

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 66 (1975)
Heft: 4

Artikel: Extraction et identification des colorants inclus dans les rouges à lèvres
Autor: Tonet, Nelly
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982684>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 24.05.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Extraction et identification des colorants inclus dans les rouges à lèvres

Nelly Tonet

Ministère de la santé publique et de la famille, Bruxelles

Le présent rapport est le fruit d'une étude effectuée dans le cadre d'une Bourse médicale du Conseil de l'Europe.

Que soient remerciées cette Organisation ainsi que les personnes qui ont permis la réalisation de ce travail au Centre de cosmétopharmacie de l'Université de Nantes, Centre placé sous la direction de Madame le Professeur de Roeck-Holtzhauer et à l'Institut d'hygiène et d'épidémiologie, Institut dirigé par Monsieur le Professeur Docteur A. Lafontaine.

Introduction

Goulden (1) dans un article repris par *Bibra* (2) a établi que l'ingestion journalière de colorants par une utilisatrice de rouge à lèvres pouvait atteindre jusqu'à 9,5 mg. Peut-être ce chiffre constitue-t-il un maximum, mais si on considère que par suite de contraintes sociales ou professionnelles, l'utilisation de rouge à lèvres est largement étendue et ne repose donc pas toujours sur un choix libre, on perçoit, du point de vue santé publique, quelle est l'importance du problème des colorants dans ces préparations. Et sans doute pourrait-on alors se demander s'il est bien indiqué d'introduire dans les rouges à lèvres des colorants formellement proscrits dans toute denrée alimentaire.

Mais un regard sur les catalogues des préparations industrielles pour cosmétiques fait apparaître que nous sommes à présent bien éloignés de l'inoffensif Cérat labial de la Pharmacopée belge IV: notre cosmétologie actuelle fait en effet un très large usage de nombreux dérivés colorés de toutes sortes, parmi lesquels des dérivés du xanthène (fluorescéine, éosine, etc.) Des colorants de cette catégorie sont certes repris dans la liste des colorants dont l'utilisation pour les cosmétiques est prévue par la législation des pays du Marché commun (3) et ceci leur confère une présomption d'innocuité.

Mais les examens chromatographiques nécessités par le présent rapport ont montré que, dans la pratique, les dérivés xanthéniques répondent si peu aux critères de pureté généralement établis pour cette catégorie de substances, qu'on peut se demander si ces critères ne relèvent pas de l'utopie: les échantillons examinés provenaient en effet tous d'industries généralement bien réputées.

Boelcke (4) attire tout spécialement l'attention sur ce problème. Et à ce sujet, *Wilmsmann* (5) déclare que ce sont justement les impuretés accessoires qui rendent dangereuse pour la santé cette catégorie de colorants.

L'auteur propose le remplacement dans les rouges à lèvres des «bromo-acides», dérivés halogénés du xanthène, par les colorants azoïques sous forme d'acides sulfoniques libres.

L'auteur affirme d'autre part que les nuances et les qualités coloristiques des rouges à lèvres ainsi obtenus valent celles des préparations contenant des bromo-acides.

Un certain illogisme parmi les réglementations concernant les colorants paraît encore pouvoir être illustré par les faits suivants: l'érythrosine, dérivé tétraiodé de la fluorescéine, est couramment utilisée pour la coloration des cerises en conserves. Or, tant par suite de sa fabrication que de sa conservation dans des milieux acides, l'érythrosine pourrait être souillée de fluorescéine. C'est à ce titre qu'on a fixé un taux très strict d'impuretés colorées dans l'érythrosine destinée aux produits alimentaires.

Pour les rouges à lèvres, par contre, la fluorescéine figure parmi les colorants dont l'utilisation est autorisée jusqu'à une concentration de 6‰, dans les pays du Marché commun. A la limite, des lèvres teintées par la fluorescéine peuvent donc, *par l'absorption d'une bonne partie de ce maquillage*, apporter lors de l'ingestion de cerises en conserves un taux de fluorescéine nettement supérieur à celui toléré par la plupart des dispositions légales en la matière.

Quoi qu'il en soit, il faut bien que l'analyste s'adapte aux produits tels qu'ils lui sont présentés et c'est ainsi qu'il semble indispensable d'exposer ici la composition habituelle des rouges à lèvres, ceci tant au point de vue de la masse que des substances colorantes.

Cette composition apparaît comme clairement définie dans une conférence de *Bourgeois* (6).

Mais avant d'aborder cet exposé, il peut être utile de rappeler la signification de certains termes se rapportant aux colorants.

Balatre (7) entend par «colorant» une matière colorante utilisée en suspension ou en solution dans un véhicule liquide.

Un «pigment» est une matière colorante toujours insoluble dans le véhicule liquide. Il est utile d'ajouter qu'à côté de pigments résultant de la précipitation de colorants à l'état de sels insolubles, il en existe qui ne présentent pas de caractère ionique.

En outre, une «laque» est un pigment réalisé par précipitation du colorant sur un support à l'aide d'un réactif précipitant.

Dans les rouges à lèvres, *Bourgeois* (6) indique que ce support est souvent l'oxyde de titane ou l'hydrate d'aluminium.

Un terme reste à préciser, c'est celui d'éosines. L'éosine est en fait le dérivé tétrabromé de la fluorescéine. Mais, par extension, on applique généralement l'appellation d'«éosines» ou de «bromo-acides» aux divers dérivés halogénés de la fluorescéine.

Pour ce qui est de leur composition globale, voici les différentes substances dont *Bourgeois* (6) signale l'utilisation dans les rouges à lèvres:

- Huiles hydrogénées
- Huiles acétylées
- Cire d'abeille
- Blanc de baleine
- Palmitate de cétyle
- Cire de Carnauba
- Cire de Candellila
- Paraffines F. de 38° à 50°C
- Vaseline
- Ozokérite ou paraffine fossile (sous forme de cérésine)
- Lanoline et ses dérivés
- Beurre de cacao
- Huile de ricin
- Stéarate de butyle
- Adipate de cétyle et de glycol
- Ethers glycoliques
- Stéarate de triéthanolamine
- Myristate de cétyle
- Acides oléiques et linoléiques
- Acéto-glycérides
- Myristate et palmitate d'isopropyle, propylène glycol, sébaçate, acétate et stéarate de l'alcool tétrahydrofurfurylique.

A cette imposante liste, s'ajoutent parfums, colorants, laques et pigments. Bien sûr, toutes ces substances ne coexistent heureusement pas dans un rouge à lèvres. C'est ce qui permet à *Bourgeois* (6) de classer les rouges à lèvres en trois catégories. Il ne paraît pas sans intérêt de rapporter ici en résumé cette classification:

1. Rouges à lèvres dits «gras».

Ils se composent de corps gras et de colorants qui sont des laques, des pigments ou des stéarates de colorants. On y ajoute parfois de l'oxyde de titane. Le taux des colorants peut y atteindre jusqu'à 30%.

Les formulations de ce type sont le plus souvent utilisées pour les rouges dits hypo-allergiques parce qu'exemptes d'éosines, colorants responsables de la plupart des intolérances aux rouges à lèvres.

2. Rouges à lèvres «émulsionnés».

Les colorants s'y trouvent sous forme d'éosines alcalines en solution aqueuse, solution émulsionnée dans un mélange de corps gras en présence d'émulsionnants.

En outre, ces rouges à lèvres contiennent généralement de la glycérine. Ce sont les rouges qualifiés d'«indélébiles».

2. Rouges à lèvres «colloïdaux».

Eosines acides (insolubles dans l'eau) dissoutes ou dispersées dans un mélange

de corps gras à l'aide d'un solvant intermédiaire. La masse est chargée de pigments ou de 5 à 10% de laques.

Les diverses énumérations qui précèdent permettent de se rendre compte des difficultés auxquelles doit s'attendre l'analyste, même s'il se place du seul point de vue des colorants.

Ce sont ces difficultés qui sont vraisemblablement à la base de la multiplication des techniques signalées pour l'extraction et l'identification des substances colorantes. Les principes de quelques-unes parmi ces méthodes seront ici résumés.

Quelques techniques d'analyse décrites dans la bibliographie

— *Unterhalt* (8)

Après lavage de l'échantillon de rouge à lèvres par l'éther de pétrole, reprise du résidu par l'éthanol. La solution éthanolique est ensuite chromatographiée sur couche mince et l'identification des colorants s'effectue tant par chromatographie que par spectrophotométrie (UV — visible — infra-rouge).

— *Lehmann* (9)

L'échantillon de rouge à lèvres est extrait par la diméthylformamide à chaud. On obtient ainsi une solution (a) et un résidu (b). La solution (a) est lavée à l'éther de pétrole pour éliminer graisses, huiles, paraffines; elle est ensuite additionnée d'eau et de poudre de polyamide jusqu'à fixation des colorants. La polyamide colorée est alors rassemblée en colonne. Après lavage de la colonne à l'eau et au méthanol, les colorants sont élués par du méthanol ammoniacal; l'éluat est évaporé sous vide et repris pour chromatographie sur couche mince. Quant au résidu (b) il est lavé avec de la diméthyl-formamide, puis avec de l'eau. Les colorants sont désorbés par le méthanol ammoniacal. Après neutralisation de la solution colorée, les colorants sont absorbés sur polyamide avant d'être élués pour identification.

— *Rachel S. Silk* (10)

Chromatographie *directe* et en trait du rouge à lèvres sur plaques de silicagel d'une épaisseur supérieure à celle des plaques courantes. Ces plaques sont tamponnées ou non, suivant que la présence de litholrubin BK est ou non suspectée. Les principales impuretés se séparent des colorants par une première chromatographie avec comme solvant le dichlorométhane. La plaque est ensuite développée avec des solvants de polarité croissante en détachant chaque fois à la spatule les colorants ayant migré.

Les colorants ainsi purifiés sont ensuite identifiés par chromatographie sur couche mince et par spectrophotométrie.

— *Schweisheimer* (11) reprend le schéma de *Clements* (12).

L'échantillon, débarrassé de l'éthylène-glycol par distillation en présence d'heptane et d'eau, est repris par un mélange trichloréthylène/acétone.

L'insoluble est constitué par les laques éventuellement présentes.

Quant à la solution, le résidu obtenu après évaporation du solvant est repris à chaud par l'heptane puis extrait par l'acide acétique à 95⁰/₀.

Seule la phase acétique inférieure est utilisée pour la recherche des colorants.

Après dilution avec de l'eau, la phase acétique est extraite à l'éther et la solution étherée est extraite par KOH à 3⁰/₀.

La fraction alcaline contient les colorants de la fluorescéine.

