

Art. 7. Dit besluit heeft uitwerking met ingang van 1 april 1986.

Art. 8. Onze Minister van Tewerkstelling en Arbeid is belast met de uitvoering van dit besluit.

Gegeven te Brussel, 4 juli 1986.

**BOUDEWIJN**

Van Koningswege :  
De Minister van Tewerkstelling en Arbeid,  
M. HANSENNE

**MINISTERIE VAN VOLKSGEZONDHEID EN VAN HET GEZIN**

N. 86 — 1077

30 JUNI 1986. — Koninklijk besluit tot wijziging 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 Groet.

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 vierde richtlijn van de Commissie van de Europese Gemeenschappen 85/490/E.E.G. van 11 oktober 1985 betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen der lid-Staten inzake analysemethoden die moeten worden toegepast om de samenstelling van cosmeticaproducten 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 de koninklijke besluiten van 19 februari 1985 en 5 november 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 bijdrage 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, gewijzigd door de koninklijke besluiten van 19 februari 1985 en 5 november 1985, wordt met de analysemethoden, opgenomen in bijlage van dit besluit, aangevuld.

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

Gegeven te Brussel, 30 juni 1986.

**BOUDEWIJN**

Van Koningswege :  
De Minister van Sociale Zaken,  
J.-L. DEHAENE  
De Staatssecretaris voor Volksgezondheid,  
Mevr. W. DEMEESTER-DE MEYER

Art. 7. Le présent arrêté produit ses effets le 1er avril 1986.

Art. 8. Notre Ministre de l'Emploi et du Travail est chargé de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 4 juillet 1986.

**BAUDOIN**

Par le Roi :  
Le Ministre de l'Emploi et du Travail,  
M. HANSENNE

**MINISTERE DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE LA FAMILLE**

F. 86 — 1077

30 JUNI 1986. — Arrêté royal modifiant 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

BAUDOIN, 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 quatrième directive de la Commission des Communautés européennes 85/490/C.E.E. du 11 octobre 1985 concernant le rapprochement des législations des Etats-membres relatives aux méthodes d'analyse nécessaires 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, modifié par les arrêtés royaux des 19 février et 5 novembre 1985;

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 1<sup>er</sup>.** 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 les arrêtés royaux des 19 février 1985 et 5 novembre 1985, est complétée 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 sont chargés de l'exécution du présent arrêté.

Donné à Bruxelles, le 30 juin 1986.

**BAUDOIN**

Par le Roi :  
Le Ministre des Affaires sociales,  
J.-L. DEHAENE  
Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique,  
Mme W. DEMEESTER-DE MEYER

## BIJLAGE

## XXIII IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN GLYCERYL-1-(4-AMINOBEZOOAT)

## A. IDENTIFICATIE

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGBIED**

Deze methode beschrijft de identificatie van glyceryl-1-(4-aminobenzooat). Ethyl-4-aminobenzooat (benzocaïne INN) dat als verontreiniging aanwezig kan zijn, wordt ook aangetoond.
2. **PRINCIPE**

De identificatie wordt uitgevoerd middels dunnelaagchromatografie op silicagel met fluorescentie-indicator en het aantonen van de vrije primaire aminegroep via vorming van een diazoverbinding op de plaat.
3. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn

  - 3.1. Oplosmiddel: cyclohexaan/propan-2-ol/dichloormethaan (gestabiliseerd): 48 — 64 — 9 (v/v/v).
  - 3.2. Loopvloeistof: petroleum ether (40-60)/benzeen/acetone/ammonia (minimaal 25 % NH<sub>3</sub>): 35 — 35 — 35 — 1 (v/v/v/v).
  - 3.3. Spuitreagentia: a) natriumnitriet, 1 g in 100 ml zoutzuur 1 M, voor gebruik vers te bereiden;  
b) 2-naphtol, 0,2 g in 100 ml kaliumhydroxide 1 M.
  - 3.4. Standaardoplossingen:  
— glyceryl-1-(4-aminobenzooat): 0,05 g in 100 ml oplosmiddel (3.1);  
— ethyl-4-aminobenzooat: 0,05 g in 100 ml oplosmiddel (3.1).
  - 3.5. Silicagel 60 F254 dunnelaagplaten, laagdikte 0,25 mm, 200 mm × 200 mm
4. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
  - 4.1. Gebruikelijke uitrusting voor dunnelaagchromatografie.
  - 4.2. Ultrasoon bad.
  - 4.3. Millipore filter FH 0,5 µm, of equivalent.
5. **WERKWIJZE**
  - 5.1. **Monstervoorbereiding**

Weeg 1,5 g van het te analyseren produkt in een 10 ml maatkolf voorzien van een stop. Vul aan tot de streep met het oplosmiddel (3.1). Sluit de kolf af en laat deze gedurende een uur in het ultrasoon bad (4.2) staan. Filtreer vervolgens door een millipore filter (4.3) en gebruik het filtraat voor de chromatografie.
  - 5.2. **Dunnelaagchromatografie**

Breng van de monsteroplossing (5.1) en van elk der standaardoplossingen (4) 10 µl op de plaat (3.5). Ontwikkel de plaat in een tevoren met de damp van de loopvloeistof (3.2) verzadigde bak tot de loopvloeistof een afstand van 150 mm heeft afgelegd. Laat de plaat bij kamertemperatuur drogen.
  - 5.3. **Detectie**
    - 5.3.1. Bekijk de plaat onder UV-licht van 254 nm.
    - 5.3.2. Bespuit de plaat, wanneer deze geheel droog is, met oplossing 3.3' a).

Laat gedurende 1 minuut drogen bij kamertemperatuur en bespuit dan onmiddellijk met oplossing 3.3 b).

Droog de plaat in een stoof bij 60 °C. De vlekken worden zichtbaar met een oranje kleur:  
glyceryl-1-(4-aminobenzooat), R<sub>f</sub> 0,07;  
ethyl-4-aminobenzooat, R<sub>f</sub> 0,55.

## B. BEPALING

## 1. DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de gehaltesbepaling van glyceryl-1-(4-aminobenzoëzuur). Tevens kan ethyl-4-aminobenzoëzuur met deze methode bepaald worden. Van deze twee stoffen kan maximaal 5 % (m/m) respectievelijk 1 % (m/m) worden bepaald.

## 2. DEFINITIE

De met deze methode bepaalde gehalten glyceryl-1-(4-aminobenzoaat) en ethyl-4-aminobenzoaat worden uitgedrukt in massapercenten (% m/m) van het produkt.

## 3. PRINCIPE

Het te analyseren produkt wordt gesuspendeerd in methanol en na een geschikte voorbereiding met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie bepaald.

## 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn en geschikt voor hogedruk-vloeistofchromatografie indien van toepassing

## 4.1. Methanol.

4.2. Kaliumdiwaterstoforthofosfaat,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .4.3. Zinkdiacetaat,  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .4.4. Azijnzuur,  $d_4^{20} = 1,05$ .4.5. Tetrakaliumhexacyanoferraat,  $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ .

## 4.6. Ethyl-4-hydroxybenzoaat.

## 4.7. Glyceryl-1-(4-aminobenzoaat).

## 4.8. Ethyl-4-aminobenzoaat.

## 4.9. Fosfaat bufferoplossing (0,02 M): los 2,72 g kaliumdiwaterstoforthofosfaat (4.2) op in 1 liter water.

## 4.10. Mobiele fase: fosfaat bufferoplossing (4.9)/methanol (4.1): 61 — 39 (v/v).

De samenstelling van de mobiele fase mag gewijzigd worden ten einde een resolutie groter of gelijk 1 te bewerkstelligen:

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

waarbij:

$R_1$  en  $R_2$  = retentietijden in minuten,

$W_1$  en  $W_2$  = breedte der pieken op halve hoogte in mm,

$d'$  = papersnelheid van de recorder in mm/minuut.

## 4.11. Stamoplossing van glyceryl-1-(4-aminobenzoaat): breng ongeveer 40 mg glyceryl-1-(4-aminobenzoaat), nauwkeurig gewogen, in een 100 ml maatkolf. Los op in 40 ml methanol (4.1), vul aan tot de streep met bufferoplossing (4.9) en meng.

## 4.12. Stamoplossing van ethyl-4-aminobenzoaat: breng ongeveer 40 mg ethyl-4-aminobenzoaat (4.8), nauwkeurig gewogen, in een 100 ml maatkolf. Los op in 40 ml methanol (4.1), vul aan tot de streep met bufferoplossing (4.9) en meng.

## 4.13. Interne standaardoplossing: breng ongeveer 50 mg ethyl-4-hydroxybenzoaat (4.6), nauwkeurig gewogen, in een 100 ml maatkolf, los op in 40 ml methanol (4.1), vul aan tot de streep met bufferoplossing (4.9) en meng.

## 4.14. Standaardoplossingen: bereid vier standaardoplossingen door verdunnen tot 100 ml met mobiele fase (4.10) van de in onderstaande tabel aangegeven hoeveelheden (in milliliter) van de stamoplossingen.

Standaardoplossing	Glyceril-1-(4-aminobenzoaat)		Ethyl-4-aminobenzoaat		Ethyl-4-hydroxybenzoaat	
	ml (4.11)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.12)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.13)	$\mu\text{g/ml}$ (*)
I	2,0	8	2,0	8	10,0	50
II	4,0	16	3,0	12	10,0	50
III	6,0	24	4,0	16	10,0	50
IV	10,0	40	5,0	20	10,0	50

(\*) Deze waarden zijn indicatief en corresponderen exact met de in 4.11, 4.12 en 4.13 opgegeven hoeveelheden.

NB: De standaardoplossingen mogen ook op andere wijze worden bereid.

- 4.15. Carrez I oplossing : los 26,5 g tetrakaliumhexacyanoferraat (4.5) op in water en vul aan tot 250 ml.
- 4.16. Carrez II oplossing : los 54,9 g zinkdiacetaat (4.3) en 7,5 ml azijnzuur (4.4) op in water en vul aan tot 250 ml.
- 4.17. Merck Lichrosorb RP-18, of equivalent, met gemiddelde deeltjesgrootte 5  $\mu\text{m}$ .
5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN
- 5.1. De gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Hogedruk-vloeistofchromatograaf met variabele-golflengtedetector en kolomthermostaat, ingesteld op 45°C.
- 5.3. Kolom : stainless steel, lengte 250 mm, interne diameter 4,6 mm, gepakt met Lichrosorb RP-18 (4.17).
- 5.4. Ultrasoon bad.
6. WERKWIJZE
- 6.1. Monstervoorbereiding
- 6.1.1. Breng ongeveer 1 g monster, nauwkeurig gewogen, in een bekeerglas van 100 ml en voeg 10 ml methanol (4.1) toe.
- 6.1.2. Plaats het bekeerglas gedurende 20 minuten in het ultrasoon bad (5.4) ten einde een suspensie te bereiden. Breng de aldus verkregen suspensie met niet meer dan 75 ml mobiele fase (4.10) kwantitatief over in een 100 ml maatkolf. Voeg achtereenvolgens toe 1 ml Carrez I oplossing (4.15) en 1 ml Carrez II oplossing (4.16). Meng na elke toevoeging. Vul aan tot de streep met mobiele fase (4.10), meng nogmaals en filtreer.
- 6.1.3. Breng met een pipet 3,0 ml van het bij 6.1.2 verkregen filtraat en 5,0 ml interne standaardoplossing (4.13) in een 30 ml maatkolf. Vul aan met mobiele fase (4.10) en meng. Gebruik de verkregen oplossing voor de chromatografische analyse beschreven onder 6.2.
- 6.2. Chromatografie
- 6.2.1. Stel de flow rate van het eluens (4.10) in op 1,2 ml/min en stel de kolomtemperatuur in op 45°C.
- 6.2.2. Stel de detector (5.2) in op 274 nm.
- 6.2.3. Injecteer ten minste tweemaal 20  $\mu\text{l}$  van oplossing (6.1.3) in de vloeistofchromatograaf en meet de piekoppervlaktes.
- 6.3. Ijklijn
- 6.3.1. Injecteer 20  $\mu\text{l}$  van elk der standaardoplossingen (4.14) en meet de piekoppervlaktes.
- 6.3.2. Bereken voor elke concentratie de verhouding tussen het piekoppervlak van glyceryl-1-(4-aminobenzoaat) en het piekoppervlak van de interne standaard. Construeer een grafiek met deze verhouding op de abcis en op de ordinaat de verhouding van de corresponderende massa's.
- 6.3.3. Herhaal deze werkwijze voor ethyl-4-aminobenzoaat.
7. BEREKENING
- 7.1. Lees uit de onder 6.3 verkregen ijklijn de massaverhoudingen ( $RP_1$ ,  $RP_2$ ), overeenkomend met de verhoudingen van de piekoppervlaktes berekend onder 6.2.3 af, waar :
- $RP_1$  = massa van glyceryl-1-(4-aminobenzoaat)/massa ethyl-4-hydroxybenzoaat,  
en  
 $RP_2$  = massa van ethyl-4-aminobenzoaat/massa van ethyl-4-hydroxybenzoaat.

