarine S (3.2), puis 2 ml d'acide chlorhydrique concentré (3.1). Boucher et agiter.

5.3. Laisser reposer pendant environ 2 minutes.

5.4. Un précipité rouge-violet surnageant indique la présence de zirconium.

B. Détermination du zirconium

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode convient pour la détermination du zirconium dans des complexes hydroxydes de chlorure d'aluminium zirconium, jusqu'à une concentration de 7,5 % maximum de zirconium dans des antisudoraux autres que des aérosols.

2. *Principe*

Le zirconium est extrait du produit en milieu acide, et déterminé par spectrométrie d'absorption atomique.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de pureté analytique.

3.1. Acide chlorhydrique concentré (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Solution d'acide chlorhydrique, 10 % (v/v) : ajouter 100 ml d'acide chlorhydrique concentré (3.1) à 500 ml d'eau dans un becher, en remuant continuellement. Transférer cette solution dans une fiole jaugée d'un litre, et compléter au trait avec de l'eau.

3.3. Réserve de solution titrée de zirconium, 1 000 µg/ml dans une solution d'acide chlorhydrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent).

3.4. Réactif, chlorure d'aluminium (hydraté) [$AlCl_3.6H_2O$] : dissoudre 22,6 g d'hexahydrate de chlorure d'aluminium dans 250 ml de solution d'acide chlorhydrique 10 % (3.2).

3.5. Réactif, chlorure d'ammonium : dissoudre 5,0 g de chlorure d'ammonium dans 250 ml de solution d'acide chlorhydrique 10 % (v/v) (3.2).

4. *Appareillage*

4.1. Équipement normal de laboratoire

4.2. Plaque chauffante à agitation magnétique

4.3. Papier filtre (Whatman n° 41 ou équivalent)

4.4. Spectrophotomètre d'absorption atomique à lampe à cathode creuse au zirconium

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation des échantillons

5.1.1. Peser avec précision approximativement 1,0 g (m gramme) d'un échantillon homogène du produit dans un becher de 150 ml. Ajouter 40 ml d'eau et 10 ml d'acide chlorhydrique concentré (3.1).

5.1.2. Placer le becher sur une plaque chauffante à agitation magnétique (4.2). Commencer l'agitation et chauffer jusqu'à ébullition. Pour éviter un dessèchement rapide, placer un verre de montre sur le becher. Laisser bouillir 5 minutes, retirer le becher de la plaque et laisser refroidir à température ambiante.

5.1.3. À l'aide du papier filtre (4.3), filtrer le contenu du becher dans une fiole jaugée de 100 ml. Rincer le becher avec deux portions de 10 ml d'eau, et ajouter les eaux de rinçage dans la fiole après filtration. Compléter au trait avec de l'eau et mélanger. Cette solution sert également à la détermination de l'aluminium (partie C).

5.1.4. Dans une fiole jaugée de 50 ml, transférer à l'aide d'une pipette 20,00 ml de solution titrée (5.1.3), 5,00 ml de réactif chlorure d'aluminium (3.4), et 5,00 ml de réactif chlorure d'ammonium (3.5). Compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 10 % (v/v) (3.2) et mélanger.

5.2. Conditions de la spectrométrie d'absorption moléculaire

Flamme : oxyde d'azote/acétylène

Longueur d'onde : 360,1 nm

Correction de base : non

Conditions du combustible : riche. Pour une absorbance maximale, il sera nécessaire d'optimiser la hauteur du brûleur et les conditions du combustible.

5.3. Étalonnage

5.3.1. Dans une série de fioles jaugées de 50 ml, transférer à l'aide d'une pipette 5,00 ; 10,00 ; 15,00 ; 20,00 et 25,00 ml de la réserve de solution titrée de zirconium (3.3). Dans chaque fiole jaugée, transférer à l'aide d'une pipette 5,00 ml de réactif chlorure d'aluminium (3.4) et 5,00 ml de réactif chlorure d'ammonium (3.5). Compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique 10 % (v/v) (3.2) et mélanger. Ces solutions contiennent respectivement 100, 200, 300, 400 et 500 µg de zirconium par millilitre.

Préparer de la même façon une solution d'essai à blanc, en omettant seulement le zirconium.

5.3.2. Mesurer l'absorbance de la solution d'essai à blanc (5.3.1) et prendre la valeur obtenue comme concentration zéro de zirconium pour la courbe d'étalonnage. Mesurer l'absorbance de chaque solution titrée d'étalonnage de zirconium (5.3.1). Tracer la courbe d'étalonnage en reliant les valeurs d'absorbance à la concentration en zirconium.