Quant à la fraction étherée, elle renferme les colorants liposolubles.

— *D. H. Liem* (13)

L'auteur traite le rouge à lèvres par la diméthylformamide (DMF) à chaud. Après filtration, obtention d'un résidu a) et d'un filtrat b).

Traitement du résidu a): celui-ci est lavé avec DMF puis eau.

Par élution au méthanol ammoniacal et filtration, on obtient un résidu renfermant les pigments inorganiques. Les colorants du filtrat sont identifiés par chromatographie sur couche mince.

Traitement du filtrat b):

Après un dégraissage par l'éther de pétrole, puis addition d'eau, les colorants sont fixés sur de la polyamide.

La poudre de polyamide est ensuite mise en colonne et après lavage à l'eau et au méthanol, les colorants sont élués par le méthanol ammoniacal.

Les colorants non sulfonés retenus par la colonne sont ensuite élués par le dichlorométhane.

Tous les colorants sont identifiés par chromatographie sur couche mince.

Il est à remarquer que la classification résultant de l'extraction repose dans certains cas, non sur l'anion mais sur le cation des colorants.

— *J. Deshusses et P. Desbaumes* (14)

L'échantillon de rouge à lèvres est trituré dans l'éther de pétrole. Solvant et insoluble sont séparés par centrifugation. Outre les graisses, le solvant n'entraîne généralement que de faibles quantités de colorants identiques à ceux du résidu; leur identification peut donc, selon les auteurs, être le plus souvent négligée.

Le culot de centrifugation est repris par l'éthanol. L'insoluble dans l'éthanol est constitué par les pigments; les colorants en solution sont identifiés par chromatographie sur couche mince, de préférence à la chromatographie sur papier, technique préconisée par les auteurs dans une publication antérieure (15). Dans cet exposé, l'extraction également présentait une variante, puisque l'échantillon était traité à chaud par l'acide acétique à 50⁰/₀. Par refroidissement, les matières grasses se solidifiaient et étaient éliminées par filtration. Le filtrat était lavé à l'éther de pétrole et évaporé à sec et le résidu était repris par l'alcool pour l'identification des colorants.

— *Méthode officielle française pour l'extraction des colorants synthétiques hydrosolubles des denrées alimentaires* (16)

Après dégraissage à l'éther de pétrole, l'échantillon de la denrée est extrait en milieu acétique par du butanol normal contenant une résine liquide échangeuse d'anions, l'amberlite LA2.

Les colorants fixés sur la résine ainsi que les acétates des colorants basiques passent dans la phase butanolique. Celle-ci, après addition d'éther de pétrole, est ensuite traitée par l'acide acétique dilué. Dans ces conditions, la phase acétique renferme les colorants basiques. Quant à la phase organique, elle est extraite successivement par du carbonate d'ammonium en solution diluée puis par de l'ammoniaque dilué. La solution carbonatée contient les colorants acides sulfoniques tandis que l'ammoniaque extrait les colorants acides carboxylés.

— *Méthodes officielles CEE pour la recherche des colorants des denrées* (17, 18)

1. *Colorants hydrosolubles* (17)

D'un milieu acide, les colorants sont extraits par la quinoléine. Ceci, en présence ou non d'amberlite LA2 suivant que les colorants sont ou non fixés sur des protéines.

Après addition d'éther éthylique à la phase quinoléinique, les colorants sont réextraits par des milieux aqueux de pH divers.

2. *Colorants liposolubles* (18)

L'échantillon de denrée, mis en solution dans l'éther de pétrole est extrait par la diméthylformamide (DMF).

La couche inférieure (DMF) est traitée comme suit:

- addition d'eau
- extraction des colorants au chloroforme
- évaporation du solvant
- reprise du résidu par l'éther de pétrole
- fixation des colorants sur colonne d'alumine
- éluutions successives par:
 - Ethanol = colorants azoïques synthétiques et portion de beta-apocarotinal
 - Ethanol ammoniacal = bixine
 - Ethanol chlorhydrique = curcumine.

La couche supérieure éther de pétrole est traitée comme suit:

- évaporation à sec
- saponification alcoolique
- extraction par éther éthylique
- fixation sur colonne alumine
- élution successivement par:
 - Ether pétrole/acétone : carotènes
 - Ethanol : portion de beta-apocarotinal.

Les colorants extraits sont identifiés par chromatographie sur couche mince de Kieselgel G.

— *U. Rüdts* (19)

Cet auteur emprunte à *Desbusses* (15) son procédé d'extraction. Il identifie ensuite les colorants par chromatographie sur couche mince et par spectres d'absorption et de fluorescence.

Pour les dérivés de la fluorescéine et de la rhodamine par contre, *Rüdts* applique la méthode suivante:

l'échantillon de rouge à lèvres est traité à chaud par l'heptane. Le résidu est extrait à l'ammoniaque. La solution ammoniacale est lavée à l'heptane et évaporée au bain-marie. Le résidu d'évaporation repris par l'alcool sert à la chromatographie sur couche mince et aux études de spectres.

— *Fairchild* (20)

L'échantillon de rouge à lèvres est débarrassé des huiles et des cires au moyen de sulfure de carbone à chaud.

Par reprise du résidu dans l'acide chlorydrique à 10% à chaud et filtration, on obtient un filtrat et un résidu.

Le filtrat renferme les colorants solubles dans les acides et ces colorants sont identifiés par chromatographie sur couche mince.

Le résidu est repris par l'ammoniaque à 20%. L'insoluble est constitué par les pigments inorganiques; quant à la solution, elle contient les colorants solubles dans les alcalis, colorants identifiés par chromatographie sur couche mince.

— *Brustier* (21)

Il s'agit ici de colorants inclus dans des préparations pharmaceutiques.

L'extraction est basée sur la formation de complexes colorants — ammoniums quaternaires, complexes insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Les colorants de la phase organique sont identifiés par chromatographie sur couche mince parallèlement avec des colorants témoins.

— *Saltzman* (22)

Cette étude est consacrée aux colorants des matières plastiques. L'auteur présente la spectrophotométrie dans l'UV et le visible comme étant un moyen sûr d'identification des colorants.

— *Thano P. Cotsis* (23)

La technique d'extraction décrite consiste à traiter le rouge à lèvres, à chaud, par un mélange de benzène et d'acétone.

La solution ou suspension obtenue est déposée en trait sur couche mince de gel de silice et chromatographiée.

Des solvants successifs sont utilisés pour le développement, leur choix étant déterminé par le comportement des colorants.

Les colorants sont ensuite élués et dosés spectrophotométriquement (UV-visible).

Cet article renferme de très intéressantes considérations sur les rapports entre structure moléculaire et comportement chromatographique.

— *J. R. A. Anderson* (24)

Il s'agit ici d'un exposé consacré aux colorants des denrées alimentaires. Dans certains cas, il est possible d'extraire directement la denrée par du n-butanol saturé d'acide chlorhydrique. Cet extrait est, après concentration, soumis à l'électrophorèse. L'élégance de la technique est attirante.

— *A. Perdib* (25)

Deux méthodes sont préconisées par l'auteur: une méthode voisine de la méthode de *R. Silk* (10) précédemment décrite ici et une deuxième méthode

dont un des avantages est de concentrer les colorants secondaires. Dans cette méthode, l'auteur met l'échantillon de rouge à lèvres en suspension dans la diméthylformamide phosphorique à chaud. Après dégraissage à l'heptane, la suspension est extraite successivement par le benzène et l'éther éthylique.

Suivent une filtration et une évaporation des phases organiques réunies; le résidu d'évaporation est ensuite, soit repris par le chloroforme et l'ammoniaque, soit traité sur colonne de Kiesegel. Outre la séparation des pigments inorganiques insolubles, ce stade de l'extraction permet d'obtenir deux groupes de colorants chimiquement définis: les colorants non ioniques d'une part et certains colorants plus hydrosolubles d'autre part (les dérivés du xanthène notamment).

Quant à la suspension initiale dans la diméthylformamide, après avoir été débarrassée de ses colorants sulfoniques par addition de polyamide en poudre, elle est alcalinisée et les colorants basiques en sont extraits au moyen d'éther éthylique.

Les colorants basiques non solubles dans l'éther sont à leur tour extraits de la diméthylformamide par le chloroforme après avoir été transformés en sels complexes avec un ammonium quaternaire.

L'identification chromatographique des quelque 150 colorants étudiés par l'auteur est réalisée sur couche mince au moyen d'une quarantaine de systèmes chromatographiques.

Il s'en faut de beaucoup que les travaux précédemment résumés ne constituent une bibliographie exhaustive: leur choix a eu essentiellement pour but de présenter un aspect de chacune des différentes manières d'envisager l'analyse des colorants. Ils établissent de la sorte la base des travaux pratiques qui suivent.

Partie pratique

Extraction

Les techniques d'examen direct des rouges à lèvres par chromatographie sur couche mince, en tant qu'elles amènent l'analyste à varier les solvants, au hasard des séparations rencontrées, offrent des difficultés évidentes dont la moindre n'est pas l'intervention du facteur «chance» dans le choix des solvants, avec les pertes de temps attachées aux essais chromatographiques infructueux!

Les séparations par fixation sur colonnes chromatographiques ou sur substrats solides inclus dans une solution, sont, quant à elles, rarement quantitatives et de réalisation assez longue.

La pratique amène à y voir en outre, un inconvénient majeur. Le comportement chromatographique d'une substance sur colonne peut, en effet, parfois de façon imprévisible, être complètement perturbé par la présence d'impuretés accompagnant cette substance. C'est ainsi qu'il arrive de ne pas pouvoir reproduire certaines fixations de colorants pourtant parfaitement décrites dans la littérature.

A titre d'exemple, on peut citer la fixation et l'élution du colorant du curcuma sur alumine: que de temps avant de se rendre compte que le comportement de la curcumine différait suivant qu'elle se trouvait ou non en présence des substances résineuses du curcuma!

Et il ne faut surtout pas perdre de vue que des modifications chromatographiques dues aux impuretés accompagnant une substance risquent de diriger l'analyste vers des conclusions erronées.

C'est ainsi que, pour le choix d'une technique d'extraction, celle qui repose sur l'emploi de solvants non miscibles a été retenue.

Et là aussi, certains procédés paraissent moins bénéfiques que d'autres. Ce sont ceux où l'on utilise un petit nombre de solvants, à telle enseigne que les colorants d'un échantillon sont extraits tous ensemble.

On peut faire, à cet égard, le raisonnement suivant.