- 7.2. Bereken uit de verkregen massaverhoudingen de gehalten aan glyceryl-1-(4-aminobenzoaat) en ethyl-4-aminobenzoaat, in massapercentage (% m/m) met de volgende formule:

$$R_p \% \text{ (m/m) glyceryl-1-(4-aminobenzoaat)} = R_{P_1} \times q/6p$$

$$R_p \% \text{ (m/m) ethyl-4-aminobenzoaat} = R_{P_2} \times q/6p$$

waarbij:

q = hoeveelheid ethyl-4-hydroxybenzoaat (interne standaard) in mg, afgewogen onder 4.13,  
p = hoeveelheid monster in g, afgewogen onder 6.1.1.

#### 8. HERHAALBAARHEID (\*)

- 8.1. Bij een gehalte van 5 % (m/m) aan glyceryl-1-(4-aminobenzoaat) mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet groter zijn dan 0,25 %.
- 8.2. Bij een gehalte van 1 % (m/m) aan ethyl-4-aminobenzoaat mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet groter dan 0,10 %.

#### 9. OPMERKINGEN

- 9.1. Alvorens de analyse uit te voeren, moet nagegaan worden of het monster verbindingen bevat die mogelijk een met de interne standaard (ethyl-4-hydroxybenzoaat) overlappende piek geven.
- 9.2. Herhaal de bepaling na verandering van het methanolgehalte van het eluens met 10 % relatief, ten einde de afwezigheid van interfererende verbindingen na te gaan.

### XXIV GEHALTEBEPALING VAN CHLOORBUTANOL

#### 1. DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de bepaling van chloorbutanol in alle cosmetische producten met uitzondering van aerosolen. De maximaal met deze methode te bepalen concentratie bedraagt 0,5 % (m/m).

#### 2. DEFINITIE

Het met deze methode bepaalde chloorbutanolgehalte wordt uitgedrukt in massapercenten (% m/m) van het produkt.

#### 3. PRINCIPE

Na een geschikte voorbehandeling van het monster wordt het gehalte gaschromatografisch bepaald, waarbij 2,2,2-trichloorethanol als interne standaard wordt gebruikt.

#### 4. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn

- 4.1. Chloorbutanol (1,1,1-trichloor-2-methylpropan-2-ol).
- 4.2. 2,2,2-Trichloorethanol.
- 4.3. Ethanol, absoluut.
- 4.4. Chloorbutanol standaardoplossing: 0,025 g in 100 ml ethanol (4.3) (m/v).
- 4.5. 2,2,2-Trichloorethanol standaardoplossing: 0,004 g in 100 ml ethanol (4.3) (m/v).

#### 5. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

- 5.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
- 5.2. Gaschromatograaf, uitgerust met een Electron-Capture Detector, Ni 63.

#### 6. WERKWIJZE

##### 6.1. Monstervoorbereiding

Breng ongeveer 0,2 à 0,3 g (p g) monster, nauwkeurig gewogen, in een maatkolf van 100 ml, en los op in ethanol (4.3). Voeg 1 ml interne standaardoplossing (4.5) toe en vul aan tot de streep met ethanol (4.3).

(\*) ISO 5725.

## 6.2. Gaschromatografie

- 6.2.1. De gaschromatografische condities moeten zodanig worden gekozen, dat de gemeten resolutie R groter of gelijk is aan 1,5:

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

waarbij:

- R<sub>1</sub> en R<sub>2</sub> = retentietijden in minuten,  
 W<sub>1</sub> en W<sub>2</sub> = breedte der pieken op halve hoogte in mm,  
 d' = papiersnelheid van de recorder in mm/minuut.

- 6.2.2. Als voorbeeld worden de volgende gaschromatografische condities gegeven, welke de gevraagde resolutie bewerkstelligen:

	I	II
Kolom :		
Materiaal	Glas	Stainless steel
Lengte	1,80 m	3 m
Diameter	3 mm	3 mm
Stationaire fase	10 % Carbowax 20M TPA op Gaschrom Q 80-100 mesh	5 % OV 17 op Chromosorb WAW DMSC 80-100 mesh
Conditionering	2 à 3 dagen op 190 °C	
Temperatuur :		
— injectieblok	200 °C	150 °C
— kolom	150 °C	100 °C
— detector	200 °C	150 °C
Dragergas	Stikstof	Argon-methaan (95/5 v/v)
Debiet	35 ml/min	32 ml/min

## 6.3. Ijklijn

Voeg aan 1 ml interne standaardoplossing (4.5) in 5 maatkolven van 100 ml respectievelijk 0,20, 0,30, 0,40, 0,50 en 0,60 ml van oplossing 4.4 toe, vul aan tot de streep met ethanol (4.3) en meng. Injecteer 1 µl van deze oplossing in de gaschromatograaf, ingesteld zoals beschreven onder 6.2.2 en construeer een ijklijn door op de abscis de verhouding tussen de massa chloorbutanol en 2,2,2-trichloorethanol uit te zetten, en op de ordinaat de verhouding van de corresponderende piekoppervlaktes.

- 6.4. Injecteer 1 µl van de onder 6.1 verkregen oplossing in de volgens 6.2.2 ingestelde gaschromatograaf.

## 7. BEREKENING

- 7.1. Bereken uit de ijklijn (6.3) de hoeveelheid chloorbutanol (a) in oplossing 6.1, uitgedrukt in µg.

- 7.2. Het gehalte aan chloorbutanol in het monster wordt berekend met de formule:

$$\% \text{ chloorbutanol (m/m)} = (a \times 10^3) / (p \times 10^3) = a / (p \times 10^3)$$

## 8. HERHAALBAARHEID (1)

Bij een gehalte van 0,5 % (m/m) aan chloorbutanol mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet meer bedragen dan 0,01 %.

Opmerking:

Indien het gehalte gelijk is aan of groter dan het toegestane gehalte moet worden uitgesloten dat interferenties aanwezig zijn.

(1) ISO 5725.

## XXV IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN KININE

## A. IDENTIFICATIE

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGBIED**  
Deze methode beschrijft de identificatie van kinine in shampoos en haarlotions.
2. **PRINCIPE**  
De identificatie wordt uitgevoerd met behulp van dunnelaagchromatografie op silicagel, waarbij kinine wordt aangetoond door de blauwe fluorescentie in zuur milieu bij 360 nm.  
Voor bevestiging kan de fluorescentie worden opgeheven door middel van broomdamp, waarna ammoniadamf een gele fluorescentie doet verschijnen.
3. **REAGENTIA**  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn
- 3.1. Silicagel platen, zonder fluorescentie-indicator, laagdikte 0,25 mm, 200-mm × 200 mm.
- 3.2. Loopvloeistof: toluen/diëthylether/dichloormethaan/diëthylamine : 20 — 20 — 20 — 8 (v/v/v/v).
- 3.3. Methanol.
- 3.4. Zwavelzuur 96 % ( $d_4^{20}$  : 1,84).
- 3.5. Diëthylether.
- 3.6. Sporeireagens : voeg in een gekoeld vat voorzichtig 5 ml zwavelzuur (3.4) toe aan 95 ml diëthylether (3.5).
- 3.7. Broom.
- 3.8. Ammonia 28 % ( $d_4^{20}$  : 0,90).
- 3.9. Kinine, watervrij.
- 3.10. Standaardoplossing : breng ongeveer 100 mg waterrijke kinine (3.9), nauwkeurig gewogen, in een maatkolf en los op in 100 ml methanol (3.3).
4. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
- 4.1. De gebruikelijke uitrusting voor dunnelaagchromatografie.
- 4.2. Ultrasoon bad.
- 4.3. Millipore filter, FH 0,5 µm of equivalent, met de geschikte filtreerbenodigdheden.
5. **WERKWIJZE**
- 5.1. **Monstervoorbereiding**  
Breng een nauwkeurig gewogen hoeveelheid monster, welke ongeveer 100 mg kinine bevat, in een maatkolf van 100 ml, los op en vul aan met methanol (3.3).  
Sluit de fles af en laat gedurende een uur bij kamertemperatuur in een ultrasoon bad (4.2) staan. Filtreer door een millipore filter (4.3) en gebruik het filtraat voor de dunnelaagchromatografie.
- 5.2. **Dunnelaagchromatografie**  
Breng 1,0 µl standaardoplossing (3.10) en 1,0 µl monsteroplossing (5.1) op de silicagel plaat (3.1). Ontwikkel het chromatogram over een afstand van 15 cm met loopmiddel (3.2) in een tevoren met de damp van het loopmiddel (3.2) verzadigde bak.
- 5.3. **Detectie**
- 5.3.1. Droog de plaat bij kamertemperatuur.
- 5.3.2. Bespuit de plaat met reagens 3.6.
- 5.3.3. Laat de plaat gedurende een uur bij kamertemperatuur drogen.
- 5.3.4. Bekijk de plaat onder UV-licht van 360 nm. Kinine verschijnt als een intens blauwfluorescerende vlek.  
Als voorbeeld geeft de volgende tabel de Rf-waarden van de voornaamste cinchona-alkaloiden, zoals verkregen met loopmiddel 3.2.

Alkaloïde	Rf
Kinine	0,20
Kinidine	0,29
Cinchonine	0,33
Cinchonidine	0,27
Hydrochinidine	0,17

- 5.3.5. Voor nadere bevestiging dat kinine aanwezig is wordt de plaat gedurende ongeveer een uur aan broom-damp (3.7) blootgesteld. De fluorescentie verdwijnt. Wanneer dezelfde plaat vervolgens wordt blootgesteld aan ammoniastamp (3.8) verschijnen de vlekken opnieuw, nu met een bruine kleur, die onder UV licht bij 360 nm bekeken een gele fluorescentie vertoont. Detectielimiet: 0,1 µg kinine.