5.4. Détermination

Mesurer l'absorbance de la solution d'échantillon (5.1.4). Relever sur la courbe d'étalonnage la concentration en zirconium correspondant à la valeur d'absorbance obtenue.

6. *Calcul*

Calculer le taux de zirconium, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule :

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

où :

m = masse en grammes de l'échantillon utilisé pour l'analyse (5.1.1)

et

c = concentration de zirconium dans la solution d'échantillon (5.1.4), en microgrammes par millilitre, obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage.

7. *Répétabilité* (1)

Pour un taux de zirconium de 3,00 % (m/m), la différence entre les résultats de deux déterminations menées en parallèle sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,10 % (m/m).

8. *Remarque*

L'utilisation de la spectrométrie à plasma à couplage inductif est autorisée en remplacement de la spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

C. Détermination de l'aluminium

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode convient pour la détermination de l'aluminium présent dans les complexes hydroxydes de chlorure d'aluminium zirconium, jusqu'à une concentration de 12 % maximum (m/m) dans les antisudoraux autres que les aérosols.

2. *Principe*

L'aluminium est extrait du produit en milieu acide et déterminé par spectrométrie d'absorption atomique.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Acide chlorhydrique concentré (d_{20} = 1,18 g/ml)

3.2. Solution d'acide chlorhydrique 1 % (v/v) : ajouter 10 ml d'acide chlorhydrique (3.1) à 500 ml d'eau dans un becher, en remuant continuellement. Transférer cette solution dans une fiole jaugée de 1 litre et compléter au trait avec de l'eau.

3.3. Réserve de solution titrée d'aluminium, 1 000 µg/ml dans une solution d'acide nitrique 0,5 M (« SpectrosoL » ou équivalent).

3.4. Réactif, chlorure de potassium : dissoudre 10,0 g de chlorure de potassium dans 250 ml de solution d'acide chlorhydrique 1 % (v/v) (3.2).

4. *Appareillage*

4.1. Équipement normal de laboratoire

4.2. Spectrophotomètre d'absorption atomique avec lampe à cathode creuse à l'aluminium

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

La solution préparée sous B.5.1.3 est utilisée pour déterminer le taux d'aluminium.

5.1.1. Dans une fiole jaugée de 100 ml, transférer à l'aide d'une pipette 5,00 ml de solution échantillon (B.5.1.3) et 10,00 ml du réactif chlorure de potassium (3.4). Compléter au trait avec 1 % (v/v) de solution d'acide chlorhydrique (3.2) et mélanger.

5.2. Conditions de la spectrométrie d'absorption atomique

Flamme : oxyde d'azote/acétylène

Longueur d'onde : 309,3 nm

Correction de base : non

Conditions du combustible : riche. Pour une absorbance maximale, il sera nécessaire d'optimiser la hauteur du brûleur et les conditions du combustible.

5.3. Étalonnage

5.3.1. Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, transférer à l'aide d'une pipette 1,00 ; 2,00 ; 3,00 ; 4,00 et 5,00 ml de la réserve de solution titrée d'aluminium (3.3). Dans chaque fiole jaugée, transférer à l'aide d'une pipette 10,00 ml de réactif chlorure de potassium (3.4) et compléter au trait avec la solution d'acide chlorhydrique (3.2) 1 % (v/v) et mélanger. Ces solutions contiennent respectivement 10, 20, 30, 40 et 50 µg d'aluminium par millilitre.

Préparer de la même façon une solution d'essai à blanc, en omettant seulement la solution titrée d'aluminium.

(1) ISO 5725.

5.3.2. Mesurer l'absorbance de la solution d'essai à blanc (5.3.1) et prendre la valeur obtenue comme la concentration zéro en aluminium pour la courbe d'étalonnage. Mesurer l'absorbance de chaque solution titrée d'étalonnage d'aluminium. Tracer la courbe d'étalonnage en reliant les valeurs d'absorbance à la concentration en aluminium.

5.4. Détermination

Mesurer l'absorbance de la solution échantillon (5.1.1). Relever sur la courbe d'étalonnage la concentration en aluminium correspondant à la valeur d'absorbance obtenue.

6. *Calcul*

Calculer le taux d'aluminium de l'échantillon, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule

$$\% \text{ (m/m) d'aluminium} = \frac{c}{5 \times m}$$

où :

m = masse en grammes de l'échantillon utilisé pour l'analyse (B.5.1.1)

et

c = concentration d'aluminium dans la solution échantillon (5.1.1), en microgrammes par millilitre, obtenue à l'aide de la courbe d'étalonnage.