Sauf cas extrêmes, identifier un colorant dans un groupe de 2, constitue un problème présentant toutes les chances d'être facilement résolu. Ce qui est plus compliqué c'est d'identifier la substance colorée parmi la multitude des colorants actuellement sur le marché. Il paraît donc logique, avant de procéder à l'identification, de profiter du stade-extraction pour réaliser une séparation des colorants en groupes de caractères chimiques définis.

A cet égard, l'extraction de type dichotomique de *Perdih* (25) a retenu notre attention. Il a donc été largement puisé dans le travail de cet auteur pour mettre au point le schéma ici proposé.

Toutefois, pour ce qui est du début de cette extraction, la pratique nous a conduit à quelques modifications de détail.

En outre, pour les raisons décrites précédemment, le schéma de *Perdih* a été abandonné à partir du moment où des substrats solides sont employés. Après élimination de divers groupes de colorants, on se trouve à ce stade de l'extraction, en présence d'une solution de diméthylformamide ne contenant plus que des colorants hydrosolubles (à l'exception de quelques pigments sulfoniques).

Or, dans les pays du Marché commun, il existe, pour les denrées alimentaires, une méthode officielle d'extraction, par la quinoléine, des colorants hydrosolubles (17). Malencontreusement, la présence de diméthylformamide perturbe dans le cas présent l'extraction quinoléinique. Et c'est pourquoi, toujours dans l'optique de l'utilisation de solvants non miscibles, à ce stade l'extraction a été orientée vers une méthode officielle française adaptée à l'extraction des colorants hydrosolubles des denrées (16).

Les modifications apportées à cette dernière méthode résultent de la présence de diméthylformamide et tiennent compte des seuls groupes de colorants présents à ce stade.

Notre méthode d'extraction est l'aboutissement d'un très grand nombre d'essais pratiqués tant sur colorants à l'état pur que sur échantillons de rouges à lèvres. Les colorants extraits se sont trouvés dans un état de pureté largement suffisant pour les essais d'identification chromatographique.

Pratiquées soigneusement, les extractions ainsi réalisées sont quantitatives et la séparation des colorants en groupes distincts est strictement respectée, à l'except-

tion de quelques dérivés du xanthène. Il en sera question dans la suite du présent travail.

Si cette méthode peut paraître longue, il est à remarquer qu'elle englobe tous les types de colorants pour cosmétiques alors que le plus souvent, seule une partie des opérations est requise puisque tous les types de matières colorantes ne coexistent évidemment pas dans un même échantillon.

Principes des extractions préconisées

Les extractions sont présentées dans les schémas 1 et 2 et peuvent être résumées comme suit:

Schéma 1

- Séparation des pigments inorganiques et autres substances du groupe 1 d'avec les pigments ou colorants organiques par mise en solution de ceux-ci dans la diméthylformamide phosphorique à chaud et filtration.
- Double dégraissage de la solution de DMF: d'abord par l'éther de pétrole puis par l'heptane.

Schéma 2

- Une extraction benzénique fait ensuite passer dans le benzène les substances des groupes 5 et 6 à l'exclusion des autres groupes.

Le groupe 5 comprend:

- a) les pigments non ioniques;
- b) les colorants liposolubles.

Le groupe 6 quant à lui renferme:

- a) les colorants xanthéniques non aminés;
- b) les pigments à radicaux carboxyliques sans radicaux sulfoniques;
- c) les pigments à radicaux phénoliques acides forts.

- Ces 2 groupes sont séparés par reprise du résidu d'évaporation de la solution benzénique par de l'ammoniaque concentré et du chloroforme.

L'ammoniaque extrait les colorants du groupe 6 et le chloroforme les substances du groupe 5.

Il arrive qu'il subsiste de faibles quantités de dérivés du xanthène dans la solution chloroformique. Le passage du benzène au chloroforme a été repris de la technique décrite par *Perdih* (25) et il paraît dangereux d'y apporter modification trop prématurément. Une étude est cependant en cours afin d'établir la possibilité d'une extraction directe de la solution benzénique par l'ammoniaque. Il est cependant à craindre que certains colorants liposolubles ne se répartissent alors dans les deux phases. Peut-être y aurait-il dans ce cas intérêt à utiliser des solutions d'ammoniaque plus diluées.

- Les substances colorées de la solution initiale de DMF, non extraites par le benzène, sont constituées par les colorants basiques (groupe 2), les colorants anioniques hydrosolubles (groupe 3) et les pigments anioniques (groupe 4).

Schéma 1: Mise en solution et dégraissage

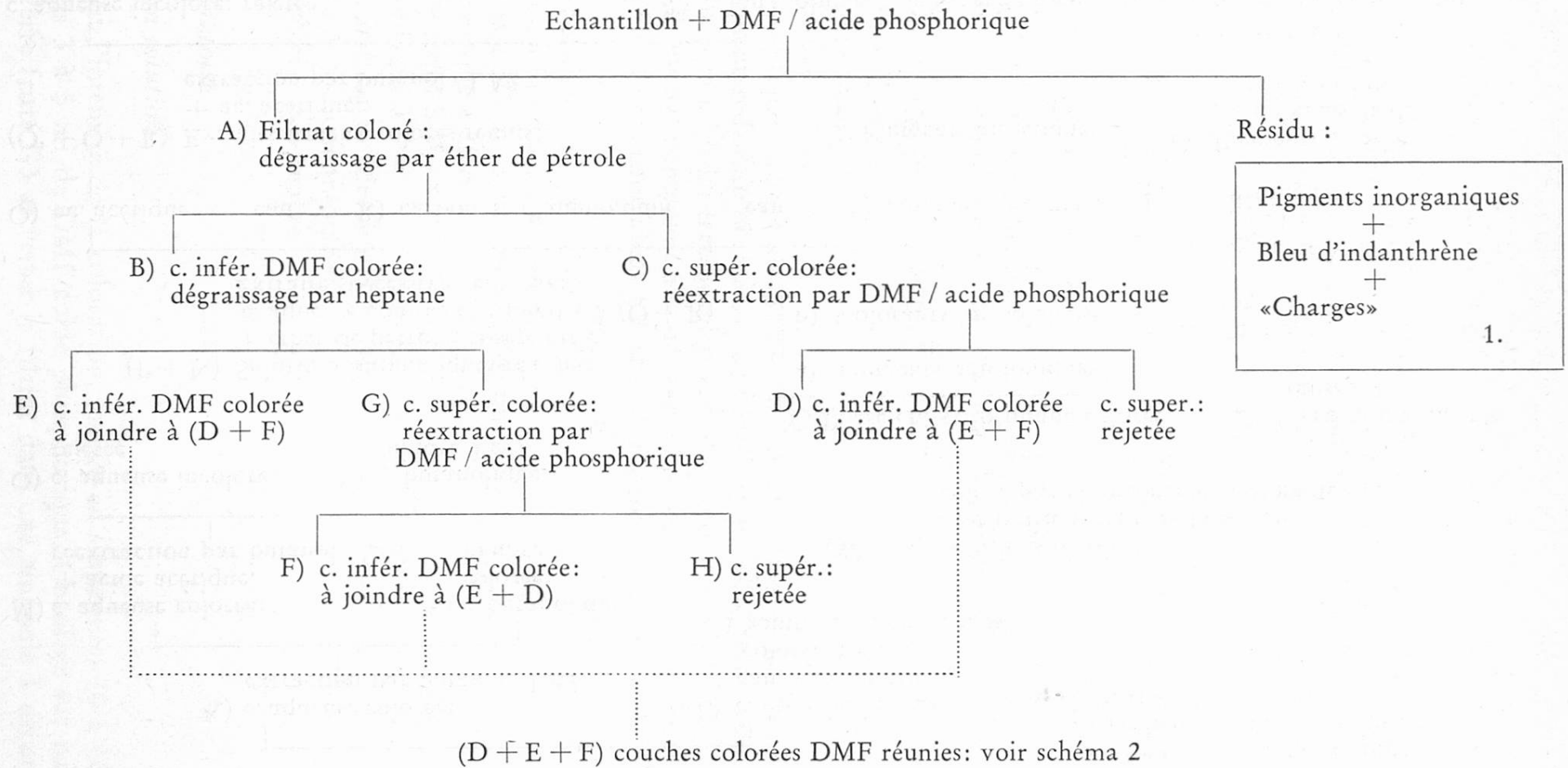
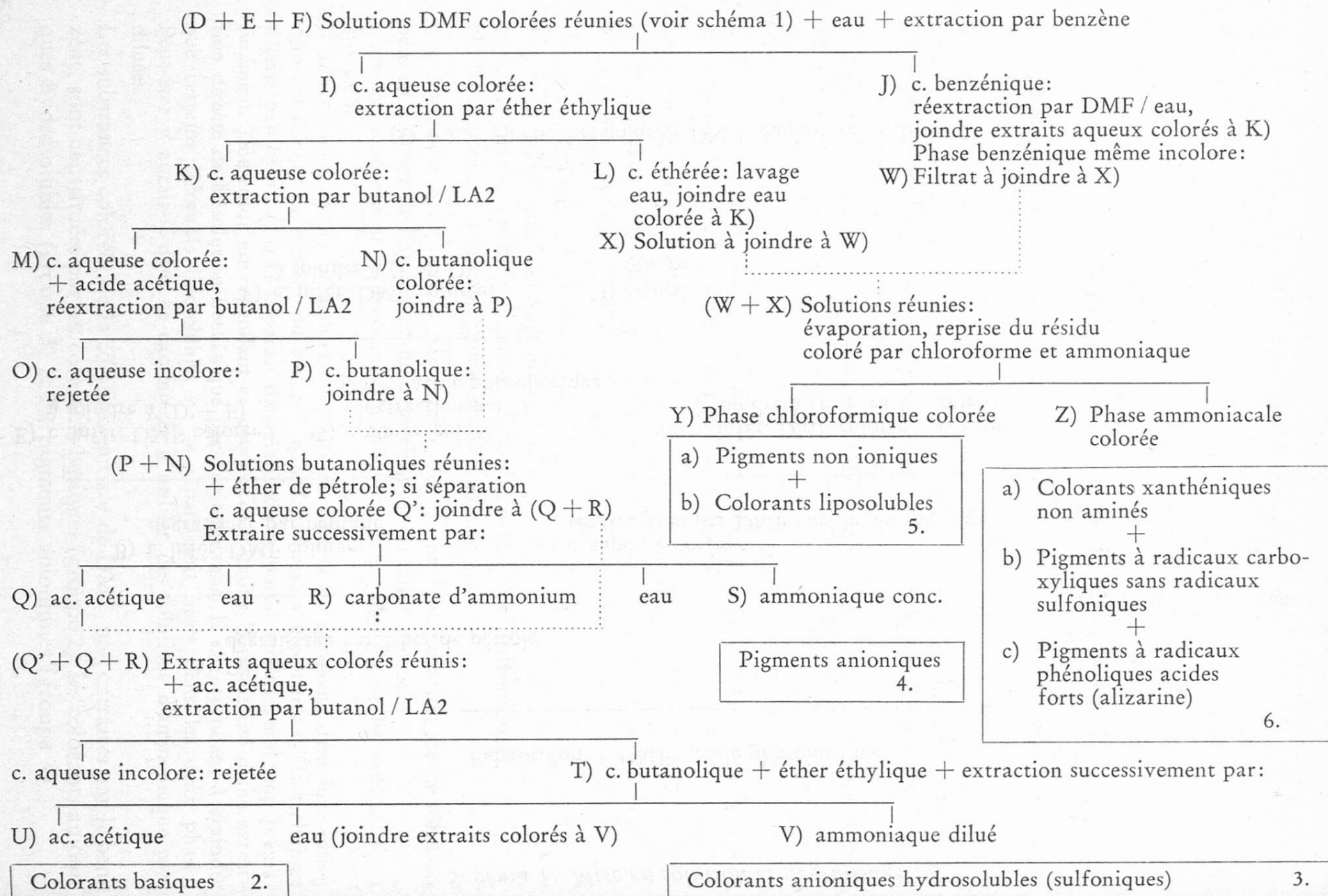