## B. GEHALTEBEPALING

1. **DOEL EN TOEPASSINGSGBIED**  
Deze methode beschrijft de gehaltebepaling van kinine in shampoos en haarlotions. De methode kan gebruikt worden om maximaal 0,5 % m/m kinine in shampoos en 0,2 % m/m in lotions te bepalen.
2. **DEFINITIE**  
Het met deze methode gemeten gehalte aan kinine wordt uitgedrukt in massapercenten (% m/m) van het produkt.
3. **PRINCIPE**  
Na geschikte voorbehandeling van het te bepalen produkt wordt het gehalte bepaald met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie (HPLC).
4. **REAGENTIA**  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn en moeten geschikt zijn voor hogedruk-vloeistofchromatografie indien van toepassing.
  - 4.1. Acetonitril.
  - 4.2. Kaliumdiwaterstoforthofosfaat,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .
  - 4.3. Orthofosforzuur 85 % ( $d_4^{20} = 1,7$ ).
  - 4.4. Tetramethylammoniumbromide.
  - 4.5. Kinine, watervrij.
  - 4.6. Methanol.
  - 4.7. Orthofosforzuuroplossing, 0,1 M: breng 11,53 g orthofosforzuur (4.3) in een maatkolf en los op in 1 000 ml water.
  - 4.8. Kaliumdiwaterstoforthofosfaatoplossing, 0,1 M: breng 13,6 g kaliumdiwaterstoforthofosfaat (4.2) in een maatkolf en los op in 1 000 ml water.
  - 4.9. Tetramethylammoniumbromide-oplossing: breng 15,40 g tetramethylammoniumbromide (4.4) in een maatkolf en los op in 1 000 ml water.
  - 4.10. Mobiele fase: orthofosforzuur 0,1 M (4.7)/kaliumdiwaterstoforthofosfaat 0,1 M (4.8)/tetramethylammoniumbromide 0,1 M (4.9)/water/acetonitril (4.1): 10 — 30 — 10 — 340 — 90 (v/v/v/v/v). De samenstelling van de mobiele fase mag veranderd worden ten einde een resolutie R te bewerkstelligen, die gelijk is aan of groter dan 1,5.
 
$$R = 2 \frac{d'R_2 - d'R_1}{W_1 + W_2}$$
 waarbij:  
 $R_1$  en  $R_2$  = retentietijden in minuten,  
 $W_1$  en  $W_2$  = breedte der pieken op halve hoogte in mm,  
 $d'$  = papersnelheid van de recorder in mm/minuut.
  - 4.11. Silica behandeld met octadecylsilane, deeltjesgrootte 10 µm.
  - 4.12. Standaardoplossingen: breng achtereenvolgens 5,0, 10,0, 15,0 en 20,0 mg kinine (4.5), nauwkeurig gewogen, in maatkolven van 100 ml. Vul aan tot de streep met methanol (4.8) en schudt tot de kinine is opgelost. Filtreer elke oplossing door een millipore filter (5.5), met poriëngrootte 0,5 µm.
5. **APPARATUUR**
  - 5.1. De gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
  - 5.2. Ultrasoon bad.
  - 5.3. Hogedruk-vloeistofchromatograaf voorzien van een variabele-golffengtedetector (UV).
  - 5.4. Kolom: stainless steel, lengte 250 mm, interne diameter 4,6 mm, gepakt met octadecylsilane-silica (4.11).
  - 5.5. Millipore filter FH 0,5 µm, of equivalent, met een geschikte filteropstelling.



6. WERKWIJZE
- 6.1. **Monstervoorbereiding**  
 Breng een hoeveelheid produkt, overeenkomend met ongeveer 10 mg watervrije kinine, nauwkeurig gewogen, in een maatkolf van 100 ml. Voeg toe 20 ml methanol (4.6) en plaats de kolf gedurende 20 minuten in een ultrasoon bad (5.2). Vul aan tot de streep met methanol (4.6). Meng de oplossing en filtreer een gedeelte (5.5).
- 6.2. **Chromatografie**  
 Flow rate: 1,0 ml/minuut.  
 Golflengte van de detector (5.3): 332 nm.  
 Injectievolume: 10 µl van de gefiltreerde oplossing (6.1).  
 Gemeten wordt het piekoppervlak.
- 6.3. **Ijklijn**  
 Injecteer ten minste drie maal 10,0 µl van elk der standaardoplossingen (4.12), meet de piekoppervlaktes en bereken het gemiddelde oppervlak voor elke concentratie.  
 Teken de ijklijn.
7. **BEREKENING**
- 7.1. Bepaal met behulp van de ijklijn (6.3) de hoeveelheid watervrij kinine, uitgedrukt in µg, aanwezig in het geïnjecteerde volume (6.2).
- 7.2. Het gehalte aan watervrije kinine in het monster, uitgedrukt in massapercenten (m/m), wordt berekend met behulp van de volgende formule:  

$$\% (m/m) \text{ watervrije kinine} = B/A$$
 waarin:  
 B = de hoeveelheid watervrije kinine in µg in 10 µl van de gefiltreerde oplossing (6.1).  
 A = de massa van het monster (6.1) uitgedrukt in g.
8. **HERHAALBAARHEID (1)**  
 Bij een gehalte aan watervrij kinine van 0,5 % (m/m) mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet groter zijn dan 0,02 %.  
 Bij een gehalte aan watervrij kinine van 0,2 % (m/m) mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet groter zijn dan 0,01 %.

## XXVI IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN ANORGANISCHE SULFIETEN EN BISULFIETEN

### DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de identificatie en bepaling van anorganische sulfieten en bisulfieten in cosmetische produkten. De methode is slechts toepasbaar bij produkten met een alcoholische of waterige fase en concentraties tot 0,2 % zwaveldioxide.

### A. IDENTIFICATIE

1. **PRINCIPE**  
 Het monster wordt verwarmd in zoutzuur en het ontwijkende zwaveldioxide wordt aangetoond aan de hand van de geur of het effect op een indicatorpapiertje.
2. **REAGENTIA**  
 Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn
- 2.1. Zoutzuur, 4 M
- 2.2. Kaliumjodaat-stijfelpapier of ander geschikt indicatorpapier
3. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
- 3.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting
- 3.2. Kolf (25 ml), voorzien van een korte terugvloeiakoeler
4. **WERKWIJZE**
- 4.1. Breng ongeveer 2,5 g monster in de kolf (3.2) en voeg 10 ml zoutzuur (2.1) toe.
- 4.2. Meng de inhoud van de kolf en verhit tot koken.
- 4.3. Bepaal aan de hand van de geur of het indicatorpapier (2.2) of er zwaveldioxide vrijkomt.

(1) ISO 5725.

## D. BEPALING

1. **DEFINITIE**  
Het sulfiet- of bisulfietgehalte van het monster zoals bepaald met deze methode wordt uitgedrukt in massapercenten (m/m) zwaveldioxide.
2. **PRINCIPE**  
Na aanzuren van het monster wordt de vrijgekomen zwaveldioxide overgedestilleerd in een waterstofperoxideoplossing. Het gevormde zwavelzuur wordt getitreerd met een gestelde natriumhydroxideoplossing.
3. **REAGENTIA**  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.
  - 3.1. Waterstofperoxide 0,2 % (m/v), bereid op de dag van gebruik.
  - 3.2. Orthofosforzuur ( $d_{4}^{25} = 1,75$ ).
  - 3.3. Methanol.
  - 3.4. Gestelde oplossing van natriumhydroxide, 0,01 M.
  - 3.5. Stikstof.
  - 3.6. Indicator : mengsel van gelijke delen (v/v) methylrood (0,03 % m/v in ethanol) en methyleenblauw (0,05 % m/v in ethanol). Filtreer de oplossing.
4. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
  - 4.1. Gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
  - 4.2. Destillatieapparaat (zie figuur).
5. **WERKWIJZE**
  - 5.1. Breng ongeveer 2,5 g monster, nauwkeurig gewogen, in destillatiekolf A (zie figuur).
  - 5.2. Voeg toe 60 ml water en 50 ml methanol (3.3) en meng.
  - 5.3. Breng 10 ml waterstofperoxide (3.1), 60 ml water en enkele druppels indicator (3.6) in opvangkolf D (zie figuur). Voeg zoveel druppels natriumhydroxide (3.4) toe, totdat de indicator juist groen kleurt.
  - 5.4. Herhaal 5.3 voor wasflus E (zie figuur).
  - 5.5. Assembleer de opstelling en stel de stikstofstroom (3.5) in op ongeveer 60 bellen per minuut.
  - 5.6. Breng via de druppeltrechter 15 ml orthofosforzuur (3.2) in destillatiekolf A.
  - 5.7. Breng snel aan de kook en laat vervolgens gedurende 30 minuten rustig doorkoken.
  - 5.8. Ontkoppel opvangkolf D. Spoel het glaswerk na en titreer met natriumhydroxide oplossing (3.4) tot de indicator naar groen omslaat (3.6).
6. **BEREKENING**  
Het sulfiet- of bisulfietgehalte (m/m) in het monster wordt berekend met de volgende formule:  

$$\% \text{ m/m zwaveldioxide} = 3,2 \text{ MV/m}$$
 waarin :  
 M = molaire concentratie natriumhydroxideoplossing (3.4),  
 V = het bij de titratie (5.8) verbruikte volume (in ml) natriumhydroxide (3.4),  
 m = massa (in g) van het monster (5.1).
7. **HERHAALBAARHEID (1)**  
Bij een zwaveldioxidegehalte van 0,2 % (m/m) mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op hetzelfde monster, niet groter zijn dan 0,006 %.

(1) ISO 5725.



## XXVII IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN ALKALICHLORATEN

## DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze methode beschrijft de identificatie en gehaltebepaling van chloraten in tandpasta's en andere cosmetische produkten.

## A. IDENTIFICATIE

## 1. PRINCIPE

Chloraten worden van andere halogenaten gescheiden met behulp van dunnelaagchromatografie en geïdentificeerd via de oxidatie van jodide tot jood.

## 2. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn.

2.1. Referentieoplossingen: vers bereide oplossingen van kaliumchloraat, kaliumbromaat en kaliumjodaat (0,2 % m/v) in water.

2.2. Loopvloeistof: ammonia (28 % m/v) / aceton/butanol: 60—130—30 (v/v/v).

2.3. Kaliumjodideoplossing in water (5 % m/v).

2.4. Stijfseoplossing (1 à 5 % m/v).

2.5. Zoutzuur, 1 M.

2.6. Kant-en-klare dunnelaagplaten, cellulose (laagdikte 0.25 mm).

## 3. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

Gebruikelijke laboratoriumuitrusting voor dunnelaagchromatografie.

## 4. WERKWIJZE

4.1. Extraheer ongeveer 1 g monster met water, filtreer, en verdun tot ongeveer 25 ml.

4.2. Breng 2 µl van oplossing 4.1 op de plaat (2.6), evenals 2 µl van elk der drie referentieoplossingen (2.1).

4.3. Plaats de plaat in een bak en chromatografeer tot de loopvloeistof (2.2) ongeveer driekwart de lengte van de plaat (2.6) heeft afgelegd.

4.4. Neem de plaat uit de bak en laat de loopvloeistof verdampen (NB: Dit kan tot 2 uur duren).

4.5. Bespuit de plaat met kaliumjodide (2.3) en laat ongeveer 5 minuten drogen.

4.6. Bespuit de plaat met stijfseoplossing (2.4) en laat ongeveer 5 minuten drogen.

4.7. Bespuit de plaat met zoutzuur (2.5).

## 5. BEOORDELING

Wanneer chloraat aanwezig is, verschijnt na een half uur een blauwe, eventueel bruine, vlek.

De Rf-waarden zijn als volgt:

	Rf
Chloraat	0,7 — 0,8
Bromaat	0,5 — 0,6
Jodaat	0 — 0,2

Opgemerkt zij dat bromaat en jodaat onmiddellijk reageren, en dat de vlekken van bromaat en chloraat niet verward mogen worden.