7. *Répétabilité* (1)

Pour un taux d'aluminium de 3,5 % (m/m), la différence entre deux déterminations menées en parallèle sur le même échantillon ne devrait pas excéder 0,10 % (m/m).

8. *Remarque*

L'utilisation de la spectrométrie à plasma à couplage inductif est autorisée en remplacement de la spectrométrie d'absorption atomique à flamme.

D. Détermination du chlore

1. *Objet et champ d'application*

La présente méthode convient pour la détermination du chlore présent sous forme d'ions chlorures dans les complexes hydroxydes de chlorure d'aluminium zirconium dans les antisudoraux autres que les aérosols.

2. *Principe*

Le chlorure du produit est déterminé par titration potentiométrique par rapport à une solution titrée de nitrate d'argent.

3. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Acide nitrique concentré (d_{20} = 1,42 g/ml)

3.2. Solution d'acide nitrique, 5 % (v/v) : ajouter 25 ml d'acide nitrique concentré (3.1) à 250 ml d'eau dans un becher, en agitant continuellement. Transférer cette solution dans une fiole jaugée de 500 ml et compléter au trait avec de l'eau.

3.3. Acétone

3.4. Nitrate d'argent, solution titrée 0,1 M (AnalaR ou équivalent)

4. *Appareillage*

4.1. Équipement normal de laboratoire

4.2. Plaque chauffante à agitation magnétique

4.3. Électrode à l'argent

4.4. Électrode de référence au calomel

4.5. pH/millivoltmètre convenant pour la titration potentiométrique

(1) ISO 5725.

5. *Mode opératoire*

5.1. Préparation de l'échantillon

5.1.1. Peser avec précision dans un becher de 250 ml approximativement 1,0 g (m gramme) d'un échantillon homogène du produit. Ajouter 80 ml d'eau et 20 ml de solution d'acide nitrique 5 % (v/v) (3.2).

5.1.2. Placer le becher sur la plaque chauffante à agitation magnétique (4.2). Commencer l'agitation et chauffer jusqu'à ébullition. Afin d'empêcher un dessèchement rapide, placer un verre de montre sur le becher. Laisser bouillir pendant 5 minutes, retirer le becher de la plaque et laisser refroidir jusqu'à température ambiante.

5.1.3. Ajouter 10 ml d'acétone (3.3), plonger les électrodes (4.3 et 4.4) dans la solution et commencer à agiter. Titrer par potentiométrie contre une solution de nitrate d'argent 0,1 M (3.4) et tracer une courbe différentielle afin de déterminer le point d'équivalence (V ml).

6. *Calcul*

Calculer le taux de chlore de l'échantillon, en pourcentage en masse, à l'aide de la formule :

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

où :

m = masse en grammes de l'échantillon utilisé pour l'analyse (5.1.1)

et

V = volume de nitrate d'argent 0,1 M, en millilitres, titré au point d'équivalence (5.1.3).

7. *Répétabilité* (1)

Pour un taux de chlore de 4 % (m/m), la différence entre deux déterminations menées en parallèle sur le même échantillon ne devrait pas excéder 0,10 % (m/m).

E. Calcul des rapports des atomes de zirconium avec les atomes d'aluminium, et des atomes de zirconium et d'aluminium avec les atomes de chlore

1. *Calcul du rapport entre atomes d'aluminium et atomes de zirconium*

Calculer le rapport Al : Zr à l'aide de la formule :

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

2. *Calcul du rapport entre atomes d'aluminium et de zirconium et atomes de chlore*

Calculer le rapport (Al + Zr) : Cl à l'aide de la formule :

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

IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'HEXAMIDINE, DE LA DIBROMOHEXAMIDINE, DE LA DIBROMOPROPAMIDINE ET DE LA CHLORHEXIDINE

1. *Objet et champ d'application*

La méthode décrit l'identification et le dosage de :

— l'hexamidine et de ses sels, notamment l'iséthionate et le 4-hydroxybenzoate,

— la dibromohexamidine et ses sels, notamment l'iséthionate,

— la dibromopropamidine et ses sels, notamment l'iséthionate,

— l'acétate, le gluconate et le chlorhydrate de chlorhexidine,

dans les produits cosmétiques.

2. *Définition*

Les concentrations d'hexamidine, de dibromohexamidine, de dibromopropamidine et de chlorhexidine déterminées selon la présente méthode sont exprimées en pourcentage en masse (% m/m).