Schéma 2: Séparation des colorants mis en solution



- A condition qu'à ce stade la solution de DMF ait été additionnée d'acide acétique, tous ces groupes de substances colorées, y compris celles du groupe 2, sont extractibles par du butanol renfermant une résine liquide échangeuse d'anions.
- Après addition à la solution butanolique d'éther de pétrole ou d'éther sulfurique, les substances colorantes des différents groupes sont alors réextraites soit par l'acide acétique (groupe 2), soit par l'ammoniaque à 1% (groupe 3) soit par l'ammoniaque à 25% (groupe 4).

Appareillage

Le mode opératoire ne nécessite que du matériel courant de laboratoire.

Réactifs

- Diméthylformamide (DMF)
- Diméthylformamide contenant 5% d'acide phosphorique (DMF/acide phosphorique)
- Ether de pétrole (éb. 40—60°C)
- n-Heptane
- Benzène pro analysi
- Eau distillée
- Ether éthylique exempt de peroxydes. A cet effet, il faut utiliser de l'éther fraîchement redistillé ou mieux, de l'éther stabilisé (Diäthyläther zur Analyse stabilisiert mit 2,6-Di-tert-butyl-p-kresol [Merck] Art. 921).
- Butanol normal contenant 5% de résine liquide échangeuse d'anions Amberlite LA2 (The Rohm and Haas Company, Philadelphia). Lab. B. D. H. (butanol/LA2)
- Acide acétique glacial
- Solution à 5% d'acide acétique
- Solution à 5% de carbonate d'ammonium
- Ammoniaque à 25%
- Ammoniaque à 5%
- Ammoniaque à 1%
- Papier indicateur Merck pH 1—10
- Sulfate de sodium anhydre
- Chloroforme pro analysi

Mode opératoire

a) *Mise en solution*

Suivant l'intensité de la coloration, mettre en suspension 30 à 60 mg d'échantillon dans 3 à 5 ml de DMF/acide phosphorique. Chauffer sur bain-marie. Filtrer sur verre fritté G3 et verser le filtrat dans une ampoule à décantation.

Répéter l'opération jusqu'à filtrat incolore; 3 à 4 extractions suffisent généralement.

Il y a intérêt pratique à ne faire passer si possible le résidu sur le filtre que lors de la dernière extraction.

Au besoin, effectuer la filtration sous légère pression ou aspiration.

Les opérations procurent un filtrat (A) éventuellement coloré (s'il est incolore, le rejeter) et un résidu.

Le résidu peut contenir les pigments inorganiques, le bleu d'indanthrène C. I. 69800 et les «charges». Ces substances sont classées dans le groupe 1.

b) *Traitement du filtrat (A)*

Après refroidissement, dégraisser le filtrat (A) par agitation avec 3 à 4 fois 10 ml d'éther de pétrole.

On obtient ainsi une couche inférieure DMF (B) et une couche supérieure pétroléinique (C).

Le plus fréquemment, la couche (C) est incolore, la rejeter. Si elle est colorée, réextraire chaque portion séparément par 0,5 ml de DMF/acide phosphorique.

Rejeter la couche supérieure pétroléinique devenue incolore et joindre la couche inférieure (D) colorée aux couches désignées ci-après (E) et (F).

Dégraisser, la couche DMF colorée (B) au moyen d'heptane. A cet effet, utiliser 3 à 4 portions de 10 ml d'heptane. Si au cours de ce dégraissage, il se formait un précipité coloré, le conserver dans la couche inférieure de DMF (E).

Rejeter l'heptane incolore. S'il est coloré (G) réextraire chaque portion colorée, séparément, avec 1 ou 2 fois 0,5 ml de DMF/acide phosphorique. Rejeter la phase supérieure (H) (même si elle est légèrement colorée) et joindre à (E) et (D) la couche inférieure colorée (F).

A ce stade, on a réalisé un double dégraissage par l'éther de pétrole d'abord, par l'heptane ensuite, du filtrat DMF/acide phosphorique coloré (A).

c) *Traitement des solutions DMF/acide phosphorique réunies (D + E + F)*

S'assurer de l'absence d'heptane surnageant. Ajouter 5 à 10 ml de benzène puis de l'eau distillée (2 fois le volume de la solution DMF/acide phosphorique).

Répéter l'extraction par portions de 5 à 10 ml de benzène jusqu'à ce que l'extrait benzénique soit incolore ou presque.

Certains colorants autres que ceux des groupes 5 et 6 peuvent faiblement passer dans le benzène. Il n'y a donc pas lieu de poursuivre les extractions benzéniques si l'on constate qu'après avoir diminué d'intensité, la coloration des extraits benzéniques successifs atteint un «palier». Les quelques rares colorants en question sont réextraits dans la suite et réintègrent leur place dans leur propre groupe.

L'extraction benzénique conduit à l'obtention d'une phase inférieure aqueuse éventuellement colorée (I) et d'une phase supérieure benzénique (J) dont le traitement est décrit ci-après.

d) *Traitement de la phase inférieure aqueuse colorée (I)*

Extraire la phase aqueuse colorée (I) par 2 portions de 5 ml d'éther éthylique. On obtient ainsi une phase inférieure aqueuse éventuellement colorée (K) et une phase supérieure éthérée (L) dont le traitement est décrit ci-après.

e) *Traitement de la phase inférieure aqueuse colorée (K)*

Additionner la phase (K) d'eau distillée (1 fois le volume de DMF utilisé). Extraire par le n-butanol contenant 5% de résine liquide échangeuse d'anions Amberlite LA2, par portions de 5 ml et jusqu'à obtention d'un extrait incolore ou jaune pâle.

Pour réaliser une séparation quantitative, il faut ajouter de petites portions de sulfate d'ammonium jusqu'à sursaturation de la solution aqueuse. La décoloration de la phase aqueuse inférieure est accélérée par la présence d'un excès de sulfate d'ammonium.

L'extraction au butanol de la phase (K) aboutit à l'obtention de 2 phases: une phase aqueuse (M) et une phase supérieure butanolique (N).

La phase (M) est rejetée si elle est incolore. Si elle est colorée, il y a présence d'un colorant basique.

f) *Traitement de la couche inférieure aqueuse colorée (M)*

L'acide acétique est favorable à l'extraction par le butanol des colorants basiques, leurs acétates étant solubles dans ce solvant.

Pour que les colorants basiques passent dans la phase organique, porter, au moyen d'acide acétique glacial, la teneur en acide acétique de la solution aqueuse (M) à environ 5%.

Réextraire ensuite par le butanol/LA2 en plusieurs portions de 5 à 10 ml. Rejeter la couche inférieure incolore (O) et joindre la phase supérieure butanolique (P) à la phase (N).

g) *Traitement des solutions butanoliques réunies (N + P)*

Laver 3 fois au moyen d'acide acétique à 5%. Si la phase acétique inférieure reste colorée, ajouter du sulfate d'ammonium solide jusqu'à sursaturation comme sous e). Rejeter les solutions de lavage incolores.

Ajouter à la solution butanolique trois volumes d'éther de pétrole. Si à ce moment, une couche aqueuse colorée (Q') se sépare, la joindre aux extraits (Q + R) réunis (voir plus loin). Extraire et laver le mélange butanol-éther de pétrole par portions de 2 ml successivement par:

- Acide acétique à 5% (Q) jusqu'à extrait incolore;
- Eau distillée 2 fois;
- Carbonate d'ammonium à 5% (R) jusqu'à extrait incolore.

Cette extraction est parfois lente pour certains colorants (C. I. 14780 et 42080 par exemple).

Avant de passer à l'extraction suivante, s'assurer que l'extrait présente bien le même pH que la solution de carbonate d'ammonium à 5%.

- Eau distillée;
- Ammoniaque à 25% (S) après addition d'un quatrième volume d'éther de pétrole ou de préférence d'éther éthylique.

Remarque

Dans la succession des extractions, il n'y a évidemment pas lieu de les poursuivre au-delà d'une décoloration jusqu'au jaune pâle de la phase butanolique (nuance de l'Amberlite).

h) *Traitement de l'extrait ammoniacal (S) coloré*

Evaporer au bain-marie. Le plus souvent une purification ultérieure n'est pas requise.

Si cependant, d'après l'aspect du résidu, une purification s'avérait indispensable, procéder comme suit:

Reprendre le résidu par 5 à 10 ml d'ammoniaque à 25%.

Extraire par portions de 2 à 3 ml de butanol/LA2 jusqu'à extrait incolore.

Ajouter éventuellement du sulfate d'ammonium solide jusqu'à séparation quantitative de la phase butanolique.

Laver cette phase avec 3 fois 2 ml d'eau distillée. Si l'eau de lavage est colorée, acidifier le mélange par de l'acide acétique glacial et continuer les lavages par de l'acide acétique à 5% plutôt que par eau distillée.

Ajouter à la phase butanolique 4 vol. d'éther de pétrole.

Extraire par portions d'ammoniaque à 25% jusqu'à extrait incolore.

Evaporer au bain-marie sans qu'il soit indispensable d'acidifier avant évaporation: les colorants de ce groupe ne sont pas détruits par chauffage en milieu ammoniacal.