## B. GEHALTEBEPALING

1. **DEFINITIE**  
Het volgens deze methode bepaalde chlooraatgehalte wordt uitgedrukt in massapercenten.
2. **PRINCIPE**  
Chlooraat wordt in zuur milieu met zinkpoeder gereduceerd. Het gevormde chloride wordt potentiometrisch getitreerd met zilvernitraat. Een blanco titratie voor de reductie staat de aanwezigheid van halides toe.
3. **REAGENTIA**  
Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn
  - 3.1. Azijnzuur, 80 % m/m.
  - 3.2. Zinkpoeder.
  - 3.3. Zilvernitraatoplossing, gesteld, 0,1 M.
4. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
  - 4.1. De gebruikelijke laboratoriumuitrusting.
  - 4.2. Potentiometer, uitgerust met een zilverelektrode als indicatorelektrode.
5. **WERKWIJZE**
  - 5.1. **Monstervoorbereiding**  
Breng ongeveer 2 g monster, nauwkeurig gewogen (m g), in een centrifugebuis. Voeg ongeveer 15 ml azijnzuur (3.1) toe en meng zorgvuldig. Wacht 30 minuten en centrifugeer gedurende 15 minuten bij 2 000 rpm. Breng de bovenstaande vloeistof over in een 50 ml maatkolf. Herhaal het centrifugeren tweemaal, na toevoegen van telkens 15 ml azijnzuur (3.1) aan het residu. Verzamel de chloridebevattende oplossing in dezelfde maatkolf. Vul aan tot de streep met azijnzuur (3.1).
  - 5.2. **Reductie van het chlooraat**  
Neem 20 ml van oplossing 5.1 en voeg toe 0,6 g zinkpoeder (3.2). Breng aan de kook in een kolf voorzien van een terugvloeikoeler. Laat na 30 minuten koken de inhoud van de kolf afkoelen en filtreer. Spoel de kolf na met water, filtreer en verzamel het filtraat en de spoelvloeistof.
  - 5.3. **Bepaling van chloride**  
Titreer de oplossing 5.2 met zilvernitraat (3.3) met behulp van de potentiometer (4.2). Titreer op dezelfde manier 20 ml oplossing 5.1 met zilvernitraat (3.3).  
Wanneer het produkt broom- of joodderivaten bevat, die na reductie bromide of jodide kunnen vormen, zal de titratiecurve verscheidene buigpunten bevatten. In dat geval is het volume van de getitreerde oplossing (3.3) dat overeenkomt met chloride, gelijk aan het verschil tussen het laatste en het op een na laatste buigpunt.
6. **BEREKENING**  
Het chlooraatgehalte van het monster (% m/m) wordt berekend volgens de formule:  
$$\% \text{ chlooraat m/m} = 20,9 (V - V') M/m$$
  
waarin :  
V = volume in ml zilvernitraatoplossing (3.3) verbruikt bij de titratie van oplossing 5.2,  
V' = volume in ml zilvernitraatoplossing (3.3) verbruikt bij de titratie van 20 ml oplossing 5.1,  
M = molariteit van de zilvernitraatoplossing (3.3),  
m = massa van het monster in g (5.1).
7. **HERHAALBAARHEID (1)**  
Bij een gehalte van 3 tot 5 % m/m mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op het zelfde monster, niet groter zijn dan 0,07 % m/m.

(1) ISO 5725.

## XXVIII IDENTIFICATIE EN GEHALTEBEPALING VAN NATRIUMJODAAT

## DOEL EN TOEPASSINGSGEBIED

Deze methode beschrijft de identificatie en de gehaltebepaling van natriumjodaat in cosmetische produkten die na gebruik worden afgespoeld.

## A. IDENTIFICATIE

1. **PRINCIPE**

Natriumjodaat wordt van andere halogenaten gescheiden door middel van dunnelaagchromatografie en aangetoond aan de hand van de oxidatie van jodide tot jood.
2. **REAGENTIA**

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn

  - 2.1. Referentieoplossingen: vers bereide oplossingen van kaliumchloraat, kaliumbromaat en kaliumjodaat in water (0,01 % m/v).
  - 2.2. Loopvloeistof: ammonia (28 % m/v)/aceton/butanol: 60 — 130 — 30 (v/v/v).
  - 2.3. Kaliumjodideoplossing in water (5 % m/v).
  - 2.4. Stijfseoplossing (1 tot 5 % m/v).
  - 2.5. Zoutzuur, 1 M.
3. **APPARATUUR EN HULPMIDDELEN**
  - 3.1. Kant-en-klare cellulose dunnelaagplaten (0,25 mm).
  - 3.2. Gebruikelijke uitrusting voor dunnelaagchromatografie.
4. **WERKWIJZE**
  - 4.1. Extraheer ongeveer 1 g monster met water, filtreer en verdun tot ongeveer 10 ml.
  - 4.2. Breng 2 µl van deze oplossing op de startlijn van de plaat (3.1), evenals telkens 2 µl van elk der drie referentieoplossingen (2.1).
  - 4.3. Plaats de plaat in een bak en chromatografeer verticaal tot de loopvloeistof (2.2) ongeveer driekwart van de lengte van de plaat heeft afgelegd.
  - 4.4. Neem de plaat uit de bak en laat de loopvloeistof bij kamertemperatuur verdampen (NB: Dit kan tot 2 uur duren).
  - 4.5. Bespuit de plaat met kaliumjodide (2.3) en laat ongeveer 5 minuten drogen.
  - 4.6. Bespuit de plaat vervolgens met stijfseoplossing (2.4) en laat ongeveer 5 minuten drogen.
  - 4.7. Bespuit de plaat ten slotte met zoutzuur (2.5).
5. **BEOORDELING**

Wanneer jodaat aanwezig is verschijnt er onmiddellijk een blauwe vlek (de kleur kan ook bruin zijn of bruin worden na staan) met een R<sub>f</sub>-waarde van ongeveer 0 tot 0,2.

Ter vergelijking: bromaten geven onmiddellijke reacties bij R<sub>f</sub>-waarden van 0,5 tot 0,6 en chloraten geven reacties na ongeveer 30 minuten met R<sub>f</sub>-waarden van 0,7 tot 0,8.

## B. BEPALING

1. **DEFINITIE**

Het volgens deze methode bepaalde natriumjodaatgehalte wordt uitgedrukt in massapercenten.
2. **PRINCIPE**

Natriumjodaat wordt in water opgelost en bepaald door middel van hogedruk-vloeistofchromatografie met behulp van een in serie geschakelde reversed phase C18-kolom en een anionenwisselende kolom.

### 3. REAGENTIA

Alle reagentia moeten van analytische kwaliteit zijn en, indien van toepassing, geschikt voor hogedruk-vloeistofchromatografie (HPLC).

- 3.1. Zoutzuur, 4 M.
- 3.2. Oplossing van natriumsulfiet in water, 5 % m/v.
- 3.3. Natriumjodaat stamoplossing: bereid een oplossing met 50 mg natriumjodaat per 100 ml water.
- 3.4. Kaliumdiwaterstoforthofosfaat.
- 3.5. Dinatriumwaterstoforthofosfaat · 2 H<sub>2</sub>O
- 3.6. Mobile fase voor HPLC: los op 3,88 g kaliumdiwaterstoforthofosfaat (3.4) en 1,19 g dinatriumwaterstoforthofosfaat · 2H<sub>2</sub>O (3.5) in 1 liter water.  
De pH van de uiteindelijke oplossing is 6,2.
- 3.7. Universeel indicatorpapier, pH 1-11.

### 4. APPARATUUR EN HULPMIDDELEN

Gebruikelijke laboratoriumuitrusting, tenzij anders aangegeven

- 4.1. Rond filtreerpapier, doorsnede 110 mm, Schleicher en Schull nr. 575 of gelijkwaardig.
- 4.2. Hogedruk-vloeistofchromatograaf, uitgerust met een variabele-golflengtedetector.
- 4.3. Kolommen: lengte 120 mm, inwendige doorsnede 4,6 mm, twee in serie geschakeld; pakking eerste kolom: Nucleosil R5 C18 of gelijkwaardig materiaal; tweede kolom: Vydac TM301SB of gelijkwaardig materiaal.

### 5. WERKWIJZE

#### 5.1. Monstervoorbereiding

##### 5.1.1. Vloeibare monsters (shampoo's)

Breng ongeveer 1 g monster, nauwkeurig gewogen, in een gekalibreerde buis met glazen stop of maatkolf van 10 ml. Vul de buis of kolf aan met water tot de streep en meng. Filtreer de oplossing zonodig.

Bepaal de jodaatconcentratie in de oplossing met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie zoals beschreven in 5.2.

##### 5.1.2. Vaste monsters (zeep)

Een gedeelte van het monster fijn verdelen en van het fijnverdeelde monster ongeveer 1 g, nauwkeurig gewogen, in een maatcilinder van 100 ml met glazen stop brengen. Vul de maatcilinder tot 50 ml met water en schud krachtig gedurende 1 minuut. Centrifugeer en filtreer de bovenstaande vloeistof door een filtreerpapier (4.1).

Of: laat het mengsel gedurende ten minste een nacht staan. Schud de geleichtige vloeistof vervolgens krachtig en filtreer door een filtreerpapier (4.2).

Bepaal de jodaatconcentratie in het filtraat met behulp van hogedruk-vloeistofchromatografie zoals beschreven in 5.2.

#### 5.2. Chromatografie

Flow rate: 1 ml/minuut.

Golflengtedetector (4.2): 210 nm.

Injectievolume: 10 µl.

Gemeten wordt het piekoppervlak.

#### 5.3. IJklijn

Bereid natriumjodaat standaardoplossingen door in 50 ml maatkolven respectievelijk 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 en 20,0 ml natriumjodaat stamoplossing (3.3) te pipetteren. Vul aan tot de maatstreep met water en meng. De aldus verkregen oplossingen bevatten achtereenvolgens 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 en 0,20 mg natriumjodaat per ml. Injecteer van iedere standaard-jodaatoplossing 10 µl in de vloeistofchromatograaf (4.3) en neem een chromatogram op. Bepaal het piekoppervlak voor jodaat uit het chromatogram en zet dit uit in een grafiek tegen de jodaatconcentratie van de standaardoplossing.

## 6. BEREKENING

Bereken het natriumjodaatgehalte van het monster in massapercenten (% m/m) met behulp van de volgende formule:

$$\% \text{ (m/m) natriumjodaat} = VC/10 m$$

waarin:

m = de massa van de monsterhoeveelheid (5.1) in g,

v = het totaalvolume monsteroplossing in ml, zoals verkregen volgens (5.1),

C = de concentratie in mg/ml natriumjodaat, afgelezen uit de ijkgrafiek (5.3).

## 7. HERHAALBAARHEID (Volgens de norm ISO 5725)

Bij een natriumjodaatgehalte van 0,1 % (m/m) mag het verschil tussen de meetuitkomsten van twee bepalingen, gelijktijdig uitgevoerd door dezelfde analist onder zoveel mogelijk identieke omstandigheden op het zelfde monster, niet groter zijn dan 0,002 %.

## 8. BEVESTIGING

## 8.1 Principe

In een aangezuurde oplossing van een cosmetische produkt wordt jodaat ( $\text{IO}_3^-$ ) gereduceerd tot jodide ( $\text{I}^-$ ) door middel van sulfiet en de resulterende oplossing onderzocht met HPLC. Wanneer een piek met een retentietijd, die overeenkomt met de retentietijd van jodaat verdwijnt na de reactie met sulfiet, kan de oorspronkelijke piek met grote waarschijnlijkheid worden toegekend aan jodaat.

## 8.2. Werkwijze

Pipetteer 5 ml van de volgens 5.1 verkregen monsteroplossing in een erlenmeyer. Breng de pH van de oplossing met zoutzuur (3.1) met behulp van universeel indicatorpapier (3.7) op een waarde van 3 of lager. Voeg vervolgens 3 druppels sulfietoplossing (3.2) toe en meng. Injecteer 10 µl van de verkregen oplossing in de vloeistofchromatograaf (4.2) en neem het chromatogram op. Vergelijk het verkregen chromatogram met het volgens paragraaf 5 verkregen chromatogram van het zelfde monster.