3. *Principe*

L'identification et le dosage sont réalisés par chromatographie liquide (CLHP) d'appariement d'ions en phase inversée, suivi d'une détection par spectrophotométrie UV. L'hexamidine, la dibromohexamidine, la dibromopropamidine et la chlorhexidine sont identifiées par leur temps de rétention sur la colonne de chromatographie.

(1) ISO 5725.

4. *Réactifs*

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique et convenir pour la chromatographie liquide à haute performance.

4.1. Méthanol

4.2. Sel sodique monohydraté de l'acide 1-heptane sulfonique

4.3. Acide acétique concentré (d_{20} = 1,05 g/ml)

4.4. Chlorure de sodium

4.5. Phase mobile

4.5.1. Solvant I : solution méthanolique 0,005 M du sel sodique monohydraté de l'acide 1-heptane sulfonique (4.2) ajusté au pH apparent de 3,5 à l'aide d'acide acétique concentré (4.3).

4.5.2. Solvant II : solution aqueuse 0,005 M du sel sodique monohydraté de l'acide 1-heptane sulfonique (4.2) ajusté à pH 3,5 à l'aide d'acide acétique concentré (4.3).

Remarque : le cas échéant, pour améliorer la forme des pics, on peut modifier la phase mobile selon la méthode suivante :

— Solvant I : dissoudre 5,84 g de chlorure de sodium (4.4) et 1,1013 g de sel sodique monohydraté de l'acide 1-heptane sulfonique (4.2) dans 100 ml d'eau. Ajouter 900 ml de méthanol (4.1) et amener au pH apparent de 3,5 à l'aide d'acide acétique concentré (4.3).

— Solvant II : dissoudre 5,84 g de chlorure de sodium (4.4) et 1,1013 g de sel sodique monohydraté de l'acide 1-heptane sulfonique (4.2) dans 1 litre d'eau et amener au pH de 3,5 à l'aide d'acide acétique concentré (4.3).

4.6. Diiséthionate d'hexamidine [$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.7. Diiséthionate de dibromohexamidine [$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.8. Diiséthionate de dibromopropamidine [$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$]

4.9. Diacétate de chlorhexidine [$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$]

4.10. Solutions étalons : préparer une solution à 0,05 % (m/v) pour chacun des quatre conservateurs (4.6 à 4.9) dans du solvant I (4.5.1).

4.11. Trichloro,3,4,4'-carbanilide (triclocarban)

4.12. Dichloro,4,4'-(trifluorométhyl)-3 carbanilide (halocarban)

5. *Appareillage*

5.1. Matériel courant de laboratoire

5.2. Chromatographe en phase liquide à haute performance avec détecteur UV à longueur d'onde variable

5.3. Colonne en acier inoxydable : longueur 30 cm, diamètre interne 4 mm, remplie de µ-Bondapak C_{18}, 10 µm, ou équivalent

5.4. Bain à ultrasons

6. *Identification*

6.1. Préparation de l'échantillon

Peser environ 0,5 g d'échantillon dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter au trait avec le solvant I (4.5.1). Placer la fiole jaugée pendant 10 minutes dans un bain à ultrasons (5.4). Filtrer ou centrifuger. Recueillir le filtrat ou le surnageant pour la chromatographie.

6.2. Chromatographie

6.2.1. Gradient de phase mobile

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

6.2.2. Régler le débit de la phase mobile (6.2.1) à 1,5 ml/min et la température de la colonne à 35 °C.

6.2.3. Régler le détecteur sur 264 nm.

6.2.4. Injecter 10 µl de chacune des solutions étalons (4.10) et enregistrer leur chromatogramme.

6.2.5. Injecter 10 µl de solution échantillon (6.1) et enregistrer son chromatogramme.

6.3. Identifier la présence d'hexamidine, de dibromohexamidine, de dibromopropamidine ou de chlorhexidine en comparant les temps de rétention des pics enregistrés en 6.2.5 avec ceux obtenus pour les solutions étalons en 6.2.4.

7. *Dosage*

7.1. Préparation des solutions étalons

Utiliser un des conservateurs (4.6 à 4.9) absents de l'échantillon comme étalon interne. À défaut, utiliser le triclocarban (4.11) ou l'halocarban (4.12).