Le résidu d'évaporation est constitué par les pigments anioniques (groupe 4).

i) *Traitement des extraits aqueux colorés réunis (Q + R)*

Y joindre éventuellement la solution colorée (Q'). S'assurer que le pH n'est plus acide (absence requise d'acide phosphorique). Au besoin, neutraliser par addition

de carbonate ammonium à 5% ou prudemment (colorants sensibles aux alcalis!) avec de l'ammoniaque à 1%.

Extraire par la solution de butanol/LA2 par portions de 3 à 5 ml, en ajoutant éventuellement (souvent non requis) du sulfate d'ammonium jusqu'à séparation quantitative de la phase butanolique. Si la couche aqueuse restait colorée, l'acidifier par l'acide acétique glacial sans toutefois dépasser une concentration de 5% en acide acétique.

Sous forme d'acétates, les colorants basiques sont solubles dans le butanol normal. On obtient ainsi une phase inférieure incolore qui est rejetée et une phase supérieure butanolique (T).

j) *Traitement de la phase butanolique (T)*

Si on a utilisé du sulfate d'ammonium pour l'extraction butanolique précédente, laver la phase (T) avec 1 fois 2 ml d'eau distillée.

Ajouter à la phase butanolique 3 volumes d'éther éthylique. Extraire ensuite par portions de 2 ml successivement par:

— Acide acétique à 5% jusqu'à extrait incolore;

Evaporer l'extrait acétique coloré au bain-marie. Le résidu contient les colorants basiques du groupe 2.

Avant de passer à l'extraction suivante, s'assurer, à l'aide de papier indicateur, que l'extrait est effectivement *acide*.

— Eau distillée 2 fois;

Extraits aqueux incolores: à rejeter;

Extraits colorés: à joindre à l'extrait ammoniacal (X) (voir sous k);

— Ammoniaque à 1% en rajoutant éventuellement un volume d'éther de pétrole si l'extraction s'avère «lente». Recevoir les extraits dans leur volume d'acide acétique à 5% pour neutralisation immédiate de l'ammoniaque. Evaporer au bain-marie après avoir éventuellement joint les extraits aqueux colorés obtenus par l'extraction précédente à l'eau distillée.

Ce groupe est celui des colorants anioniques hydrosolubles (sulfoniques), groupe 3.

k) *Traitement de la phase étherée (L)*

La plupart des colorants xanthéniques ne communiquent aucune coloration à l'éther (voir sous d)). Même incolore, la phase étherée (L) doit donc être traitée. La laver une fois à l'eau distillée et si la couche aqueuse est colorée, la joindre à la phase aqueuse colorée (K) obtenue sous d).

Filtrer si nécessaire la couche étherée sur le filtre utilisé pour la filtration de la couche benzénique (J) obtenue sous c).

On obtient une solution (X) à joindre à (W) (voir ci-après sous l)).

l) *Traitement de la phase benzénique (J)*

Réextraire les couches supérieures benzéniques (J) réunies (voir sous c)), par portions de 0,5 à 1 ml d'un mélange de 1 volume DMF/acide phosphorique et 2 volumes d'eau jusqu'à extrait incolore.

Joindre les extraits colorés à la phase aqueuse colorée (I) (voir sous c)). Cette réextraction par la DMF est rendue indispensable pour certains colorants du groupe 4, qui passent en faible quantité parfois dans le benzène.

Laver par 1 ml d'eau distillée la phase benzénique (J) (même si elle est incolore, la plupart des colorants xanthéniques ne communiquant aucune coloration à ce solvant). Rejeter l'eau de lavage.

Sécher la phase benzénique sur sulfate de sodium anhydre. Il faut ajouter du sulfate de sodium en quantité suffisante pour obtenir un benzène parfaitement limpide. Ce procédé a pour but de débarrasser le benzène non seulement de son eau de saturation mais surtout des impuretés que cette eau contient.

Filtrer le benzène sur verre fritté G4 ou sur papier si une extraction quantitative n'est pas requise. Le filtrat (W) obtenu est joint à la solution (X) obtenue sous k).

m) *Traitement des solutions (W + X) réunies*

Même si elles sont incolores (voir remarque ci-devant), évaporer ces solutions au bain-marie. Un résidu non coloré est à rejeter. S'il est coloré, le reprendre par du chloroforme.

Agiter ensuite avec de petites portions d'ammoniaque à 25%. On obtient ainsi une phase chloroformique (Y) et une phase ammoniacale (Z).

n) *Traitement de la phase chloroformique colorée (Y)*

Evaporer cette solution à température ambiante, si possible sous atmosphère d'azote ou de gaz carbonique. Le résidu (groupe 5) renferme:

1. les pigments non ioniques et
2. les colorants liposolubles, avec accessoirement parfois de faibles quantités de dérivés du xanthène.

o) *Traitement de la phase ammoniacale colorée (Z)*

Chasser les résidus de chloroforme par un courant d'azote ou de gaz carbonique (voir sous m)).

Evaporer sur bain-marie. Le résidu contient les colorants du groupe 6:

1. colorants xanthéniques non aminés;
2. pigments à radicaux carboxyliques sans groupes sulfoniques et
3. pigments à radicaux phénoliques acides forts (alizarine n° C. I. 58000).

Identification

Après avoir établi une méthode d'extraction, il paraît utile de présenter pour chacun des groupes 2—6 des schémas 1 et 2 une liste de colorants leur appartenant.

Les *colorants inorganiques* n'ont pas été considérés leur appartenance au *groupe 1* étant évidente. Il faut adjoindre à ce groupe, en raison de son insolubilité, le bleu d'indanthrène C. I. 69800.

Quant aux colorants synthétiques organiques, tous ceux dont l'usage est autorisé par la législation belge pour les produits cosmétiques destinés à entrer en contact avec les muqueuses (26, 27) figurent dans la présente classification.

Les n° de «colour index» (C. I.) placés entre crochets désignent les colorants non repris dans la législation.

Dans les listes ci-dessous, le signe + placé comme exposant au n° du colour index 1956 indique que l'extraction sur colorant témoin a été effectivement réalisée pour déterminer l'appartenance au groupe.

Pour les autres cas, l'affectation d'un colorant à l'un des groupes est basée tant sur sa formule que sur ses caractères généraux de solubilité.

Colorants du groupe 2: Colorants basiques

C. I. 42040 — 42140 — 44040 — 44045⁺ — 45170⁺ — [52010] — [52015] — [42000] — [42535] — [41000] — [45160].

Colorants du groupe 3: Colorants anioniques hydrosolubles (sulfoniques)

C. I. 10316⁺ — 13015 — 14270 — 14700 — 14720⁺ — [14780] — 14815 — 15510 — 15525⁺ — 15580⁺ — 15620 — 15850⁺ — [15860] — 15865⁺ — 15880⁺ — 15980 — 15985 — 16185 — 16255 — 16290 — [17200] — 19140 — 20170⁺ — 28440 — [42045] — 42051⁺ — 42053 — [42080⁺] — 42090 — 42170⁺ — 42640⁺ — 42735⁺ — 44090 — 45190⁺ — 47005 — 61570⁺ — [62550] — 73015⁺.

Colorants du groupe 4: Pigments anioniques

C. I. 15585⁺ — 15630⁺.

Colorants du groupe 5: a) Pigments non ioniques

C. I. 12075⁺ — 12085⁺ — 12120⁺ — 12350 — 12385 — 12490 — 69825? — 73000 — 73360⁺ — 73385 — 74260⁺ — [11680].

Colorants du groupe 5: b) Colorants liposolubles

C. I. 11920⁺ — 12150⁺ — [12740] — [26100⁺] — [26125⁺] — 60725⁺ — 61565 — 47000 — [11020] — [26105] — [12010].

Colorants du groupe 6: a) Colorants xanthéniques

C. I. 45350⁺ — 45370⁺ — 45380⁺ — 45405 — 45410 — 45425 — 45430⁺ — [45440].

Colorants du groupe 6: b) et c) Pigments divers

C. I. [13058] — 15500⁺ — 15800 — 58000⁺.

Cette classification constitue une première approche de l'identification des colorants organiques de synthèse pour cosmétiques.

Pour ce qui est d'une identification précise, la technique utilisée est la chromatographie; la chromatographie sur couche mince supplante généralement dans ce domaine la chromatographie sur papier. Gain de temps, augmentation du nombre de systèmes chromatographiques par variations du substrat, finesse des séparations, telles sont quelques-unes parmi les raisons qui plaident en faveur de la chromatographie sur couche mince.

Les systèmes chromatographiques expérimentés sont décrits ci-après.

Par souci de ne pas surcharger les tableaux, les valeurs des R_f ne sont pas données. Toutefois il est fait mention des systèmes pouvant être recommandés*.

Pour ce qui est des détails opératoires, les abréviations suivantes sont utilisées:

- SSF 1500: feuilles plastiques préparées pour c. c. m. Schleicher et Schüll F 1500 — gel de silice résistant aux acides.
- SSF 1440: feuilles plastiques préparées pour c. c. m. Schleicher et Schüll F 1440 — cellulose sans adhésif.
- MN Sil NH-R: feuilles Polygram Sil N-HR Macherey-Nagel pour c. c. m. — épaisseur 0,2 mm — Kieselgel N-HR
- SSF 1500 paraffiné et SSF 1440 paraffiné: feuilles des ces substrats, imprégnées de paraffine par une chromatographie à blanc et jusqu'au sommet de la feuille, dans un solvant constitué d'éther de pétrole éb. 40—60°C contenant 5% de paraffine.

Les feuilles sont ensuite séchées à l'air libre avant utilisation.

- Pol. MN: Polyamide Macherey-Nagel.
- Cell. Micr. MN 400: feuilles Polygram Cel 400 pour la c. c. m. Macherey-Nagel — couches 0,1 mm de cellulose microcristallisée.
- Ammoniaque c.: ammoniaque concentrée 25% (d = 0,91) pro analysi — Merck.
- Eau: eau distillée.

En outre, il faut tenir compte des précisions suivantes:

- Les chromatographies ont été exécutées à la température de 24° ± 0,5°C.
- Les développements ont été exécutés en chromatographie ascendante sur plaques réduites aux dimensions de 5×10 cm, en cuves cylindriques d'environ 15 cm de hauteur et 7 cm de diamètre, saturées préalablement au développement.
- Les solutions déposées (spots) sont le plus souvent des solutions méthanoliques. Les colorants insolubles dans le méthanol ont été déposés en solution dans la diméthylformamide.