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 30 juni 1986

BOUDEWIJN

Van Koningswege :

De Minister van Sociale Zaken,

J.-L. DEHAENE

De Staatssecretaris voor Volksgezondheid,  
Mevr. W. DEMEESTER-DE MEYER



## ANNEXE

## XXIII IDENTIFICATION ET DOSAGE DU 1-(4-AMINOENZOATE) DE GLYCÉROL

## A. IDENTIFICATION

## 1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode est destinée à mettre en évidence le 1-(4-aminobenzoate) de glycérol ou 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile. Elle permet également d'identifier le 4-aminobenzoate d'éthyle (benzocaïne DCI) éventuellement présent comme impureté.

## 2. PRINCIPE

L'identification se fait par chromatographie sur couche mince de silicagel avec indicateur fluorescent et mise en évidence de la fonction amine primaire libre par formation sur la plaque d'un colorant diazoïque.

## 3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Mélange solvant : cyclohexane/isopropanol/dichlorométhane stabilisé : 48/64/9 (v/v/v).

3.2. Solvant de développement : éther de pétrole/benzène/acétone ammoniacale (minimum 25 %  $\text{NH}_3$ ) : 35/35/35/1 (v/v/v/v).

3.3. Révélateur : solution a) : nitrite de sodium : 1,0 g dans 100 ml HCl 1 M, à préparer extemporanément, solution b) : 2-naphtol : 0,2 g dans 100 ml KOH 1 M.

## 3.4. Solutions étalons :

— 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile : 0,050 g dans 100 ml du mélange solvant (3.1),  
— 4-aminobenzoate d'éthyle : 0,050 g dans 100 ml du mélange solvant (3.1).

3.5. Plaque de silicagel 60 F254 d'épaisseur 0,25 mm et du format 20 × 20 cm.

## 4. APPAREILLAGE

4.1. Équipement courant de chromatographie sur couche mince.

4.2. Appareil vibreur à ultra-sons.

4.3. Filtre Millipore FH 0,5  $\mu\text{m}$  ou équivalent.

## 5. MODE OPÉRATOIRE

## 5.1. Préparation de l'échantillon

Peser 1,5 g d'échantillon dans une fiole jaugée bouchée à l'émeri de 10 ml. Porter à 10 ml avec le mélange solvant (3.1). Boucher et laisser pendant 1 heure à température ambiante dans un appareil vibreur à ultra-sons (4.2). Filtrer sur filtre millipore (4.3). Utiliser le filtrat pour la chromatographie.

## 5.2. Chromatographie sur couche mince

Déposer sur la plaque (3.5) 10  $\mu\text{l}$  du filtrat 5.1 et 10  $\mu\text{l}$  de chaque solution étalon (3.4). Développer le chromatogramme sur 15 cm dans une cuve préalablement saturée avec le solvant (3.2). Laisser sécher à la température ambiante.

## 5.3. Révélation

5.3.1. Observer la plaque sous ultraviolets à 254 nm.

5.3.2. Sur la plaque parfaitement sèche, vaporiser la solution (3.3 a).

Laisser sécher à la température ambiante pendant 1 mn et vaporiser immédiatement la solution (3.3 b).

Sécher la plaque à l'étuve à 60 °C. Les tâches apparaissent colorées en orange avec les  $R_f$  suivants : 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile : 0,07 ; 4-aminobenzoate d'éthyle : 0,55.

## B. DOSAGE

## 1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage du 1-(4-aminobenzoate) de glycérol (4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile). Elle permet également le dosage du 4-aminobenzoate d'éthyle. Elle convient pour doser au maximum 5 % (m/m) de 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile et 1 % (m/m) de 4-aminobenzoate d'éthyle.

## 2. DÉFINITION

La teneur en 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile et en 4-aminobenzoate d'éthyle mesurée par cette méthode est exprimée en pourcentage de masse (% m/m) du produit.

## 3. PRINCIPE

Le produit à analyser est mis en suspension dans du méthanol et, après traitement approprié, le dosage est effectué par chromatographie liquide à haute pression (CLHP).

## 4. RÉACTIFS

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

## 4.1. Méthanol.

4.2. Dihydrogénéorthophosphate de potassium  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 4.3. Di(acétate) de zinc  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.4. Acide acétique:  $d_4^{20} = 1,05$ .4.5. Hexacyanoferrate de tétrapotassium:  $\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 

## 4.6. 4-hydroxybenzoate d'éthyle.

4.7. 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile.

## 4.8. 4-aminobenzoate d'éthyle (benzocaïne).

## 4.9. Solution tampon (0,02 M): dissoudre 2,72 g de dihydrogénéorthophosphate de potassium (4.2) dans 1 l d'eau.

## 4.10. Éluant: solution tampon (4.9) méthanol (4.1): 61/39 (v/v). La composition de cette phase mobile peut être modifiée de telle manière que le facteur de résolution R soit égal ou supérieur à 1,5:

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

où :

$R_1$  et  $R_2$  = temps de rétention exprimé en minute de deux pics,  
 $W_1$  et  $W_2$  = largeur exprimée en mm des mêmes pics à mi-hauteur,  
 $d'$  = vitesse de déroulement du papier en mm/mn.

4.11. Solution-mère de 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile: peser exactement environ 40 mg de 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile. Les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Dissoudre dans 40 ml de méthanol (4.1). Compléter jusqu'au trait avec la solution tampon (4.9) et mélanger.

## 4.12. Solution-mère de 4-aminobenzoate d'éthyle: peser exactement environ 40 mg de 4-aminobenzoate d'éthyle. Les introduire dans une fiole jaugée de 100 ml. Dissoudre dans 40 ml de méthanol (4.1). Compléter jusqu'au trait avec la solution tampon (4.9) et mélanger.

## 4.13. Solution étalon interne: peser exactement environ 50 mg de 4-hydroxybenzoate d'éthyle (4.6), les dissoudre par 40 ml de méthanol (4.1). Introduire la solution dans une fiole jaugée de 100 ml, compléter jusqu'au trait avec la solution tampon (4.9) et mélanger.

## 4.14. Solutions étalons: par dissolution dans 100 ml d'éluant (4.10), préparer quatre solutions étalons selon le tableau suivant:

Solution étalon	4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile		4-aminobenzoate d'éthyle		4-hydroxybenzoate d'éthyle	
	ml (4.11)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.12)	$\mu\text{g/ml}$ (*)	ml (4.13)	$\mu\text{g/ml}$ (*)
I	2	8	—	8	10	50
II	4	16	3	12	10	50
III	6	24	4	16	10	50
IV	10	40	5	20	10	50

(\*) Ces valeurs sont données à titre indicatif et correspondent à une pesée exacte des solutions 4.11, 4.12 et 4.13.

Note: Ces solutions peuvent être obtenues de façon différente.

- 4.15 Solution de Carrez I : dissoudre 26,5 g de hexacyanoferrate de tétrapotassium (4.5) dans l'eau et compléter à 250 ml.
- 4.16 Solution de Carrez II : dissoudre 54,9 g de di(acétate) de zinc (4.3) et 7,5 ml d'acide acétique (4.4) dans l'eau et compléter à 250 ml.
- 4.17 Lichrosorb RP-18, ou équivalent, de 5  $\mu$ m.

## 5. APPAREILLAGE

- 5.1. Matériel courant de laboratoire.
- 5.2. Chromatographe en phase liquide, à haute pression avec détecteur ultraviolets, à longueur d'onde variable et chambre thermostatique à 45 °C.
- 5.3. Colonne en acier inoxydable : longueur 250 mm, diamètre intérieur 4,6 mm. La colonne est remplie de Lichrosorb RP-18 (4.17).
- 5.4. Bain à ultra-sons.

## 6. MODE OPÉRATOIRE

### 6.1. Préparation de l'échantillon

- 6.1.1. Peser exactement environ 1 g d'échantillon dans un bécher de 100 ml et ajouter 10 ml de méthanol (4.1).
- 6.1.2. Placer le bécher pendant 20 minutes dans un bain à ultra-sons (5.4). Transvaser quantitativement la suspension ainsi obtenue dans un ballon, jaugé de 100 ml avec 75 ml d'éluant (4.10) au maximum. Ajouter successivement 1 ml de solution de Carrez I (4.15) et 1 ml de solution de Carrez II (4.16) en mélangeant après chaque opération. Compléter jusqu'au trait avec l'éluant (4.10), mélanger de nouveau et filtrer sur un filtre plissé.
- 6.1.3. Au moyen d'une pipette, introduire, dans une fiole jaugée de 50 ml, 3,0 ml du filtrat obtenu en 6.1.2 et 5,0 ml de la solution étalon interne (4.13). Compléter au trait avec l'éluant (4.10) et mélanger. Utiliser la solution ainsi obtenue pour procéder à l'analyse chromatographique décrite au point 6.2.

### 6.2. Chromatographie

- 6.2.1. Régler le débit de la phase mobile (4.10) à 1,2 ml/mn et fixer la température de la colonne à 45 °C.
- 6.2.2. Régler le détecteur (5.2) sur 274 nm.
- 6.2.3. Au moyen d'une microseringue, faire au moins deux injections de 20  $\mu$ l de la solution (6.1.3) et mesurer la surface des pics.

### 6.3. Courbes d'étalonnage

- 6.3.1. Injecter 20  $\mu$ l de chacune des solutions étalons (4.14) et mesurer la surface des pics.
- 6.3.2. Pour chaque concentration, calculer le rapport entre la surface du pic de 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile et la surface du pic de l'étalon interne. Tracer la courbe d'étalonnage en plaçant ce rapport en ordonnée et le rapport des masses correspondantes en abscisse.
- 6.3.3. Procéder de la même manière pour le 4-aminobenzoate d'éthyle.

## 7. CALCUL

- 7.1. Sur les courbes d'étalonnage obtenues au point 6.3, lire les rapports de masse  $RP_1$  et  $RP_2$  correspondant aux rapports entre les surfaces des pics calculés au point 6.2.3 où :

$RP_1$  = rapport des masses de 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile et 4-hydroxybenzoate d'éthyle,  
 $RP_2$  = rapport des masses de 4-aminobenzoate d'éthyle et 4-hydroxybenzoate d'éthyle.

- 7.2. À partir des rapports de masse ainsi obtenus, calculer la teneur en 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile et en 4-aminobenzoate d'éthyle, en pourcentage de masse (% m/m), au moyen des formules :
- $$g \% \text{ (m/m) 4-aminobenzoate d}'\alpha\text{-monoglycérile} = RP1 \times \frac{q}{6p}$$
- $$g \% \text{ (m/m) 4-aminobenzoate d'éthyle} = RP1 \times \frac{q}{6p}$$
- où :
- q = quantité en mg de 4-hydroxybenzoate d'éthyle (étalon interne) pesée au point 4.13,  
p = quantité en g d'échantillon pesée au point 6.1.1.
8. RÉPÉTABILITÉ (\*)
- 8.1. Pour une teneur de 5 % (m/m) en 4-aminobenzoate d' $\alpha$ -monoglycérile, la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,25 %.
- 8.2. Pour une teneur de 1 % (m/m) de 4-aminobenzoate d'éthyle, la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,10 %.
9. REMARQUES
- 9.1. Avant d'entreprendre l'analyse proprement dite, il convient de déterminer si l'échantillon ne contient pas de composé susceptible de coïncider avec le pic de l'étalon interne (4-aminobenzoate d'éthyle) sur le chromatogramme.
- 9.2. Pour vérifier l'absence d'interférences éventuelles, répéter le dosage en modifiant de plus ou moins 10 % la proportion de méthanol dans la phase mobile.