7.1.1. Solution mère du conservateur identifié en 6.3 à 0,05 % (m/v) dans le solvant I (4.5.1)

7.1.2. Solution mère du conservateur choisi comme étalon interne à 0,05 % (m/v) dans le solvant I (4.5.1)

7.1.3. Pour chaque conservateur identifié, préparer quatre solutions étalons en transvasant dans une série de fioles jaugées de 10 ml des quantités de solution mère du conservateur identifié (7.1.1) et des quantités appropriées de la solution mère de l'étalon interne (7.1.2) selon le tableau ci-dessous. Compléter chaque fiole au trait avec du solvant I (4.5.1) et mélanger.

Solution étalon	Solution mère d'étalon interne	Solution mère de conservateur identifié	
	ml (7.1.2) ajouté(s)	ml (7.1.1) ajouté(s)	µg/ml (*)
I	1,0	0,5	25
II	1,0	1,0	50
III	1,0	1,5	75
IV	1,0	2,0	100

(*) Ces valeurs sont indicatives et correspondent aux concentrations du conservateur identifié dans des solutions étalons préparées avec une solution mère contenant exactement 0,05 % du conservateur.

7.2. Préparation de l'échantillon

7.2.1. Peser exactement environ 0,5 g d'échantillon (p gramme) dans une fiole jaugée de 10 ml, ajouter 1,0 ml de la solution étalon interne (7.1.2) et 6 ml de solvant I (4.5.1) et mélanger.

7.2.2. Placer la fiole jaugée dans un bain à ultrasons (5.4) pendant 10 minutes. Après refroidissement, compléter au trait avec le solvant I et mélanger. Filtrer sur filtre plissé ou centrifuger. Selon le cas, recueillir le surnageant ou le filtrat pour la chromatographie.

7.3. Chromatographie

7.3.1. Régler le gradient de phase mobile, son débit ainsi que la température de la colonne et la longueur d'onde du détecteur de l'appareillage pour CLHP (5.2) selon les conditions requises pour la phase d'identification (6.2.1 à 6.2.3).

7.3.2. Injecter 10 µl de solution échantillon (7.2.2) et mesurer la surface des pics. Répéter cette opération avec de nouvelles portions de 10 µl de la solution échantillon, jusqu'à obtention de résultats cohérents. Calculer le rapport entre la surface du pic du composé à déterminer et la surface du pic de l'étalon interne.

7.4. Étalonnage

7.4.1. Injecter 10 µl de chacune des solutions étalons (7.1.3) et mesurer la surface des pics.

7.4.2. Pour chaque solution étalon (7.1.3), calculer le rapport entre la surface du pic d'hexamidine, de dibromohexamidine, de dibromopropamidine ou de chlorhexidine et la surface du pic de l'étalon interne. Tracer une courbe d'étalonnage en plaçant ces rapports en ordonnée et en abscisse les concentrations correspondantes du conservateur identifié dans les solutions étalons, en microgrammes par millilitre.

7.4.3. Sur la courbe d'étalonnage obtenue au point 7.4.2, lire la concentration du conservateur identifié correspondant au rapport entre les surfaces des pics calculés au point 7.3.2.

8. *Calcul*

Calculer la teneur en hexamidine, dibromohexamidine, dibromopropamidine ou chlorhexidine de l'échantillon, exprimée en pourcentage en masse, à l'aide de la formule :

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

où :

p = masse en grammes de l'échantillon analysé (7.2.1),

c = concentration, en microgrammes par millilitre, du conservateur dans la solution échantillon, lue sur la courbe d'étalonnage,

MW_1 = poids moléculaire de la forme de base du conservateur présent,

MW_2 = poids moléculaire du sel correspondant (voir point 10).

9. *Répétabilité* (1)

Pour une teneur en hexamidine, dibromohexamidine, dibromopropamidine ou chlorhexidine 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 %.

10. *Table des poids formulaires*

Hexamidine	$C_{20}H_{26}N_4O_2$	354,45
Diiséthionate d'hexamidine	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	606,72
Di-p-hydroxybenzoate d'hexamidine	$C_{20}H_{26}N_4O_2 \cdot 2C_7H_6O_3$	630,71
Dibromohexamidine	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2$	512,24
Diiséthionate de dibromohexamidine	$C_{20}H_{24}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	764,51
Dibromopropamidine	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2$	470,18
Diiséthionate de dibromopropamidine	$C_{17}H_{18}Br_2N_4O_2 \cdot 2C_2H_6O_4S$	722,43
Chlorhexidine	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}$	505,45
Diacétate de chlorhexidine	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_2H_4O_2$	625,56
Digluconate de chlorhexidine	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$	897,76
Dichlorhydrate de chlorhexidine	$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10} \cdot 2HCl$	578,37

(1) ISO 5725.