* Sur la base des valeurs R_f, M. M. Legrand, Assistant à l'Institut d'hygiène et d'épidémiologie de Bruxelles a bien voulu effectuer l'étude mathématique nécessaire au choix optimum des divers systèmes chromatographiques, pour chaque groupe de colorants. Qu'il veuille trouver ici l'expression de ma reconnaissance.

— La chromatographie a été arrêtée dès arrivée du solvant au sommet de la plaque.

— Sauf indication, tous les solvants ont été préparés immédiatement avant l'emploi et avec précision (à la pipette). La précision dans la préparation des solvants conditionne la reproductibilité.

Ces précisions étant données, les divers systèmes chromatographiques expérimentés, sont présentés ci-après par groupes correspondant à ceux de l'extraction.

Groupe 2: Colorants «basiques»

Colorants étudiés: [52015] — 44045 — 42040 — [42000] — [42535] —
[41000] — [45160] — 45170.

Systèmes chromatographiques utilisables:

N°		
1	Méthanol	SSF 1500
2	n-Butanol : éthanol : eau (9 : 1 : 1)	SSF 1500
3	n-Butanol : pyridine : eau (6 : 4 : 3)	SSF 1440
4	Acétate éthyl : méthanol : ammoniacque c. (15 : 6 : 3)	SSF 1500
5	Acétate éthyl : méthanol : ammoniacque c. (15 : 6 : 3)	
	Préparation 48 heures avant chromatographie	SSF 1500
6	Acétate éthyl : méthanol : ammoniacque c. (15 : 6 : 3)	
	Préparation 4 mois avant chromatographie	SSF 1500
7	Ammoniacque 7,5% : acétate éthyl : méthanol (3 : 15 : 3)	SSF 1500
8	Acétate éthyl : n-butanol : ammoniacque c. (20 : 55 : 25)	SSF 1500
9	n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (50 : 10,5 : 21 : 1)	SSF 1500
10	n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (200 : 40 : 88 : 2)	SSF 1500
11	n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 3 : 15 : 1)	SSF 1500
12	n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. : eau (9 : 3 : 15 : 1 : 2)	SSF 1500
13	n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 3 : 15 : 3)	SSF 1500
14	n-Propanol : ammoniacque à 10% (9 : 1)	SSF 1500
15	Butanol tert. : acide propionique : solut. KCL 4% (25 : 120 : 25)	SSF 1500
16	n-Butanol : éthanol : eau : ac. chlorhydrique N (10 : 2 : 4 : 2)	SSF 1500
17	n-Butanol : éthanol : eau : ac. acétique gl. (10 : 2 : 4 : 2)	SSF 1500
18	n-Propanol : ac. acétique gl. : eau (6 : 1 : 3)	SSF 1500
19	Méthanol : ac. chlorhydrique conc. : eau (75 : 1 : 75)	SSF 1440
20	Méthyl-éthyl-cétone : acétone : eau : ammoniacque c. (700 : 200 : 200 : 2)	SSF 1500
21	Solut. 2,5% citrate sodium sec : méthanol : ammoniacque c. (20 : 3 : 5)	SSF 1440

Pour ce groupe 2 de colorants, les systèmes chromatographiques suivants se sont révélés *inutilisables*:

- n-Butanol : pyridine : eau (6 : 4 : 3) SSF 1500
- Tétrachlorure de carbone : méthanol (4 : 1) SSF 1500

— Tétrachlorure de carbone : méthanol (4 : 1)	Pol. M. N.
— Butanol tert. : ac. propionique : sol. KCL 4‰ (25 : 120 : 25)	cell. micro- crist. MN 400
— n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (50 : 10,5 : 21 : 1)	cell. micro- crist. MN 400
— n-Butanol : eau : éthanol : ac. chlorhydrique c. (10 : 4 : 2 : 2)	SSF 1440 et SSF 1500
— Benzène : méthanol (5 : 1)	SSF 1500
— n-Propanol : ac. chlorhydrique c. : eau (75 : 1 : 75)	SSF 1440 et SSF 1500
— Méthyl-éthyl-cétone : acétone : eau : ammoniacque c. (700 : 200 : 200 : 2)	SSF 1440

Les systèmes à sélectionner, quant à l'aspect des taches, sont les n° 3 — 4 — 7 — 9 — 15 — 17.

Le système 17 est spécialement bien adapté à la séparation des colorants C. I. 42040 et 42000.

Pour la séparation des colorants C. I. 44045 et 42040 par contre, le choix se porte vers le système n° 9.

Une anomalie est à signaler ici: c'est le comportement du solvant n° 5. Par vieillissement (système 6) ce solvant a amené une différence considérable dans la valeur (R_f) du colorant C. I. 44045. C'est là une observation inattendue qui demanderait à être étudiée en l'appliquant à des colorants d'autres groupes.

Une étude mathématique basée sur le traitement des valeurs R_f , sans tenir compte des nuances, a abouti à sélectionner dans l'ordre les systèmes n° 3 — 17 — 7. L'emploi de cette série de systèmes est considéré comme nécessaire et suffisant pour la séparation des colorants étudiés ici.

Groupe 3: Colorants anioniques hydrosolubles

Les colorants étudiés sont ceux qui figurent en tête de ce chapitre, comme appartenant au groupe 3. A l'exception toutefois des n° C. I. 15580 — [15860] — [62550] (ceci par défaut d'échantillon).

Systèmes chromatographiques utilisables:

N°		
1	Méthanol	SSF 1500
2	Ac. chlorhydrique normal	SSF 1440
3	Solut. 10‰ ac. chlorhydrique c.	cell. microcrist. MN 400
4	Solut. 10‰ ac. chlorhydrique c. Développement prolongé durant 1 heure après montée du solvant au sommet	SSF 1440
5	n-Butanol : éthanol : eau (9 : 1 : 1)	SSF 1500
6	n-Butanol : pyridine : eau (6 : 4 : 3)	SSF 1440
7	Acétate éthyl : méthanol : ammoniacque c. (10 : 4 : 2)	SSF 1500
8	Ammoniacque 7,5‰ : acétate éthyl : méthanol (3 : 15 : 3)	SSF 1500

9	Acétate éthyl : n-butanol : ammoniacque c. (20 : 55 : 25)	SSF 1500
10	Acétate éthyl : diméthylformamide : ammoniacque c. : eau (100 : 30 : 5 : 7)	SSF 1440
11	Acétate éthyl : diméthylformamide : ammoniacque c. : eau (100 : 30 : 5 : 7)	cell. microcrist. MN 400
12	n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (50 : 25 : 25 : 10)	SSF 1500
13	n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (200 : 40 : 88 : 2)	SSF 1500
14	n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (50 : 10,5 : 21 : 1)	SSF 1500
15	Solut. 2,5 ⁰ / ₀ citrate sodium sec : méthanol : ammoniacque c. (20 : 3 : 5)	SSF 1440
16	n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. : eau (9 : 3 : 15 : 1 : 2)	SSF 1500
17	n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 3 : 15 : 3)	SSF 1500
18	n-Propanol : ammoniacque 12,5 ⁰ / ₀ (9 : 1)	SSF 1500
19	n-Propanol : ammoniacque c. (9 : 1)	SSF 1500
20	Méthyl-éthyl-cétone : acétone : ammoniacque 1 ⁰ / ₀ (7 : 2 : 2)	SSF 1500
21	Acétone : n-butanol : ammoniacque c. : eau (65 : 20 : 10 : 5)	SSF 1500
22	Tétrahydrofurane : méthanol : ammoniacque 10 ⁰ / ₀ (5 : 1 : 1)	SSF 1500
23	Butanol tert. : ac. propionique : solut. KCL 4 ⁰ / ₀ (25 : 120 : 25)	SSF 1500
24	n-Butanol : éthanol : eau : ac. acétique gl. (10 : 2 : 2 : 2)	SSF 1500
25	n-Propanol : ac. acétique glacial : eau (6 : 1 : 3)	SSF 1500
26	Méthanol : eau : ac. chlorhydrique c. (75 : 75 : 1)	SSF 1440
27	Méthanol : eau : ac. chlorhydrique c. (75 : 75 : 1)	cell. microcrist. MN 400
28	Chloroforme : méthanol : ammoniacque 17 ⁰ / ₀ (6 : 6 : 3)	SSF 1500
29	n-Butanol saturé d'eau. Température 24°C	SSF 1500
30	n-Butanol saturé d'ammoniacque 1 ⁰ / ₀ à 24°C	SSF 1500
31	Alcool isoamylique saturé d'eau à 24°C	SSF 1500
32	Alcool isoamylique saturé d'ammoniacque 1 ⁰ / ₀ à 24°C	SSF 1500
33	n-Butanol : éthanol : eau : ac. acétique gl. (10 : 2 : 4 : 2)	SSF 1500

Les systèmes chromatographiques suivants se sont révélés *inutilisables* pour les colorants du groupe 3:

—	Tétrachlorure de carbone : méthanol (4 : 1)	SSF 1500
—	Acide chlorhydrique normal	SSF 1500
—	Tétrachlorure de carbone : chloroforme : ac. acétique gl. (10 : 6 : 2)	SSF 1500
—	Tétrachlorure de carbone : chloroforme : ac. acétique gl. (10 : 10 : 1)	MN Sil N-HR
—	Diméthylformamide : ammoniacque c. (2 : 1)	SSF 1500
—	Diméthylformamide	SSF 1500
—	Ammoniacque à 1 ⁰ / ₀ saturé par alcool isoamylique à 25°C	MN Cell. 400
—	Acétate d'éthyle	SSF 1500
—	n-Butanol : éthanol : eau : ac. chlorhydrique c. (10 : 2 : 4 : 2)	SSF 1500
		et SSF 1440

Selon l'aspect des taches, les systèmes suivants peuvent être *sélectionnés*:
n° 7 — 9 — 13 — 19 — 23 — 24 — 25.

Une étude mathématique basée sur le traitement des valeurs R_f, sans tenir compte des nuances, a abouti à sélectionner dans l'ordre deux jeux de systèmes considérés comme nécessaires et suffisants pour la séparation des colorants étudiés

à l'exception des colorants n° C. I. 15980 et 15985. Ce sont d'abord la série de systèmes: 29 — 15 — 10 — 25; cette solution apparaît comme mathématiquement la meilleure. La série 25 — 19 — 15 — 6 peut également être envisagée.

Pour ce qui est des colorants C. I. n° 15980 et 15985 les systèmes donnant des résultats plus ou moins acceptables sont les n° 24 et 33, le n° 24 étant nettement préférable.