#### XXIV DOSAGE DU CHLOROBUTANOL

1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION
- La présente méthode convient pour le dosage du chlorobutanol à la concentration maximale de 0,5 % (m/m) pour tous les produits cosmétiques, à l'exception des aérosols.
2. DÉFINITION
- La teneur en chlorobutanol mesurée par cette méthode est exprimée en pourcentage de masse (% m/m) du produit.
3. PRINCIPE
- Après traitement approprié du produit à analyser, le dosage est effectué par chromatographie en phase gazeuse en utilisant le 2,2,2-trichloroéthanol comme étalon interne.
4. RÉACTIFS
- Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.
- 4.1. Chlorobutanol 1,1,1-trichloro-2-méthyl propanol-2.
- 4.2. 2,2,2-trichloroéthanol.
- 4.3. Éthanol absolu.
- 4.4. Solution étalon de chlorobutanol : 0,025 g dans 100 ml d'éthanol (4.3) (m/v).
- 4.5. Solution étalon de 2,2,2-trichloroéthanol : 0,004 g dans 100 ml d'éthanol (4.3) (m/v).
5. APPAREILLAGE
- 5.1. Matériel courant de laboratoire.
- 5.2. Chromatographe en phase gazeuse avec détecteur à capture d'électrons 63Ni.
6. MODE OPÉRATOIRE
- 6.1. Préparation de l'échantillon
- Peser exactement de 0,1 g à 0,3 g d'échantillon (p g). L'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, le dissoudre dans l'éthanol (4.3), ajouter 1 ml de la solution étalon interne (4.5) et compléter au trait avec de l'éthanol (4.3).

(\*) Selon la norme ISO 5725.

## 6.2. Conditions de la chromatographie en phase gazeuse

6.2.1. Les conditions opératoires doivent être telles que le facteur de résolution R de la colonne soit égal ou supérieur à 1,5 :

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

où :

R<sub>1</sub> et R<sub>2</sub> = temps de rétention exprimé en minute de deux pics consécutifs,W<sub>1</sub> et W<sub>2</sub> = largeur des pics à mi-hauteur exprimée en mm,

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

6.2.2. À titre d'exemple, les conditions opératoires suivantes fournissent le résultat recherché :

Colonne	I	II
Nature	Verre	Acier inoxydable
Longueur	1,80 m	3 m
Diamètre	3 mm	3 mm
Remplissage	10 % carbowax 20 M TPA sur Gaschrom Q 80-100 mesh	5 % OV 17 sur Chromosorb WAW DMCS 80-100 mesh
Conditionnement	2 à 3 jours à 190 °C	
Températures :		
— injecteur	200 °C	150 °C.
— colonne	150 °C	100 °C
— détecteur	200 °C	150 °C
Gaz vecteur	Azote	Argon/méthane (95/5 v/v)
Débit	35 ml/mn	32 ml/mn

## 6.3. Courbe étalon

Dans 5 fioles jaugées de 100 ml, ajouter à 1 ml de la solution étalon interne (4.5) respectivement 0,20, 0,30, 0,40, 0,50 et 0,60 ml de la solution (4.4) et compléter à 100 ml avec de l'éthanol (4.3). Injecter 1 µl de chacune de ces solutions dans le chromatographe selon les conditions opératoires décrites au point 6.2.2 et tracer la courbe étalon en portant en abscisse le rapport des masses du chlorobutanol au 2,2,2-trichloroéthanol et en ordonnée le rapport des surfaces correspondantes.

6.4. Injecter 1 µl de la solution obtenue en 6.1 et opérer selon les conditions décrites au point 6.2.2.

## 7. CALCUL

7.1. Calculer à partir de la courbe étalon (6.3) la quantité « a » exprimée en µg de chlorobutanol de la solution (6.1).

7.2. La teneur en chlorobutanol de l'échantillon % m/m est calculée selon la formule :

$$\% \text{ chlorobutanol m/m} = \frac{a \times 10^2}{p \times 10^4} = \frac{a}{p \times 10^2}$$

## 8. RÉPÉTABILITÉ (1)

Pour une teneur en chlorobutanol de 0,5 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,01 %.

*Note*

Si le résultat est égal ou supérieur à la concentration maximale autorisée, il convient de vérifier l'absence d'interférences.

(1) Selon la norme ISO 5725.

## XXV IDENTIFICATION ET DOSAGE DE LA QUININE

## A. IDENTIFICATION

1. **OBJET ET CHAMP D'APPLICATION**  
Cette méthode est destinée à mettre en évidence la présence de quinine dans les shampoings et lotions capillaires.
2. **PRINCIPE**  
L'identification s'effectue par chromatographie sur couche mince de silicagel et mise en évidence de la fluorescence bleue de la quinine en milieu acide à 360 nm.  
Pour confirmation ultérieure, on peut supprimer cette fluorescence au moyen de vapeurs de brome et faire apparaître une fluorescence jaunâtre par les vapeurs d'ammoniac.
3. **RÉACTIFS**  
Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.
  - 3.1. Plaques de silicagel d'une épaisseur de 0,25 mm sans indicateur de fluorescence, format 20 x 20 cm.
  - 3.2. Solvant de développement: toluène/éther diéthylique/dichlorométhane/diéthylamine: 20/20/20/8 (v/v/v/v).
  - 3.3. Méthanol.
  - 3.4. Acide sulfurique 96 % ( $d_4^{20} = 1,84$ ).
  - 3.5. Éther diéthylique.
  - 3.6. Réactif révélateur: ajouter avec précaution 5 ml d'acide sulfurique (3.4) à 95 ml d'éther diéthylique (3.5) dans un récipient réfrigéré.
  - 3.7. Brome.
  - 3.8. Ammoniaque à 28 % ( $d_4^{20} = 0,90$ ).
  - 3.9. Quinine anhydre.
  - 3.10. Solution étalon: peser exactement environ 100 mg de quinine anhydre (3.9) et les dissoudre avec du méthanol (3.3) dans une fiole jaugée de 100 ml.
4. **APPAREILLAGE**
  - 4.1. Équipement courant de chromatographie sur couche mince.
  - 4.2. Bain à ultra-sons.
  - 4.3. Filtres Millipore FH 0,5 µm ou équivalent avec appareillage de filtration adéquat.
5. **MODE OPÉRATOIRE**
  - 5.1. **Préparation de l'échantillon**  
Peser avec précision une quantité de produit cosmétique susceptible de contenir environ 100 mg de quinine. L'introduire dans une fiole jaugée de 100 ml, dissoudre et porter au trait de jauge avec du méthanol (3.3). Boucher et laisser pendant 1 heure à température ambiante dans le bain à ultra-sons (4.2). Filtrer sur filtre (4.3) et utiliser ce filtrat pour la chromatographie.
  - 5.2. **Chromatographie sur couche mince**  
Déposer sur la plaque de silicagel (3.1) 1,0 µl de solution étalon (3.10) et 1,0 µl de solution échantillon (5.1). Développer le chromatogramme sur 15 cm dans une cuve préalablement saturée aux vapeurs du solvant (3.2).
  - 5.3. **Révélation**
    - 5.3.1. Sécher la plaque à température ambiante.
    - 5.3.2. Pulvériser le réactif (3.6).
    - 5.3.3. Laisser sécher la plaque pendant 1 heure à température ambiante.
    - 5.3.4. Observer la plaque sous rayonnement ultraviolet à 360 nm. La quinine apparaît sous forme d'une tache fluorescente bleu intense.  
À titre d'exemple, le tableau ci-après reproduit les Rf des principaux alcaloïdes du quinquina, développés au moyen du solvant (3.2).

Alcaloïdes	Rf
Quinine	0,20
Quinidine	0,29
Cinchonine	0,33
Cinchonidine	0,27
Hydroquinidine	0,17

- 5.3.5. Pour confirmation ultérieure de l'identification de la quinine, on expose pendant environ 1 heure la plaque aux vapeurs de brome (3.7); la fluorescence disparaît. En exposant ensuite la même plaque aux vapeurs d'ammoniaque (3.8), les taches réapparaissent avec une coloration brune et, si l'on réexamine la plaque sous ultraviolets à 360 nm, on constate une fluorescence jaunâtre.

Limite d'identification : 0,1 µg de quinine.

## B. DOSAGE

### 1. OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

Cette méthode décrit le dosage de la quinine dans les shampooings et les lotions capillaires. Elle convient pour doser au maximum 0,5 % m/m dans les shampooings et 0,2 % m/m dans les lotions.

### 2. DÉFINITION

La teneur en quinine mesurée par cette méthode est exprimée en pourcentage de masse (% m/m) du produit.

### 3. PRINCIPE

Après traitement approprié du produit à analyser, le dosage est effectué par chromatographie liquide à haute pression (CLHP).

### 4. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. Ils doivent notamment convenir pour la chromatographie liquide à haute pression.

#### 4.1. Acétonitrile.

#### 4.2. Dihydrogénéorthophosphate de potassium $\text{KH}_2\text{PO}_4$

#### 4.3. Acide orthophosphorique à 85 % ( $d_4^{20} = 1,7$ ).

#### 4.4. Bromure de tétraméthylammonium.

#### 4.5. Quinine anhydre.

#### 4.6. Méthanol.

#### 4.7. Solution d'acide orthophosphorique 0,1 M: dissoudre 11,53 g d'acide orthophosphorique (4.3) dans 1 000 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée.

#### 4.8. Solution de dihydrogénéorthophosphate de potassium 0,1 M: dissoudre 13,6 g de dihydrogénéorthophosphate de potassium (4.2) dans 1 000 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée.

#### 4.9. Solution de bromure de tétraméthylammonium 0,1 M: dissoudre 15,40 g de bromure de tétraméthylammonium (4.4) dans 1 000 ml d'eau distillée dans une fiole jaugée.

#### 4.10. Éluant: acide orthophosphorique 0,1 M (4.7) / dihydrogénéorthophosphate de potassium 0,1 M (4.8) / bromure de tétraméthylammonium 0,1 M (4.9) / eau pour CLHP / acétonitrile (4.1): 10/50/100/340/90 (v/v/v/v/v).

La composition de la phase mobile peut être modifiée de telle manière que le facteur de résolution R soit égal ou supérieur à 1,5:

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

où:

$R_1$  et  $R_2$  = temps de rétention exprimé en minute de deux pics consécutifs,

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

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

#### 4.11. Silice octadécylsilanisée de granulométrie 10 µm.

#### 4.12. Solution étalon: dans une série de fioles jaugées de 100 ml, peser successivement avec précision 5,0, 10,0, 15,0 et 20,0 mg de quinine anhydre (4.5). Ajuster avec du méthanol (4.6) et agiter jusqu'à dissolution. Filtrer chaque solution sur filtre (5.5) de 0,5 µm.

### 5. APPAREILLAGE

#### 5.1. Matériel courant de laboratoire.

#### 5.2. Bain à ultra-sons.

#### 5.3. Chromatographie en phase liquide à haute pression avec détecteur ultraviolets à longueur d'onde variable.

#### 5.4. Colonne en acier inoxydable: longueur 25 cm, diamètre intérieur: 4,6 mm, remplissage: silice octadécylsilanisée (4.11).

#### 5.5. Filtre Millipore FH 0,5 µm ou équivalent avec appareil de filtration adéquat.

## 6. MODE OPÉRATOIRE

## 6.1. Préparation de l'échantillon

Peser avec précision dans une fiole jaugée de 100 ml une quantité d'échantillon correspondant à environ 10 mg de quinine anhydre. Ajouter 20 ml de méthanol (4.6) et placer la fiole pendant 20 minutes dans un bain à ultra-sons (5.2). Compléter au trait au moyen de méthanol (4.6). Homogénéiser la solution et filtrer une partie aliquote sur le filtre (5.5).

## 6.2. Conditions de la chromatographie

- Débit de la phase mobile (4.10): 1,0 ml/mn.
- Détection : 332 nm.
- Quantité à injecter: 10,0 µl de la solution filtrée (6.1).
- Mesure de la surface du pic.

## 6.3. Courbe d'étalonnage

Introduire au moins trois fois 10,0 µl de chacune des solutions étalons (4.12). Mesurer la surface du pic et en calculer la valeur moyenne pour chaque concentration.

Tracer la droite d'étalonnage.

## 7. CALCUL

7.1. À partir de la courbe d'étalonnage (6.3), calculer la quantité de quinine anhydre, exprimée en µg, contenue dans le volume injecté.

7.2. La concentration en quinine anhydre dans l'échantillon, en pourcentage de masse, est obtenue par la formule suivante :

$$\% \text{ (m/m) de quinine anhydre} = \frac{B}{A}$$

où :

B = quantité en µg de quinine anhydre contenue dans 10 µl de la solution filtrée (6.1.1),  
A = masse de l'échantillon 6.1 exprimée en g.

## 8. RÉPÉTABILITÉ (\*)

Pour une teneur en quinine anhydre de l'ordre de 0,5 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas être supérieure à 0,02 %.

Pour une teneur en quinine anhydre 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 être supérieure à 0,01 %.

## XXVI IDENTIFICATION ET DOSAGE DES SULFITES ET BISULFITES INORGANIQUES

## OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode décrit l'identification et le dosage des sulfites et des hydrogénosulfites inorganiques dans les produits cosmétiques. Elle est applicable seulement aux produits contenant une phase aqueuse ou alcoolique et pour des teneurs jusqu'à 0,2 % exprimé en SO<sub>2</sub>.

## A. IDENTIFICATION

## 1. PRINCIPE

L'échantillon est chauffé dans de l'acide chlorhydrique et l'anhydride sulfureux libéré est identifié par son odeur ou à l'aide d'un papier indicateur.

## 2. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

2.1. Acide hydrochlorique (4 M).

2.2. Papier indicateur à l'iodate de potassium-amidon, ou autre papier indicateur.

## 3. APPAREILLAGE

3.1. Matériel courant de laboratoire.

3.2. Ballon de 25 ml pourvu d'un réfrigérant à reflux court.

## 4. MODE OPÉRATOIRE

4.1. Introduire dans le flacon (3.2) 2,5 g d'échantillon et 10 ml d'acide hydrochlorique (2.1).

4.2. Mélanger et porter à ébullition.

4.3. Détecter l'anhydride sulfureux à l'odeur ou au moyen du papier indicateur (2.2).

(\*) Selon la norme ISO 5725.



## B. DOSAGE

## 1. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en sulfite ou en hydrogénosulfite déterminée selon cette méthode est exprimée en pourcentage de la masse de dioxyde de soufre.

## 2. PRINCIPE

Après acidification de l'échantillon, le dioxyde de soufre libéré est distillé et recueilli dans une solution de peroxyde d'hydrogène. L'acide sulfurique formé est titré à l'aide d'une solution titrée d'hydroxyde de sodium.

## 3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

3.1. Peroxyde d'hydrogène 0,2 % (m/v). Ce réactif doit être préparé quotidiennement.

3.2. Acide orthophosphorique ( $d_{25}^4 = 1,75$ ).

3.3. Méthanol.

3.4. Solution titrée d'hydroxyde de sodium : 0,01 M.

3.5. Azote.

3.6. Indicateur : mélange 1 : 1 (v/v) de rouge de méthyle (0,03 % m/v dans de l'éthanol) et de bleu de méthylène (0,05 % m/v dans de l'éthanol). Filtrer la solution.

## 4. APPAREILLAGE

4.1. Matériel courant de laboratoire.

4.2. Appareil à distiller (voir schéma).

## 5. MODE OPÉRATOIRE

5.1. Peser avec précision environ 2,5 g d'échantillon et les introduire dans le ballon de distillation A (voir schéma).

5.2. Ajouter 60 ml d'eau et 50 ml de méthanol (3.3), et mélanger.

5.3. Introduire 10 ml de peroxyde d'hydrogène (3.1), 60 ml d'eau et quelques gouttes d'indicateur (3.6) dans le récipient D destiné à recevoir le distillat (voir schéma). Ajouter quelques gouttes d'hydroxyde de sodium (3.4) jusqu'à ce que l'indicateur vire au vert.

5.4. Procéder de même dans le flacon laveur E (voir schéma).

5.5. Assembler l'appareil et régler le débit d'azote (3.5) à environ 60 bulles par minute.

5.6. Introduire par l'entonnoir 15 ml d'acide orthophosphorique (3.2) dans le flacon de distillation A.

5.7. Porter rapidement à ébullition et laisser bouillir régulièrement pendant 30 minutes.

5.8. Déconnecter le récipient D contenant le distillat. Rincer le tube et, ensuite, titrer au moyen d'une solution d'hydroxyde de sodium (3.4) jusqu'à ce que l'indicateur (3.6) vire au vert.

## 6. CALCUL

Calculer la teneur en sulfite ou en hydrogénosulfite de l'échantillon en pourcentage de masse à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ m/m de dioxyde de soufre} = \frac{3,2 \text{ MV}}{m}$$

où :

M = concentration molaire de la solution d'hydroxyde de sodium (3.4),

V = volume (en ml) d'hydroxyde de sodium (3.4) nécessaire pour le titrage (5.8),

m = masse (en g) de l'échantillon (5.1).

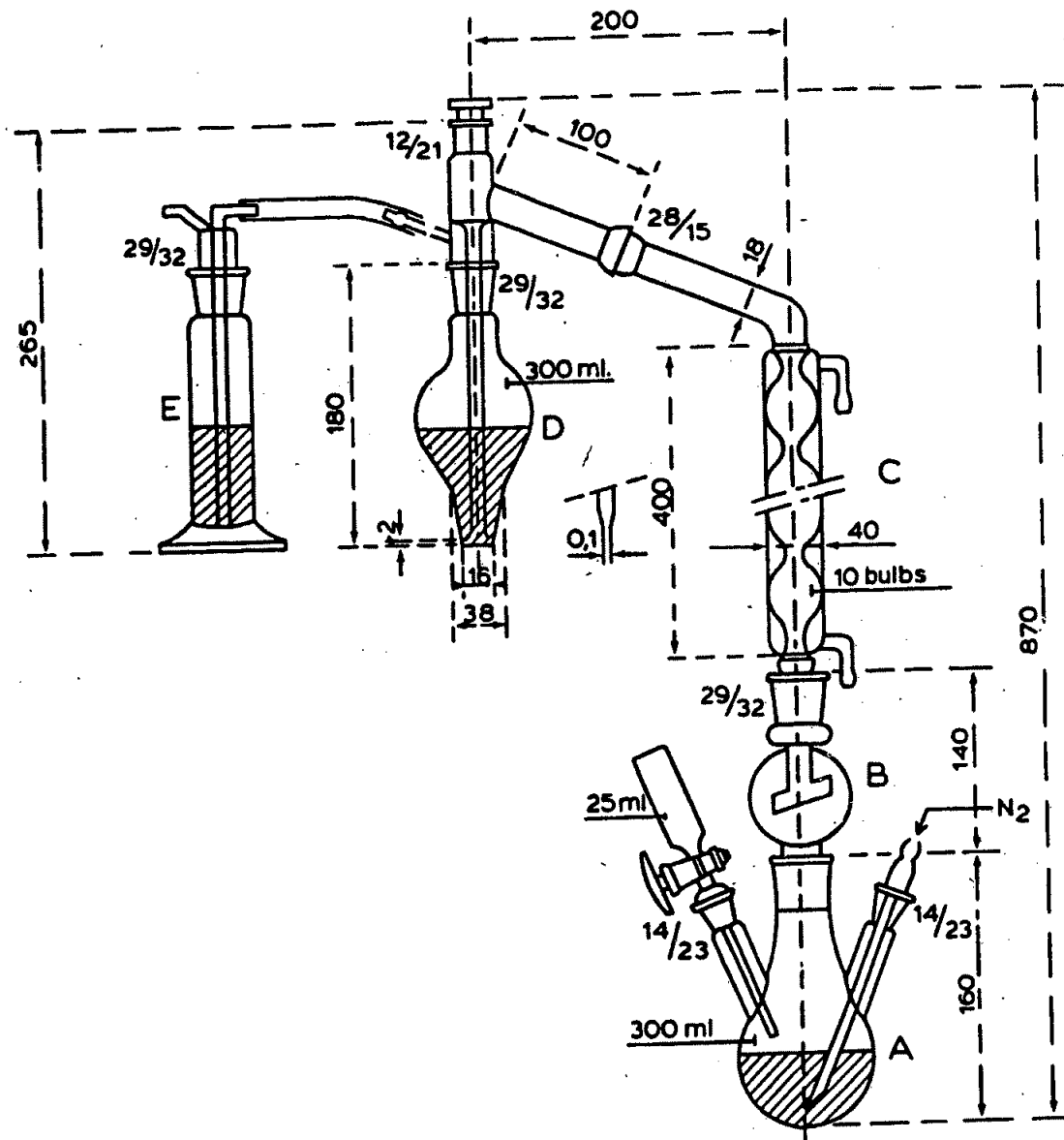
## 7. RÉPÉTABILITÉ (\*)

Pour une teneur en dioxyde de soufre de 0,2 % m/m, la différence entre les résultats de deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,006 %.

(\*) Selon la norme ISO 5725.

## Appareil à distillation de l'anhydride sulfureux selon Tanner

Toutes les dimensions sont données en millimètres



## XXVII IDENTIFICATION ET DOSAGE DES CHLORATES DE MÉTAUX ALCALINS

## OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode décrit l'identification et le dosage des chlorates dans les dentifrices et autres produits cosmétiques.

## A. IDENTIFICATION

## 1. PRINCIPE

Les chlorates sont séparés des autres halogénates par chromatographie sur couche mince et détectés par formation de l'iode obtenue par oxydation de l'iodure de potassium.

## 2. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

- 2.1. Solution de référence : solutions aqueuses de chlorate, bromate et iodate de potassium (0,2 % m/v) fraîchement préparées.
- 2.2. Solvant de développement : solution d'ammoniaque (28 % m/v)/acétone/butanol (60/130/30 v/v/v).
- 2.3. Solution aqueuse d'iodure de potassium (5 % m/v).
- 2.4. Solution d'amidon (1 à 5 % m/v).
- 2.5. Acide chlorhydrique M.
- 2.6. Plaques de chromatographie sur couche mince prêtes à l'emploi, revêtues de cellulose (épaisseur : 0,25 mm).

## 3. APPAREILLAGE

Matériel courant de laboratoire pour chromatographie sur couche mince.

## 4. MODE OPÉRATOIRE

- 4.1. Extraire environ 1 g de l'échantillon avec de l'eau, filtrer et diluer jusqu'à 25 ml environ.
- 4.2. Déposer sur la plaque (2.6) 2 µl de la solution (4.1) et 2 µl de chacune des trois solutions de référence (2.1).
- 4.3. Introduire la plaque dans une cuve et développer par chromatographie ascendante sur trois quarts environ de la longueur de la plaque à l'aide du solvant (2.2).
- 4.4. Retirer la plaque de la cuve et laisser évaporer le solvant (2 heures environ).
- 4.5. Pulvériser sur la plaque la solution d'iodure de potassium (2.3) et laisser sécher pendant environ 5 minutes.
- 4.6. Pulvériser sur la plaque la solution d'amidon (2.4) et laisser sécher pendant environ 5 minutes.
- 4.7. Pulvériser sur la plaque de l'acide chlorhydrique (2.5).

## 5. LECTURE

En présence de chlorate, il apparaît une tache bleue (éventuellement brune) après une demi-heure.