Les systèmes 2 — 3 et 4, pourtant signalés dans la littérature comme étant aptes à réaliser cette séparation, n'ont pas donné satisfaction. Ces colorants diffèrent entre eux par la seule position «para-méta» d'un groupe sulfonique sur un noyau benzénique et leurs spectres en UV et visible sont en tous points semblables.

Il est aussi à remarquer que le système le mieux adapté à la séparation des colorants C. I. n° 14850 et 15865 est le n° 10. Les deux colorants diffèrent par la seule présence, dans le 15965 d'un atome de chlore sur le noyau benzénique.

Un seul dérivé du xanthène figure ici. Son appartenance au groupe 3 résulte de sa sulfonation. L'image chromatographique de cette substance met en évidence son hétérogénéité; ce caractère commun à la plupart des autres colorants dérivés du xanthène rappelle les réserves qui devraient être faites quant à l'acceptation de tels colorants parmi les substances autorisées dans les cosmétiques.

D'autre part, une étude de l'aspect des taches a révélé un nombre élevé de *décolorations*. Ceci met en lumière le risque encouru par l'utilisation de *solvants trop agressifs*. Ces solvants se révèlent particulièrement défavorables aux dérivés du triphényl-méthane dont la présence peut ainsi échapper totalement à l'analyste. Ce point doit retenir l'attention, aussi bien au cours de l'identification que pour le choix d'une technique d'extraction.

Groupe 4: Pigments anioniques

Les mêmes systèmes que ceux du groupe 3 ont été expérimentés pour ce groupe.

Les deux seuls pigments considérés (C. I. n° 15585 et 15630) ne peuvent être séparés que par les systèmes n° 11 — 27 et 26. Ces deux derniers systèmes donnent lieu toutefois à des traînées.

Si au vu des valeurs Rf, le système n° 10 semble être apte à réaliser une séparation, la forme des taches s'y oppose. Ces pigments diffèrent par la présence dans le C. I. n° 15585 d'un radical méthyl et d'un atome de chlore, fixés tous deux sur le même noyau benzénique. Si l'on s'en tient à la seule valeur numérique du Rf, ici aussi, le système n° 10 établit une discrimination basée sur la chloration. A tout prendre, cependant, le système 11 est à préférer, quoique cette séparation reste délicate.

Groupe 5: a) Pigments non ioniques

Pigments étudiés: C. I. 12075 — 12085 — 12120 — 73360 — 12490 — 73385 — 74260 — [11680].

Systèmes chromatographiques utilisables:

N°		
1	Benzène	SSF 1500
2	Benzène : cyclohexane (2 : 1)	SSF 1500
3	Benzène : acétone (9 : 1)	SSF 1500
4	Benzène : tétrachlorure de carbone (1 : 1)	SSF 1500
5	Dichlorométhane	SSF 1500
6	Ether de pétrole éb. 40—60°C	SSF 1500
7	Ether de pétrole éb. 40—60°C	SSF 1440
8	Toluène : acétone (20 : 1)	SSF 1500
9	Dioxane : eau : ammoniacque c. (70 : 20 : 5)	SSF 1440
10	Dioxane : eau : ammoniacque c. (70 : 20 : 5)	SSF 1440 paraffiné
11	Chloroforme : xylène (3 : 1)	SSF 1500
12	Chloroforme : toluène : benzène (1 : 1 : 1)	SSF 1500
13	Ether de pétrole 40—60°C : éther éthylique (25 : 1)	SSF 1500
14	n-Heptane : éther isopropylique (2 : 1)	SSF 1500
15	Acide formique	SSF 1550 paraffiné

Le système chromatographique suivant s'est révélé *inutilisable* dans le cas présent:

— chloroforme : éthanol : morpholine (9 : 1 : 1) SSF 1500

D'après l'aspect des taches, les systèmes n° 1 — 5 — 8 — 11 — 12 peuvent être *sélectionnés*.

Pour ce groupe, l'une quelconque des paires de systèmes 11—3, 12—3, ou 1—3 suffit à séparer entre eux les pigments considérés.

Il apparaît toutefois qu'aucun des systèmes n'a pu entraîner de façon appréciable les pigments C. I. n° 73385 et 74260.

D'autres systèmes pourraient donc être recherchés; toutefois une méprise n'est pas à craindre étant donné la diversité de nuance des deux pigments.

Groupe 5: b) Colorants liposolubles

A l'exception du colorant C. I. n° 12740, tous les colorants liposolubles cités ci-devant comme appartenant au groupe 5 ont été étudiés.

Systèmes chromatographiques utilisables:

N°		
1	Benzène	MN Sil. N-HR
2	Benzène	SSF 1500
3	Benzène : cyclohexane (2 : 1)	SSF 1500
4	Benzène : acétone (9 : 1)	SSF 1500
5	Benzène : tétrachlorure de carbone (1 : 1)	SSF 1500
6	Dichlorométhane	SSF 1500
7	Ether de pétrole éb. 40—60°C	SSF 1440
8	Ether de pétrole éb. 40—60°C	SSF 1500
9	Toluène : acétone (20 : 1)	SSF 1500
10	Dioxane : eau : ammoniacque c. (70 : 20 : 5)	SSF 1440 paraffiné

11 Dioxane : eau : ammoniacale c. (70 : 20 : 5)	SSF 1440
12 Chloroforme : xylène (3 : 1)	SSF 1500
13 Chloroforme : toluène : benzène (1 : 1 : 1)	SSF 1500
14 Ether de pétrole éb. 40—60°C : éther éthylique (25 : 1)	SSF 1500
15 n-Heptane : éther isopropylique (2 : 1)	SSF 1500
16 Acide formique	SSF 1500 paraffiné

Les systèmes chromatographiques suivants se sont révélés *inutilisables* pour ce groupe de colorants:

— Benzène : acétone (9 : 1)	SSF 1440 paraffiné
— Chloroforme : éthanol : morpholine (9 : 1 : 1)	SSF 1500

Les systèmes suivants peuvent être *sélectionnés*: n° 2 — 6 — 10 — 12 — 13.

Le système n° 10 est le seul de ce tableau à séparer convenablement les colorants C. I. n° 26100 — 26105 et 26125, tous colorants de nuances très voisines et dont seul le degré de méthylation diffère. Il serait intéressant d'étudier, sur d'autres colorants, l'aptitude de ce système à séparer des composés présentant divers degrés de méthylation.

Le système n° 10 est aussi le seul à pouvoir séparer correctement les colorants C. I. n° 60725 et 61565, bien que leur séparation revête moins d'importance du fait de la différence des nuances.

Aucun des colorants liposolubles étudiés n'est entraîné par l'éther de pétrole. Ce solvant serait donc susceptible d'être utilisé comme solvant de «nettoyage».

Il apparaît que, outre un spectre de valeurs Rf plus vaste, le système n° 9 présente une sélectivité plus grande que le système n° 4. Ce dernier système étant officiellement choisi pour la séparation des colorants liposolubles des denrées alimentaires (18), il y aurait cependant lieu de le maintenir dans une sélection de systèmes.

Indépendamment de cette considération, une étude mathématique basée sur le traitement des valeurs Rf, compte non tenu des nuances, a abouti à sélectionner dans l'ordre un jeu de systèmes, les n° 10 — 6 — 3; l'ensemble de ces systèmes étant considéré comme nécessaire et suffisant pour la séparation des colorants étudiés.

Groupe 6: a) Colorants xanthéniques

A l'exception des colorants C. I. n° 13058 et 15800, tous les colorants et pigments précités appartenant au groupe 6 ont été étudiés.

Systèmes chromatographiques *utilisables*:

N°		
1	Acétate éthyl	SSF 1500
2	Méthanol	SSF 1500
3	n-Butanol : éthanol : eau (9 : 1 : 1)	SSF 1500
4	n-Butanol : pyridine : eau (6 : 4 : 3)	SSF 1440
5	Acétate éthyl : méthanol : ammoniacale c. (15 : 6 : 3)	SSF 1500
6	Acétate éthyl : n-butanol : ammoniacale c. (20 : 55 : 25)	SSF 1500
7	Ammoniacale, 7,5% : acétate éthyl : méthanol (3 : 15 : 3)	SSF 1500

8 Acétate éthyl : n-butanol : ammoniacque c. (20 : 55/10)	SSF 1500
9 n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (50 : 10,5 : 21 : 1)	SSF 1500
10 n-Butanol : éthanol : eau : ammoniacque c. (200 : 40 : 88 : 2)	SSF 1500
11 n-Butanol saturé d'eau à 25°C	SSF 1500
12 n-Butanol saturé d'ammoniacque 1 ⁰ / ₀ à 25°C	SSF 1500
13 Alcool isoamylique saturé d'eau à 25°C	SSF 1500
14 Alcool isoamylique saturé d'ammoniacque 1 ⁰ / ₀ à 25°C	SSF 1500
15 Ammoniacque 1 ⁰ / ₀ saturé d'alcool isoamylique à 25°C cell microcrist.	MN 400
16 Acétone : n-butanol : ammoniacque c. : eau (65 : 20 : 10 : 5)	SSF 1500
17 Tétrahydrofurane : méthanol : ammoniacque 10 ⁰ / ₀ (5 : 1 : 1)	SSF 1500
18 n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 3 : 15 : 3)	SSF 1500
19 n-Butanol : alcool benzylique : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 3 : 15 : 1 : 2)	SSF 1500
20 n-Propanol : ammoniacque 12,5 ⁰ / ₀ (9 : 1)	SSF 1500
21 n-Propanol : ammoniacque c. (9 : 1)	SSF 1500
22 Méthyl-éthyl-cétone : acétone : ammoniacque 1 ⁰ / ₀ (7 : 2 : 2)	SSF 1500
23 Solut. 2,5 ⁰ / ₀ citrate sodium sec : méthanol : ammoniacque c. (20 : 3 : 5)	SSF 1440
24 Chloroforme : méthanol : ammoniacque 17 ⁰ / ₀ (6 : 6 : 3)	SSF 1500
25 Tétrachlorure de carbone : chloroforme : ac. acétique glacial (10 : 10 : 1)	MN Sil. N-HR
26 Tétrachlorure de carbone : chloroforme : ac. acétique glacial (10 : 10 : 3)	SSF 1500

Les systèmes chromatographiques suivants se sont révélés *inutilisables* pour ce groupe 6 de colorants:

— Diméthylformamide : ammoniacque c. (2 : 1)	SSF 1440
	et SSF 1500
— Butanol tert. : acide propionique : solut. KCl 4 ⁰ / ₀ (25 : 120 : 25)	SSF 1500
— n-Propanol : ac. acétique gl. : eau (6 : 1 : 3)	SSF 1500
	et SSF 1440
— Méthanol : ac. chlorhydrique c. : eau (75 : 1 : 75)	SSF 1440
— Diméthylformamide	SSF 1500
— Benzène : n-propanol : ammoniacque c. (9 : 5 : 1,5)	SSF 1500
— Benzène : méthanol : ammoniacque c. (65 : 30 : 4)	SSF 1500
— Ammoniacque à 1 ⁰ / ₀ saturé par alcool isoamylique à 24°C	SSF 1440
	et SSF 1500
— n-Butanol saturé d'eau à 24°C	SSF 1440
— Benzène	SSF 1500
— Méthanol : ammoniacque c. (2 : 1)	SSF 1500
— Ammoniacque à 1 ⁰ / ₀ saturé de n-butanol à 25°C	SSF 1440
— n-Propanol : ac. acétique glacial : eau (6 : 1 : 3)	SSF 1500
	et SSF 1440

Les systèmes suivants peuvent être *sélectionnés*, quant à l'aspect des taches: n° 1 — 5 — 7 — 8 — 11 — 13 — 17 — 18 — 21 — 23 — 25 — 26.

Ici encore, l'hétérogénéité des dérivés de la fluorescéine attire l'attention. Au premier examen, il apparaît par exemple, que les colorants C. I. n° 45405 (dérivé dichloré) et 45410 (dérivé tétrachloré) seraient chacun un mélange des deux colorants dont les proportions seraient simplement inversées.

Une étude mathématique basée sur le traitement des valeurs Rf, sans tenir compte des nuances, a abouti à sélectionner dans l'ordre l'ensemble des systèmes n° 9 — 15 — 26, dont la conjonction est considérée comme nécessaire et suffisante pour la séparation des colorants de ce groupe.

Conclusions

La quasi totalité des systèmes de chromatographie sur couches minces cités dans la littérature spécialisée, a été expérimentée dans la présente étude. A ces systèmes, s'ajoutent un petit nombre de systèmes originaux.

Malgré l'importance du nombre des expérimentations, la séparation de certains mélanges de colorants reste délicate, même si l'on se restreint aux substances colorantes dont l'autorisation est prévue.

Les difficultés rencontrées sont encore augmentées par l'introduction éventuelle de nombreuses substances colorantes non autorisées. Peut-être faudra-t-il faire alors appel à d'autres techniques, comme, par exemple, l'électrophorèse à haute tension.

Une étude indispensable devrait être exécutée: en parallèle avec celui des substances colorantes autorisées, il faudrait examiner le comportement chromatographique d'un grand nombre de produits non autorisés afin d'établir la fiabilité réelle de la méthode.

Il faut remarquer qu'un auteur comme *Perdih* (25) fait appel, pour la séparation de 150 colorants, également pré-classés lors de l'extraction, à quelque quarante systèmes chromatographiques sur couche mince.

A cet égard, l'extraction ici prônée, en tant qu'elle aboutit aussi à classer les substances colorantes en groupes possédant chacun leurs systèmes chromatographiques sélectifs, constitue un progrès sur d'autres méthodes: tout en augmentant la sécurité dans l'identification, elle élimine les pertes de temps résultant du choix malencontreux de solvants inaptes à entraîner le colorant inconnu.

Le groupe 3 cependant reste encore trop vaste; il devrait pouvoir être scindé.

Pour en revenir à la chromatographie sur couches minces, une première conclusion est qu'il faut être extrêmement prudent quant à l'identification de substances colorantes par cette technique; en dehors de cas précis, vouloir résoudre le problème par la seule utilisation de deux systèmes chromatographiques, paraît aléatoire.

Et c'est ici l'endroit de rappeler que les sélections obtenues par notre étude mathématique ne sont valables que si elles s'appliquent à la séparation des seuls colorants examinés dans ce travail.

En conclusion, on peut admettre que, dans l'état actuel des connaissances, si au cours d'une analyse de contrôle il se trouve une matière colorante dont le comportement chromatographique est aberrant par rapport à celui des substances autorisées, il s'agit d'un produit à rejeter.

Si, d'autre part, le comportement chromatographique d'une substance colorante s'avère conforme à celui d'un des produits autorisés, son identification n'en paraît pas absolument acquise pour autant.

Résumé

Après une étude bibliographique, une méthode d'extraction des substances colorantes des rouges à lèvres, basée sur l'utilisation de solvants non miscibles, est proposée.

Par ce moyen, les substances colorantes extraites sont réparties en groupes chimiquement définis.

Pour chacun des groupes, des données chromatographiques sont indiquées dans le but d'établir l'apport de la chromatographie sur couche mince à l'identification des colorants.

Zusammenfassung

Nach einer bibliographischen Studie wird eine Extraktionsmethode für Farbstoffe von Lippenstiften vorgeschlagen, welche auf der Verwendung von nicht mischbaren Lösungsmitteln beruht.

Auf diese Weise werden die extrahierten Farbstoffe in chemisch definierte Gruppen aufgeteilt.

Für jede dieser Gruppen werden chromatographische Daten angegeben, um die Brauchbarkeit der Dünnschichtchromatographie für die Identifizierung der Farbstoffe nachzuweisen.

Summary

After a bibliographic study, a method of dichotomic extraction, based on the use of non miscible solvents has been proposed for the extraction of colours from lipsticks.

By this means, the extracted colours are divided into chemically defined groups.

For each group, chromatographic informations have been revealed with the purpose of establishing the contribution of thin-layer chromatography for the identification of those substances.

Bibliographie

1. *Goulden, H. D.*: Of concern to the cosmetic chemist. *J. Soc. Cosmetic Chemists* **16**, 69—72 (1965).
2. *BIBRA*: British Industrial Biological Research Association, Information Bulletin **4**, 64 (1965).
3. Commission des Communautés Européennes: Proposition d'une directive du Conseil relative au rapprochement des législations des Etats Membres concernant les produits cosmétiques COM (72) 851 final Bruxelles, le 6 octobre 1972.
4. *Boelcke, U.*: Anwendungstechnische Forderungen an Färbemitteln für Lippenstifte. *J. Soc. Cosmetic Chemists* **12**, 468—473 (1961).
5. *Wilmsmann, H.*: Replacement of bromo acids in lipsticks by water soluble FDC and DC colors. *J. Soc. Cosmetic Chemists* **16**, 105—111 (1965).
6. *Bourgeois, Ch.* (Paris): Les rouges à lèvres. Conférence présentée à un colloque DERS le 26 mai 1970 à Nantes vraisemblablement.
7. *Balatre, P.* et coll.: La coloration des suppositoires. *Prod. pharm.* **23**, 531—537 (1968).
8. *Unterhalt, B.*: Ueber die Bestimmung von Lippenstiftfarben. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **144**, 109—112 (1970).
9. *Lehmann, G.* und *Recktenwald, U.*: XIII Mitteilung: Nachweis und Identifizierung synthetischer Farbstoffe in Lippenstiften. *Z. Lebensm. Unters. -Forsch.* **146**, 147—149 (1971).

10. *Silk, R. S.*: Separation of synthetic organic colors in lipsticks by thin-layer chromatography for quantitative determination. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* **48**, 838—843 (1965).
11. *Schweisheimer, D. W.*: Analyse des modernen Lippenstiftes. *Fette, Seifen, Anstrichmittel* **61**, 1138—1140 (1969).
12. *Clements, J. E.*: Analysis of lipsticks. *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists* **38**, 838—843 (1955).
13. *Liem, D. H. und Wesseldijk, T. D.*: Analyse van Kleurstoffen in Lippestiften. *Cosmetica-rapport n° 4*. Keuringsdienst van Waren voor het Gebied — Enschede, Juin 1972 — Vraisemblablement non publié.
14. *Deshusses, J. et Desbaumes, P.*: Identification des colorants des rouges à lèvres par chromatographie sur couche mince. *Trav. chim. aliment. hyg.* **57**, 373—376 (1966).
15. *Deshusses, J. et Desbaumes, P.*: Identification des colorants des rouges à lèvres par chromatographie sur papier. *Trav. chim. aliment. hyg.* **44**, 500—507 (1953).
16. *Journal Officiel de la République Française*: Méthodes officielles d'analyse des colorants synthétiques. (Arrêté du 4 août 1967.) Nov. 1967 n° 67—201.
17. *Moniteur Belge*: Méthode de référence pour la recherche et l'identification des colorants synthétiques, solubles dans l'eau, présents dans ou sur les denrées ou substances alimentaires. 20 février 1968 p. 1572.
18. *Recommandation du Comité de ministres de l'Union Economique Benelux*: relative à l'application d'une méthode de référence Benelux pour la recherche et l'identification des colorants liposolubles présents dans les denrées alimentaires, M(66) 14 Annexe.
19. *Rüdt, U.*: Zur fluorimetrischen Bestimmung von Xanthen-Farbstoffen in Lippenstiften. *Fette Seifen, Anstrichmittel* **71**, 982—985 (1969).
20. *Fairchild, Ch. M.*: Analytical chemistry in the cosmetic industry. *Anal. Chem.* **39**, 22A—34A (1967).
21. *Brustier, V. et coll.*: Contribution à l'étude de l'identification des colorants de synthèse dans les préparations pharmaceutiques. *Ann. pharm. franç.* **24**, 51—56 (1966).
22. *Saltzman, M. and Keay, A. M.*: Colorant identification. *J. Paint Technol.* **39** n° 509, 306—367 (1967).
23. *Cotsis, T. P. and Garey, J. C.*: Determination of dyes in lipsticks by thin-layer chromatography. *The Toilet Goods Association: Proceedings of Scientific Section* **41**, 3—11 (1964).
24. *Anderson, J. R. A. et coll.*: The separation of permissible food dyes by two-dimensional chromatography and electrophoresis on paper. *Australian J. of Appl. Sci.* **8**, 112—119 (1957).
25. *Perdih, A.*: Analytik kosmetischer Farbstoffe — III Identifizierung der synthetischen organischen Farbstoffe in Lippenstiften durch Dünnschicht-Chromatographie. *Z. anal. Chem.* **260**, 278—283 (1972).
26. *Moniteur Belge* du 26 septembre 1973 p. 10862: Arrêté royal du 24 mai 1973 relatif aux produits cosmétiques.
27. *Moniteur Belge* du 28 mars 1974 p. 4419: Arrêté royal du 15 mars 1974, modifiant l'Arrêté royal du 24 mai 1973 relatif aux produits cosmétiques.

Nelly Tonet
Ministère de la santé publique
et de la famille
Rue Juliette Wytsman, 14
B-1050 Bruxelles