Les valeurs de R<sub>f</sub> sont les suivantes :

	R <sub>f</sub>
Iodate	0 — 0,2
Bromate	0,5 — 0,6
Chlorate	0,7 — 0,8

On notera que les bromates et les iodates produisent des réactions immédiates et on veillera à ne pas confondre les taches de bromate et de chlorate.

## B. DOSAGE

## 1. DÉFINITION

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

## 2. PRINCIPE

Le chlorate est réduit par du zinc en poudre en milieu acide. Le chlorure formé est titré potentiométriquement par le nitrate d'argent. Un dosage similaire avant la réduction permet de détecter la présence éventuelle d'halogénures.

## 3. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

## 3.1. Acide acétique 80 % m/m.

## 3.2. Zinc en poudre.

## 3.3. Solution titrée de nitrate d'argent 0,1 M.

## 4. APPAREILLAGE

## 4.1. Matériel courant de laboratoire.

## 4.2. Potentiographe équipé d'une électrode indicatrice d'argent.

## 5. MODE OPÉRATOIRE

## 5.1. Préparation de l'échantillon

Peser avec précision une quantité (m) de 2 g environ dans un tube à centrifuger. Ajouter environ 15 ml d'acide acétique (3.1) et mélanger soigneusement. Attendre 30 minutes et centrifuger pendant 15 minutes à 2 000 tours/mn. Transvaser la solution surnageante dans une fiole jaugée de 50 ml. Répéter deux fois la centrifugation en ajoutant 15 ml d'acide acétique (3.1) au résidu. Recueillir les solutions contenant le chlorate dans la même fiole jaugée. Compléter au trait de jauge avec de l'acide acétique (3.1).

## 5.2. Réduction du chlorate

Prélever 20 ml de la solution (5.1) et ajouter 0,6 g de zinc en poudre (3.2). Porter à ébullition dans un ballon surmonté d'un réfrigérant ascendant. Après 30 minutes d'ébullition, laisser refroidir et filtrer. Rincer le ballon avec de l'eau, filtrer et combiner le filtrat et les eaux de rinçage.

## 5.3. Dosage du chlorure

Titre la solution (5.2) avec du nitrate d'argent (3.3) au moyen du potentiographe (4.2). Titrer de la même manière 20 ml de solution (5.1) avec du nitrate d'argent (3.3).

Si le produit contient des dérivés de brome ou d'iode susceptibles de libérer des bromures ou des iodures après la réduction, la courbe de titrage présente plusieurs points d'inflexion. Dans ce cas, le volume de la solution titrée (3.3) correspondant au chlorure est représenté par la différence entre les volumes correspondant aux dernier et avant-dernier points d'inflexion.

## 6. CALCUL

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

$$\% \text{ chlorate m/m} = \frac{20,9 (V - V') M}{m}$$

où:

V = volume en ml de la solution de nitrate d'argent (3.3) utilisée pour le titrage de la solution (5.2),

V' = volume en ml de la solution de nitrate d'argent (3.3) utilisée pour le titrage de la solution (5.1),

M = molarité de la solution de nitrate d'argent (3.3),

m = masse en g de l'échantillon (5.1).

## 7. RÉPÉTIBILITÉ (1)

Pour une teneur en chlorate de 3 à 5 % m/m, la différence entre les résultats des deux dosages parallèles effectués sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,07 % m/m.

(1) Selon la norme ISO 5725.

## XXVIII IDENTIFICATION ET DOSAGE DE L'IODATE SODIQUE

## OBJET ET CHAMP D'APPLICATION

La méthode convient à l'identification et au dosage de l'iodate sodique dans les produits cosmétiques rincés après usage.

## A. IDENTIFICATION

## 1. PRINCIPE

L'iodate sodique est séparé des autres halogénates par chromatographie sur couche mince et identifié par l'oxydation de l'iodure en iode.

## 2. RÉACTIFS

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique.

- 2.1. Solutions de référence : solutions aqueuses de chlorate, de bromate et d'iodate de potassium (0,01 % m/v) fraîchement préparées.
- 2.2. Solvant de développement : solution d'ammoniaque (28 % m/v)/acétone/butanol (60/130/30 v/v/v).
- 2.3. Solution aqueuse d'iodure de potassium (5 % m/v).
- 2.4. Solution d'amidon (1 à 5 % m/v).
- 2.5. Acide chlorhydrique M.

## 3. APPAREILLAGE

- 3.1. Plaques de chromatographie sur couche mince prêtes à l'emploi revêtues de cellulose (0,25 mm).
- 3.2. Matériel courant de chromatographie sur couche mince.

## 4. MODE OPÉRATOIRE

- 4.1. Extraire environ 1 g de l'échantillon avec de l'eau, filtrer et diluer à environ 10 ml.
- 4.2. Déposer 2 µl de cette solution sur la ligne de base de la plaque (3.1) ainsi que 2 µl de chacune des trois solutions de référence (2.1).
- 4.3. Placer la plaque dans une cuve de développement et développer par chromatographie ascendante sur les trois quarts environ de la longueur de la plaque à l'aide du solvant (2.2).
- 4.4. Retirer la plaque de la cuve et laisser s'évaporer le solvant à la température ambiante. (Note : L'opération peut demander 2 heures.)
- 4.5. Pulvériser la plaque avec de l'iodure de potassium (2.3) et laisser sécher pendant environ 5 minutes.
- 4.6. Pulvériser ensuite avec la solution d'amidon (2.4) et laisser sécher pendant environ 5 minutes.
- 4.7. Pulvériser finalement avec de l'acide chlorhydrique (2.5).

## 5. ÉVALUATION

En présence d'iodate, une tache bleue (éventuellement brune ou le devenant) apparaît immédiatement, la valeur  $R_f$  étant approximativement de 0 à 0,2.

On notera que les bromates réagissent immédiatement à des valeurs  $R_f$  de 0,5 à 0,6 et que les chlorates réagissent, après 30 minutes environ, à des valeurs de  $R_f$  correspondant à 0,7 à 0,8.

## B. DOSAGE

## 1. DÉFINITION

La teneur de l'échantillon en iodate sodique déterminée par cette méthode est exprimée en pourcentage de la masse d'iodate sodique.

## 2. PRINCIPE

L'iodate sodique est dissous dans l'eau et dosé par chromatographie liquide à haute pression, en utilisant (en série) une colonne phase inverse C 18 et une colonne échangeuse d'anions.

**3. RÉACTIFS**

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique. Ils doivent notamment convenir pour la chromatographie liquide à haute pression.

- 3.1. Acide chlorhydrique, 4 M.
- 3.2. Solution aqueuse de sulfite sodique, 5 % m/v.
- 3.3. Solution-mère d'iodate sodique : préparer une solution contenant 50 mg d'iodate de sodium par 100 ml d'eau.
- 3.4. Dihydrogénéorthophosphate de potassium.
- 3.5. Hydrogénéorthophosphate disodique  $2\text{H}_2\text{O}$ .
- 3.6. Phase mobile de chromatographie en phase liquide à haute pression. Dissoudre 3,88 g de dihydrogénéorthophosphate de potassium (3.4) et 1,19 g d'hydrogénéorthophosphate disodique  $2\text{H}_2\text{O}$  (3.5) dans 1 l d'eau.  
Le pH de la solution obtenue est 6,2.
- 3.7. Papier indicateur universel, pH 1-11.

**4. APPAREILLAGE**

Matériel courant de laboratoire.

- 4.1. Papier filtre de 110 mm de diamètre, Schleicher et Schull n° 575 ou équivalent.
- 4.2. Chromatographe liquide à haute pression muni d'un détecteur à longueur d'onde variable.
- 4.3. Colonnes : d'une longueur de 120 mm et d'un diamètre interne de 4,6 mm, au nombre de 2, en série, première colonne conditionnée en nucléosil (R) 5 C18 ou équivalent, deuxième colonne conditionnée en Vydac, TM — 301-SB ou équivalent.

**5. MODE OPÉRAIRE****5.1. Préparation des échantillons****5.1.1. Échantillons fluides (shampooings)**

Peser avec précision une prise d'essai d'environ 1,0 g dans un tube de verre gradué et bouché à l'émeri ou dans une fiole jaugée de 10 ml. Compléter au trait avec de l'eau et mélanger. Si besoin, filtrer la solution. Déterminer la quantité d'iodate dans la solution au moyen de la chromatographie liquide à haute pression comme décrit au point 5.2.

**5.1.2. Échantillons solides (savon)**

Diviser finement une partie de l'échantillon et peser avec précision une prise d'essai d'environ 1,0 g, et l'introduire dans un tube en verre gradué et bouché à l'émeri de 100 ml.

Remplir d'eau jusqu'à 50 ml et agiter énergiquement pendant 1 minute ; centrifuger ou filtrer à travers un filtre en papier ou laisser reposer le mélange pendant une nuit au moins, agiter énergiquement la solution gélatineuse et filtrer celle-ci à travers un filtre en papier (4.1).

Doser l'iodate dans le filtrat par chromatographie liquide à haute pression comme décrit au point 5.2.

**5.2. Chromatographie**

Débit : 1 ml/mn.

Longueur d'onde de détecteur : 210 nm.

Volume injecté : 10  $\mu\text{l}$ .

Mesure : surface du pic.

**5.3. Étalonnage**

Pipeter respectivement 1,0, 2,0, 5,0, 10,0 et 20,0 ml de la solution-mère d'iodate sodique (3.3) dans des fioles jaugées de 50 ml. Porter au trait et agiter. Les solutions ainsi obtenues contiennent respectivement 0,01, 0,02, 0,05, 0,10 et 0,20 mg d'iodate sodique par ml. Injecter 10  $\mu\text{l}$  de chaque solution de référence dans le chromatographe liquide (4.3). Déterminer la surface du pic pour l'iodate et établir une courbe d'étalonnage : surface de pic — concentration d'iodate.

## 6. CALCUL

Calculer en iodate sodique, en pourcentage de la masse (% m/m) en utilisant la formule:

$$\%(\text{m/m}) \text{ d'iodate sodique} = VC / 10 m$$

où:

m = la masse, exprimée en g, de la prise d'essai (5.1),  
V = le volume total de la solution d'échantillon, exprimé en ml, obtenu comme décrit au point 5.1,  
C = la concentration, exprimée en mg/ml, d'iodate sodique obtenue à partir de la courbe d'étalonnage.

## 7. REPERTABILITE (selon la norme ISO 5725)

Pour une teneur en iodate sodique de 0,1 % (m/m), la différence entre les résultats de deux dosages effectués en parallèle sur le même échantillon ne doit pas dépasser 0,002 %.

## 8. CONFIRMATION

## 8.1. Principe

En solution acide, l'iodate ( $\text{IO}_3^-$ ) est réduit en iodure ( $\text{I}^-$ ) par le sulfite et la solution obtenue est examinée par chromatographie en phase liquide à haute pression. Si un pic ayant un temps de rétention correspondant au temps de rétention de l'iodate disparaît après traitement au sulfite, le pic original peut être considéré comme de l'iodate.

## 8.2. Mode opératoire

Pipeter dans une fiole conique une prise d'essai de 5 ml de la solution d'échantillon obtenue au point 5.1. Ajuster le pH de la solution à une valeur inférieure ou égale à 3 à l'aide d'acide chlorhydrique (3.1) et du papier universel indicateur de pH (3.7). Ajouter trois gouttes de la solution de sulfite sodique (3.2) et agiter. Injecter 10  $\mu\text{l}$  de la solution dans le chromatographe liquide (4.2). Comparer le chromatogramme avec celui obtenu de la manière décrite au point 5 pour le même échantillon.

Vu pour être annexé à Notre arrêté du 30 juin 1986

BAUDOUIN

Par le Roi :

Le Ministre des Affaires sociales,  
J.-L. DEHAENE

Le Secrétaire d'Etat à la Santé publique,  
Mme W. DEMESTER-DE MEYER